

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНА УСТАНОВА «ІНСТИТУТ НЕВІДКЛАДНОЇ І ВІДНОВНОЇ
ХІРУРГІЇ ІМЕНІ В. К. ГУСАКА»**

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

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ЕСТРІН СЕРГІЙ ІГОРОВИЧ

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

ДИСЕРТАЦІЯ

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

14.01.08 «Трансплантологія та штучні органи»
(медичні науки)

Подається на здобуття наукового ступеня доктора наук

Дисертація містить результати власних досліджень.
Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на
відповідне джерело С. І. Естрін

Науковий консультант:
Усенко Олександр Юрійович,
доктор медичних наук, професор,
член-кореспондент НАМН України

Київ – 2021

АНОТАЦІЯ

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

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.01.08 «Трансплантологія та штучні органи». – Державна установа «Інститут невідкладної і відновної хірургії імені В. К. Гусака» НАМН України, Державна установа «Національний інститут хірургії та трансплантології імені О. О. Шалімова» НАМН України, Київ, 2021.

Ішемічна хвороба серця займає перше місце серед серцево-судинних захворювань за частотою ускладнень і кількістю летальних наслідків. Традиційними методами лікування цієї категорії пацієнтів на теперішній час є медикаментозна терапія, пряма реваскуляризація міокарда і трансплантація серця. Сучасні дослідження в області біології стовбурових клітин стали початком нового терапевтичного напрямку – клітинної кардіоміопластики, який спрямований на заміщення пошкоджених кардіоміоцитів шляхом імплантації аутологічних стовбурових клітин. На теперішній час трансплантацію клітин кісткового мозку багато фахівців розглядають як потенційно перспективну терапію для пацієнтів з хронічною ІХС.

Метою дисертаційного дослідження було поліпшення безпосередніх і віддалених результатів лікування хворих на рефрактерну стенокардію шляхом застосування клітинної терапії на підставі вивчення патогенетичних механізмів впливу на міокард і показники метаболізму.

Робота має експериментально-клінічний характер і містить дані щодо розробки патогенетично обґрунтованого нового підходу до лікування хворих з рефрактерною стенокардією.

Експериментальна частина роботи проведена на 142 крисях інбредних ліній Вістар-Кайота, вагою 200–220 г. Індукцію інфаркту міокарда (ІМ) здійснювали шляхом прошивання і перев'язки передньої міжшлуночкової артерії.

До експерименту залучали тільки тварин з трансмуральним інфарктом міокарда, наявність якого підтверджували за даними поверхневої електрокардіографії та ультразвукового дослідження. 120 голів були розділені на 6 груп, по 20 в кожній серії (залежно від способу лікування інфаркта міокарда). В п'ять груп дослідження увійшли самиці. Аутологічні мезенхімальні стовбурові клітини отримували з кісткового мозку тварин.

В динаміці у лабораторних тварин вивчали маркери неоангіогенезу в сироватці крові: вміст оксиду азоту, концентрацію фактору росту ендотелія судин і рівня ендотеліна-1. Перекисне окислювання ліпідів оцінювали за рівнями гаптоглобіна, церулоплазмїна та продуктів, реагуючих з тіобарбітуровою кіслотою (ТБК-активованих продуктів). В якості маркерів метаболічної активності міокарда були обрані міоглобін креатин-кіназа, аспартатамінотрансфераза, аденозіндезаміназа і лактатдегідрогеназа. Тваринам виконували електрокардіографію і УЗД серця. Ділянки міокарда підлягали морфологічному та імуногістохімічному дослідженню.

В основу клінічної частини дисертаційної роботи лягли результати обстеження, лікування та динамічного спостереження за 231 пацієнтом з рефрактерною стенокардією, які перебували на стаціонарному лікуванні у відділенні невідкладної і відновної кардіохірургії Державної установи «Інститут невідкладної і відновної хірургії імені В. К. Гусака» НАМН України з 2007 по 2013 рік та Інституту клітинної біореабілітації (м. Харків) з 2014 по 2018 рік. Дослідження складалося з двох етапів. На першому етапі на основі дослідження 156 хворих з РС вивчали ефективність застосування аутологічних МСК кісткового мозку на процеси ремоделювання міокарда. На другому етапі на основі аналізу найближчих і віддалених результатів лікування 75 хворих, які були розподілені на п'ять груп, з'ясовано оптимальні шляхи клітинної трансплантації, розроблена методика трансендоміокардіального введення аутологічних МСК кісткового мозку, який отримували з грудини або гребеня клубової кістки (20–40 мл).

Інструментальні дослідження включали: стандартну електрокардіографію, тредміл – тест (Brace protocol), 6-хвилинний тест з ходьбою, холтерівське моніторування ЕКГ, трансторакальну ехокардіографію, коронарографію з вентрикулографією, а також електромеханічне картування лівого шлуночка навігаційною системою NOGA XR. За допомогою цієї системи виконували ін'єкції в міокард МСК (8–10 ін'єкцій) загальним об'ємом 0,2 мл, уникаючи зон локалізації провідної системи серця і верхівки.

Всіх пацієнтам виконували лабораторне обстеження: загальноклінічне, біохімічне (визначення рівнів глюкози крові, холестерину, тригліцеридів, ліпопротеїдів низької щільності, ліпопротеїдів дуже низької щільності, ліпопротеїнів високої щільності, сечовини, креатиніну, залишкового азоту, аланінамінотрансферази, аспартатамінотрансферази) і дослідженням згортуючої системи крові. Поряд з цим серійно визначали активність ферменту креатинфосфокінази і її міоглобінової – фракції, вміст малонового діальдегіда, дієнових колактатдегідрогенази, каталази, концентрацію відновленого глутатіона, мозкового натрій-уретичного пептиду (BNP) та його попередника (NT-proBNP) в сироватці крові та церулоплазміну. Рівень якості життя пацієнтів оцінювали за Міннесотським опитувачем якості життя хворих з хронічною серцевою недостатністю, крім того використовували опитувальник якості життя SF-36.

Експериментальними дослідженнями доведено, що клітинна кардіоміопластика, незалежно від способу введення стовбурових клітин, покращує структуру постінфарктного серця, що проявляється в підвищенні відсотка збережених кардіоміоцитів, збільшенні кількості судин і зменшенні зони рубця. Доведено позитивний вплив ін'єкцій інтраміокардіального введення ауто-МСК 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. За допомогою математичного аналізу був виведений коефіцієнт компенсації ішемії. У експериментальних тварин без лікування відбувалося незначне підвищення цього показника до 30,13 і 30,2 у.од., що вказувало на спробу організму компенсувати альтерацію міокарда. У 3, 4 і 5 групах відбувалося значне підвищення коефіцієнту в порівнянні з нормою на 25,1, 20,4 і 16,2 у.од. відповідно. Найкращий ефект був отриманий після інтраміокардіального введенням клітинного трансплантата. В експерименті доведено, що при інфаркті міокарда відбувається накопичення ТБК-активних продуктів з компенсаторним підвищенням вмісту церулоплазміну і гаптоглобіну, що свідчить про зрив компенсаторних механізмів. Трансплантація ауто-МСК обмежує швидкість перекисного окислення ліпідів, знижує експресію антиоксидантних білків плазми, сприяє стимуляції факторів природних систем антиоксидантного захисту – зниженню концентрації ТБК-активних продуктів і майже дворазовому підвищенню рівня церулоплазміну у порівнянні з тваринами з Інфарктом міокарда ($p < 0,001$). З метою визначення інтегральної функції оксидантної і антиоксидантної систем був розроблений коефіцієнт оксидантно-антиоксидантної системи і встановлено, що клітинна кардіоміопластика стабілізувала цей показник, що проявлялося в значному його зниженні. Дослідження ступеня пошкодження міокарду показало, що через добу після припинення кровотоку виникало значне підвищення рівня креатинінфосфокінази з 5125 ± 123 до 7700 ± 140 Од/л ($t=13,8$; $p < 0,001$), що вказувало на формування великого осередку ушкодження, при цьому значення цього показника були підвищені у всіх групах, крім 3; в 4 і 5 групах рівень креатинінфосфокінази дещо перевищував норму – $5855,5 \pm 129$ і $5755,5 \pm 129$ Од/л відповідно ($t=4$ і $4,8$; $p < 0,01$). При аналізі концентрації аспаратамінотрансферази серед груп тварин найбільш високі цифри виявлені у 2-й групі, а найбільш низькі – в 4-й. Таким чином, клітинна кардіоміопластика сприяє зменшенню обсягу пошкодження серцевого м'яза.

Рівні лактатдегідрогенази також значно відрізнялися між групами без використання ауто-МСК і групами з клітинною терапією, що свідчило про збільшення оксигенації міокарда і активації аеробних шляхів окислення енергодаючих субстратів. У 2-й групі концентрація досліджуваного ферменту була вищою за норму і становила 1123 ± 22 Од/л ($t=13,9$; $p<0,001$), в 3-й групі даний показник наближався до норми – 665 ± 17 Од/л ($t=5,7$; $p<0,05$). Експериментальні дослідження показали, що при інфаркті міокарда відбувається зменшення інтегрального показника LW/BW до $0,16 \pm 0,01$ ($t=1,8$, $p<0,05$), а інтраміокардіальне введення ауто-МСК сприяє його нормалізації. Трансплантація ауто-МСК клітин кісткового мозку сприяє 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'єма з $0,13 \pm 0,03$ мл до $0,18 \pm 0,02$ мл ($t=1,9$, $p<0,05$). Експериментальні дослідження показали, що якісна реакція серця на стрес-імітуюче навантаження після внутрішньовенного і ендоміокардіального введення ауто-МСК кісткового мозку збільшувалась відповідно на +38 і +39, що обумовлено хоумінгом стовбурових клітин у бік ішемії з їх диференціовкою в клітини ендотелія судин і паракринним ефектом. Клітинна трансплантація в 3-місячні терміни спостереження сприяла відновленню скорочувальної функції серця, що проявлялося нормалізацією частоти серцевих скорочень, артеріального тиску, зниженні розвиваємого тиску та індекса Катца. При цьому, найкраща динаміка була відзначена після інтраміокардіальної трансплантації ауто-МСК.

Морфометричні дослідження показали, що трансплантація ауто-МСК при експериментальному інфаркті міокарда у крис призводила до зменшення зони інфаркта 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 більше ніж в -й групі. У 2-й групі, в порівнянні з показниками 1-ї групи, фактично залишилися незмінними досліджувані показники за винятком питомого обсягу сполучної тканини. У 3-й групі були досягнуті максимальні морфометричні

показники: питомий обсяг ділянки інфаркту від вихідної тканини дорівнював $19,05 \pm 2,29$ проти $65,83 \pm 2,29$ % в 1-й групі, збільшилася середня кількість судин на 100000 мкм^2 в порівнянні з 1-ю групою з $10,21 \pm 1,26$ до $72,99 \pm 3,1$, до того ж, відсоток збережених м'язових волокон був на 33,3 % вище у 3-й групі.

На першому етапі клінічного дослідження було вивчено деякі механізми клітинної трансплантації у хворих з рефрактерною стенокардією в ранньому післяопераційному періоді. Всім пацієнтам основної групи проводили інфузії ауто-МСК КМ (50000000 клітин) на 100 мл ізотонічного розчину NaCl крапельно повільно. Внутрішньовенне введення аутологічних стовбурових клітин кісткового мозку пацієнтам з хронічною ішемічною хворобою серця і вираженою дисфункцією лівого шлуночка було безпечним, добре переносилося хворими і не супроводжувалося ускладненнями. Трансплантація ауто-МСК супроводжувалася стабілізацією показників антиоксидантної системи (підвищенням) і показників ліпідного обміну ($p < 0,05$), сприяла підвищенню виживання пацієнтів, зниженню ступеня хронічної серцевої недостатності. Зокрема, в 3-місячний термін ($p < 0,005$), виявлено поліфракції викиду лівого шлуночка з $33,8 \pm 3,6$ до $42,8 \pm 4,8$ % і зменшенні ям кінцевого діастолічного об'єму лівого шлуночка з $244,1 \pm 24,3$ до $193,4 \pm 18,9$ мл, а також зменшенням ангінальних симптомів. Через 6 місяців відмічено зниження функціонального класу серцевої недостатності і дворазове зниження вмісту NTpro ~ BNP, ($p < 0,001$), зменшення функціонального класу стенокардії за Нью-Йоркською Асоціацією Серця (NYHA).

При вивченні ефективності застосування різних способів трансплантації ауто-МСК на другому етапі дисертаційного дослідження було виявлено, що точне електричне і механічне картування лівого шлуночка дозволяє обрати найбільш оптимальне місце для імплантації стовбурових клітин в зоні гібернованого міокарда, завдяки чому можливо досягти максимального позитивного ефекта клітинної терапії.

Після трансендоміокардіальної імплантації ауто-МСК ці показники покращились відповідно у 26,7 і 47,6 % пацієнтів ($p=0,001$) через 3 і 6 місяців після виконання процедури. Встановлена позитивна динаміка ЕхоКГ показників після внутрішньовенної і трансендоміокардіальної трансплантації ауто-МСК кісткового мозку: підвищення фракції викиду лівого шлуночка відповідно з $(33,8\pm 3,6)$ до (кінцевого діастолічного об'єму лівого шлуночка з $(248,5\pm 22,3)$ до $(194,3\pm 26,4)$ мл і з $(244,1\pm 24,3)$ до $(193,4\pm 18,9)$ мл через 3 місяці після процедури, а також підвищення толерантності до фізичних навантажень до $(3,8\pm 0,47)$ і $(4,2\pm 0,95)$ ($p<0,05$) через 6 місяців.

Найбільш ефективною є методика трансендоміокардіальної імплантації ауто-МСК кісткового мозку, яка за даними контрольного електроанатомічного картування сприяє достовірному зменшенню глибини і площі дефектів перфузії міокарда з покращенням показників сумарного індекса перфузії в ранні і пізні терміни посттрансплантаційного періода .

Трансплантація ауто-МСК 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 ауто-МСК кісткового мозку.

Трансендоміокардіальна імплантація ауто-МСК 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.

Таким чином, 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 ауто-МСК. Був запропонований новий терапевтичний підхід, спрямований на посилення регенерації міокарда, заснований на трансплантації стовбурових/прогеніторних клітин. В експерименті цей підхід показав свою ефективність і перспективність для лікування наслідків ішемії міокарда. Вперше в експерименті доведено позитивний вплив інтраміокардіального введення ауто-МСК на процеси неоангіогенезу при гострому інфаркті міокарда, що сприяло значному поліпшенню васкуляризації в зоні інфаркту, призводило до зменшення ішемії в прикордонних з інфарктом зонах, знижало ішемічне ушкодження кардіоміоцитів в цих зонах. В результаті зменшувалась площа післяінфарктного рубця і попереджувалось формування аневризми лівого шлуночка. Трансплантація ауто-МСК дозволяла оптимізувати обмін кисню кардіоміоцитами і стабілізувати процеси аеробного і анаеробного гліколізу.

Доведено, що клітинна кардіоміопластика при будь-якому способі введення клітинного трансплантата, позитивно впливала на морфологічний субстрат серця у вигляді зменшення розмірів рубця при постінфарктному ремоделюванні, збільшенні кількості новостворених судин і збільшенні відсотка збережених кардіоміоцитів. Це відбувається за рахунок хоумінга ауто-МСК в зону ішемії та спільності двох механізмів – безпосереднього диференціювання в клітини ендотелію судин серця, а також за рахунок паракринного ефекту. Вперше науково обґрунтована клінічна безпечність застосування метода ендоміокардіальної імплантації ауто-МСК кісткового мозку у хворих з рефрактерною стенокардією. Вперше науково обґрунтована доцільність електромеханічного картування ЛШ з метою визначення тактики лікування хворих на рефрактерну стенокардію. Рекомендовано динамічне спостереження за пацієнтами через 1, 3, 6 та 12 місяців. Доцільною є повторна трансплантація стовбурових клітин через 12 місяців після первинного введення.

Практичній охороні здоров'я запропоновані: спосіб ін'єкції мезенхімальних аутологічних стовбурових клітин кісткового мозку в зони гібернованого міокарда, при цьому уникаючи ін'єкцій в область верхівки, мітрального клапана через високого ризику перфорації і в області реєстрації потенціалів пучка Гіса через ризик розвитку блокади (патент України №43994); спосіб введення ауто-МСК у вустя коронарних артерій за допомогою катетерів Judkins Left та Judkins Right вводили ауто-МСК (патент України №56597). Загальна кількість введених клітин – 50000000.

Клітинна кардіоміопластика у хворих на ІХС з систолічною дисфункцією ЛШ може бути використана в якості підготовки до виконання АКШ при внутрішньовенну шляху введення трансплантату в терміни 3–4 місяці, при трансендоміокардіальну – в терміни 3–6 місяців.

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

Estrin S. I. Cellular cardiomyoplasty in the complex treatment of refractory angina (experimental-clinical study). – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Medical Sciences in specialty 14.01.08 «Transplantology and artificial bodies». – State Institution «VK Gusak Institute of Emergency and Reconstructive Surgery» National Academy of Medical Sciences of Ukraine, State Institution «O. O. Shalimov National Institute of Surgery and Transplantology» National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv, 2021.

Coronary artery disease ranks first among cardiovascular diseases in the frequency of complications and the number of death. Traditional methods of treatment of this category of patients at present are drug treatment, direct myocardial revascularization. Drug therapy is insufficiently effective in preventing myocardial remodeling processes. Modern research in the field of stem cell

biology has become the beginning of a new therapeutic direction – cellular cardiomyoplasty, which aims to replace damaged cardiomyocytes by implanting autologous stem cells. At present, bone marrow cell transplantation is considered by many experts as a potentially promising therapy for patients with chronic coronary heart disease. The aim of the dissertation research was to improve the immediate and long-term results of treatment of patients with refractory angina by applying cell therapy based on the study of pathogenetic mechanisms of influence on the myocardium and metabolic parameters. The work is experimental-clinical in nature and contains data on the development of pathogenetically sound new approach to the treatment of patients with refractory angina.

The experimental part of the work was performed on 142 rats of Wistar-Cayot inbred lines, weighing 200–220 g. Induction of MI was performed by stitching and ligation of the anterior ventricular artery. Only animals with transmural MI were involved in the experiment, the presence of which was confirmed by ECG and ultrasound, ie 120 heads, which were divided into 6 groups of 20 in each series (depending on the method of treatment of MI). Females were included in five study groups. MSC cells were obtained from the bone marrow of animals. Markers of neoangiogenesis in serum were studied in the dynamics of laboratory animals: NO content, VEGF concentration and endothelin level 1. SEX was assessed by levels of haptoglobin, ceruloplasmin and TBA-activated products. MV-KK, AsT, ADA and LDH were selected as markers of myocardial metabolic activity. Animals underwent ultrasound of the heart and ECG. Areas of the myocardium were subjected to morphological and immunohistochemical examination.

The clinical part of the dissertation was based on the results of examination, treatment and dynamic monitoring of 231 patients with MS who were hospitalized in the Department of Emergency and Reconstructive Cardiac Surgery of the State Institution «VK Gusak Institute of Emergency and Reconstructive Surgery» National Academy of Medical Sciences of Ukraine from 2007 to 2013 and the Institute of Cellular Biorehabilitation, Kharkiv from 2014 to 2018. The study

consisted of two stages: in the first stage, based on a study of 156 patients with MS studied the effectiveness of bone marrow MSCs in myocardial remodeling processes in postinfarction period; in the second stage, based on the analysis of short-term and long-term results of treatment of 75 patients, which were divided into five groups, the optimal pathways of cell transplantation were clarified, and a method of transendomyocardial administration of autologous MSCs was obtained from the sternum or iliac crest (20–40 ml). Instrumental studies included: standard ECG, treadmill test (Brace protocol), 6-minute walking test, Holter ECG monitoring, transthoracic echocardiography, electromechanical mapping with NOGA XP navigation system, as well as coronary angiography and ventriculography. Using the NOGA XP system, myocardial injections (8–10 injections) of 0,2 ml were performed, avoiding the areas of the conduction system of the heart and the apex.

Laboratory examination, along with general clinical, biochemical methods (determination of blood glucose, cholesterol, triglycerides, low-density lipoprotein, very low-density lipoprotein, high-density lipoprotein, urea, creatinine, blood transfusion azanthenes, and residual nitrogen included serial determination of the activity of the enzyme creatine phosphokinase and its MB fraction, determination of the content of malonic dialdehyde, diene conjugates, measurement of serum lactate concentration, lactate dehydrogenase activity, catalase, concentration of reduced glutathione, cerebral sodium peptide and preuretic NT-proBNP) in serum and centruloplasmin. The quality of life of patients was assessed by the Minnesota Quality of Life Questionnaire for patients with CHF, in addition, the quality of life questionnaire SF-36 was used.

Experimental studies have shown that cellular cardiomyoplasty, regardless of the method of stem cell administration, improves the structure of the postinfarction heart, which is manifested in a decrease in the scar area, increase in the number of vessels and the percentage of preserved cardiomyocytes. The positive effect of myocardial injections and intramyocardial administration of auto-MSCs on the functional reserve and metabolism of cardiomyocytes due to the

paracrine effect and stimulation of angiogenesis was proved, which was confirmed by a significant increase in VEGF levels to $132,74 \pm 19,87$ and $111,4 \pm 12,22$ pg/ml, increasing the concentrations 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. With the help of mathematical analysis, the coefficient of ischemia compensation was derived. In experimental animals without treatment there was a slight increase in this figure to 30,13 and 30,2 USD, which indicated an attempt by the body to compensate for myocardial alteration. In groups 3, 4 and 5 there was a significant increase in the ratio compared to the norm by 25,1, 20,4 and 16,2 from accordingly (the best effect is obtained after intramyocardial administration of a cell graft). In the experiment it was proved that in myocardial infarction there is an accumulation of TBA-active products with a compensatory increase in the content of ceruloplasmin and haptoglobin, which indicates the failure of compensatory mechanisms. Mesenchymal stem cell transplantation limits the rate of LPO, reduces the expression of plasma antioxidant proteins, stimulates factors of natural antioxidant defense systems – reduces the concentration of TBA-active products and almost doubles the level of ceruloplasmin compared to animals with MI. In order to determine the integral function of the oxidative and antioxidant systems, we developed the coefficient of the oxidative-antioxidant system, and found that cellular cardiomyoplasty stabilized this indicator, which manifested itself in a significant reduction.

The study of the degree of myocardial damage showed that a day after the cessation of blood flow there was a significant increase in the level of MB-CC from 5125 ± 123 to 7700 ± 140 ($t=13,8$; $p<0,001$), which indicated the formation large lesion, with the values of this indicator were increased in all groups except 3d; in groups 4th and 5th, the level of CF-CC slightly exceeded the norm – $5855,5 \pm 129$ and $5755,5 \pm 129$, respectively ($t=4$ and $4,8$; $p<0,01$). When analyzing the concentration of AST among groups of animals, the highest figures were found in the 2nd group, and the lowest – in the 4th. Thus, cellular cardiomyoplasty helps to reduce the amount of damage to the heart muscle. LDH levels also differed

significantly between groups without MSCs and groups with cell therapy, which indicated an increase in myocardial oxygenation and activation of aerobic oxidation pathways of energy substrates: in group 2d, the concentration of the studied enzyme was higher than normal and was 1123 ± 22 ($t=13,9$; $p<0,001$), in the 3rd group this indicator approached the norm – 665 ± 17 ($t=5,7$; $p<0,05$).

Experimental studies have shown that in MI there is a decrease in the integrated LW/BW to $0,16 \pm 0,01$ ($t=1,8$, $p<0,05$), and intramyocardial administration of autologous mesenchymal stem cells contributes to its normalization. Transplantation of autologous mesenchymal bone marrow stem cells increases LV EF from $55,3 \pm 3,4$ % to $66,5 \pm 3,3$ ($t=2,5$, $p<0,05$) and UO from $0,13 \pm 0,03$ to $0,18 \pm 0,02$ ml ($t=1,9$, $p<0,05$). Experimental studies have shown that the qualitative response of the heart to stress-simulating load after intravenous and endomyocardial administration of autologous mesenchymal bone marrow stem cells increased by +38 and 39, respectively, due to homing of SC in the direction of ischemia with their differentiation into endocrine cells. Injections into the myocardium to compensate for the necessary blood circulation is impossible despite the stress, which is manifested by the clinic of heart failure. Cell transplantation in a 3-month follow-up period contributed to the restoration of contractile function of the heart, which was manifested by the normalization of heart rate, blood pressure, decreased RT and Katz index. At the same time, the best dynamics was noted after intramyocardial MSC transplantation.

Morphometric studies showed that ISS transplantation in experimental MI in rats led to a decrease in the area of MI in 3 times, while the connective tissue component of the infarct area decreased by 1,9 times, due to an increase in the number of vessels in 6 times and preservation of muscle fibers in 2, 6 times more than in 1 group. In group 2, in comparison with the indicators of group 1, the studied indicators actually remained unchanged, except for the specific volume of connective tissue. In group 3, the maximum morphometric parameters were achieved: the specific volume of the infarct from the source tissue was equal to $19,05 \pm 2,29$ against $65,83 \pm 2,29$ % in group 1, increased the average number of

vessels per 100,000 mm² in compared with group 1 from 10,21±1,26 to 72,99±3,1, in addition, the percentage of preserved muscle fibers was 33,3 % higher in group 3.

At the first stage of the clinical study, some mechanisms of cell transplantation in patients with MS in the early postoperative period were studied. All patients in the main group were infused with autologous MSCs KM (50000000 cells) per 100 ml of 0,9 % NaCl solution dropwise slowly. Intravenous administration of autologous bone marrow stem cells to patients with chronic coronary heart 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 antioxidant system (increase) and lipid metabolism ($p < 0,05$), increases survival, reduces the degree of CH (after 6 months there was a decrease in FC CH and a twofold decrease in NTpro ~ BNP 0.001), reduction of FC angina pectoris by NYHA in 3 months ($p < 0,005$ %), improvement of contractile function of the left ventricle after 3 months, which is manifested in an increase in LV EF from 33,8±3,6 to 42,8±4,8 % and reduction of EDV from 244,1±2,3 to 193,4±18,9 ml), as well as reduction of anginal symptoms.

When studying the effectiveness of different methods of autologous mesenchymal stem cell transplantation in the second stage of the dissertation study, it was found that accurate electrical and mechanical mapping allows you to choose the best place for stem cell implantation, so you can achieve maximum positive effect of cell therapy. After transendomyocardial implantation of autologous mesenchymal stem cells in 26,7 and 47,6 % of patients ($p = 0,001$) at and 6 months after the procedure. The developed method of transendomyocardial injections of autologous mesenchymal bone marrow stem cells in refractory angina according to the results of electromechanical LV mapping, which reflects myocardial perfusion, showed an improvement in total unipolar voltage (UV) from 7,3±1,1 mV after 6 months and 8,1±1,3 mV after 12 months ($p = 0,03$) with a slight increase in these indicators during 24 and 36 months. The positive dynamics of

echocardiography after intravenous and transendomyocardial transplantation of autologous MSCs of the bone marrow: increase in LV EF, respectively, from $33,8\pm 3,6$ to $42,8\pm 4,8$ % and $41,3\pm 3,2$ to $49,3\pm 4,6$ % before 6 months, reduction of EDV from $248,5\pm 22,3$ to $194,3\pm 26,4$ ml and from $244,1\pm 24,3$ to $193,4\pm 18,9$ ml 3 months after the procedure, as well as increasing exercise tolerance to $3,8\pm 0,47$ and $4,2\pm 0,95$ ($p<0,05$) in 6 months.

The most effective is the method of endomyocardial implantation of autologous mesenchymal bone marrow stem cells, which according to electromechanical mapping significantly reduces the depth and area of myocardial perfusion defects with improving the total perfusion index in the early and late postpartum period. Autologous mesenchymal bone marrow stem cell transplantation using a navigation system is a safe and effective procedure, is not accompanied by postoperative complications, increases survival to 35 (18–61) months compared to 12 (0,72–50) months in the drug treatment group ($p=0,033$); reduction of mortality at the stage of 36-month control to 13,3 % compared with 46,7 % in the group of drug treatment. To achieve the maximum effect of treatment after 1 year, it is advisable to repeat the procedure of transplantation of autologous mesenchymal bone marrow stem cells. Endomyocardial implantation of autologous mesenchymal bone marrow stem cells improves the basic indicators of quality of life: physical functioning (PF), pain intensity (BP), daily activity (RE) and social functioning (SF), regardless of the initial severity of ischemic dysfunction.

Thus, new scientific data are obtained, on the basis of which a new comprehensive tactical approach to the formation of a new direction of solving the issues of diagnosis, pathogenesis, and comprehensive treatment of patients with refractory angina using autologous mesenchymal. A new approach to enhancing myocardial regeneration based on stem/progenitor cell transplantation was proposed, which in an experiment showed its effectiveness and viability for the treatment of the effects of myocardial ischemia. For the first time in the experiment, the positive effect of intramyocardial administration of autologous

MSCs on the processes of neoangiogenesis in acute myocardial infarction was proved, which significantly improves vascularization in the infarct area, which leads to scar area and prevention of heart aneurysm formation. MSC transplantation allows to optimize oxygen metabolism by cardiomyocytes and to stabilize the processes of aerobic and anaerobic glycolysis. It has been proved that cellular cardiomyoplasty in any method of cell graft administration has a positive effect on the morphological substrate of the heart in the form of reducing the size of the scar in postinfarction remodeling, increasing the number of newly formed vessels and increasing the percentage of preserved myocytes. This is due to the homing of MSCs in the area of ischemia and the commonality of two mechanisms – the direct differentiation into endothelial cells of the heart vessels, as well as due to the paracrine effect. For the first time, the clinical safety of the method of endomyocardial implantation of auto-MSC of the bone marrow in patients with MS has been scientifically substantiated. For the first time, the expediency of electrophysiological mapping of the myocardium to determine the tactics of treatment of patients with MS has been scientifically substantiated. Dynamic follow-up of patients after 1, 3, 6 and 12 months is recommended. It is advisable to re-transplant stem cells 12 months after the initial injection.

Practical health care offers: a method of injection of mesenchymal autologous bone marrow stem cells in the hibernated myocardium, while avoiding injections in the apex, mitral valve due to the high risk of perforation and in the registration of potentials of the His bundle due to the risk of blockade (Patent of Ukraine №43994); method of introducing auto-MSCs into the mouth of coronary arteries using catheters Judkins Left and Judkins Right injected auto-MSCs (Ukrainian Patent №56597). The total number of injected cells is 50,000,000.

Cellular cardiomyoplasty in patients with coronary artery disease with LV EF ≤ 35 % can be used as preparation for CABG in the intravenous route within 3–4 months, in transendomyocardial – in 3–6 months.

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

Список публікацій здобувача:

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 эксперименте. 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 аутологичных 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 судинного тону, 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 on 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. Грінь 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. № и 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. № и 2010 05937; заявлено 17.05.2010; опубліковано 21.01.2011; Бюл. 2. *(Здобувач провів патентний пошук, запропонував та впровадив спосіб).*

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	27
ВСТУП	30
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО РЕФРАКТЕРНУ СТЕНОКАРДІЮ, МЕТОДИ ЇЇ ЛІКУВАННЯ І РЕГЕНЕРАЦІЮ СЕРЦЯ (огляд літератури)	40
1.1. Особливості діагностики та підходи до медикаментозного і немедикаментозного лікування рефрактерної стенокардії	40
1.2. Сучасний погляд на проблему регенерації міокарда	45
1.3. Інноваційні методи реваскуляризації міокарда	48
1.4. Клітинна кардіоміопластика мезенхімальними стовбуровими клітинами	55
1.5. Хоумінг, терміни і шляхи введення мезенхімальних стовбурових клітин	64
1.6. Комбіновані технології лікування стенокардії із застосуванням мезенхімальних стовбурових клітин	71
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	79
2.1. Матеріали і методи експериментальних досліджень	79
2.2. Матеріали і методи клінічних досліджень	85
2.2.1. Дизайн дослідження і характеристика груп хворих ...	85
2.2.2. Інструментальні методи дослідження	95
2.2.3. Лабораторні методи дослідження	100
2.3. Отримання некомітованих аутологічних МСК	105
2.4. Методика електромеханічного картування на навігаційній системі NOGA XR	107
2.5. Статистичні методи дослідження	110
РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ МЕТОДИК КЛІТИННОЇ КАРДІОМІОПЛАСТИКИ	111
3.1. Вплив МСК на ефективність ангиогенезу і стан судинного	

тону су	111
3.2. Вплив трансплантації МСК на інтенсивність ПОЛ при експериментальному ІМ	118
3.3. Результати макроскопічного і ультразвукового дослідження серця крис з експериментальним ІМ	124
3.4. Скорочувальна функція серця крис при ремоделюванні інфаркта міокарда у віддалені терміни експерименту	128
3.5. Особливості біоелектричної активності серця і хронотропна функція серця крис на тлі клітинної кардіоміопластики	138
3.6. Результати гістологічного дослідження	144
3.6.1. Морфологічні зміни в осередку інфаркта міокарда у тварин без лікування в різні терміни експеримента	144
3.6.2. Морфологічні зміни в ділянці інфаркту міокарда у тварин з різними видами кардіоміопластики в різні терміни експерименту	150
3.6.3. Морфометричні дослідження інфаркту міокарда у тварин після різних видів клітинної кардіоміопластики	159
РОЗДІЛ 4. БЕЗПОСЕРЕДНІ РЕЗУЛЬТАТИ ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА РЕФРАКТЕРНУ СТЕНОКАРДІЮ НА ПЕРШОМУ ЕТАПІ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	172
4.1. Функціональні результати клітинної кардіоміопластики	172
4.2. Результати катетерного електромеханічного картування лівого шлуночка за допомогою системи Noga XR	181
4.3. Динаміка лабораторних показників на фоні трансплантації ауто-МСК	186
РОЗДІЛ 5. ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ РЕЗУЛЬТАТІВ РІЗНИХ СПОСОБІВ ВВЕДЕННЯ АУТОЛОГІЧНИХ СТРОМАЛЬНИХ КЛІТИН В ЛІКУВАННІ ХВОРИХ НА РЕФРАКТЕРНУ СТЕНОКАРДІЮ.....	194

РОЗДІЛ 6. ВІДДАЛЕНІ РЕЗУЛЬТАТИ КЛІТИННОЇ КАРДІОМІОПЛАСТИКИ ПІСЛЯ ТРАНСЕНДОКАРДІАЛЬНОГО І ВНУТРІШНЬОСУДИННОГО ВВЕДЕННЯ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН	222
АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	244
ВИСНОВКИ	269
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	273
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	274
ДОДАТОК 1. Список опублікованих праць	318
ДОДАТОК 2. Впровадження.....	325

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АДА	аденозіндезаміназа
АТд	артеріальний тиск діастолічний
Атс	артеріальний тиск систолічний
АККМ	аутологічні клітини кісткового мозку
АКШ	аорто-коронарне шунтування
АС	антиоксидантна система
АсТ	аспартатамінотрансфераза
АТ	артеріальний тиск
АФК	активні форми кисню
ДК	дієнові кон'югати
ЕК	ендотеліальні клітини
ЕКГ	електрокардіографія
ЕПГК	ендотеліальні прогеніторні постнатальні клітини
ЕхоКГ	ехокардіографія
ІІ	інтерлейкін
ІМ	інфаркт міокарда
ІХС	ішемічна хвороба серця
КДР	кінцевий діастолічний розмір
КДТ	кінцевий діастолічний тиск
ККІ	коефіцієнт компенсації ішемії
КМ	кістковий мозок
КМЦ	кардіоміоцити
КОАС	коефіцієнт оксидантно-антиоксидантної системи
КСР	кінцевий систолічний розмір
ЛПВЩ	ліпопротеїди високої щільності
ЛД	лактатдегідрогеназа
ЛПДНЩ	ліпопротеїди діже низької щільності
ЛК	лейкоцити крові

ЛПНЩ	ліпопротеїни низької щільності
ЛШ	лівий шлуночок
МВ-КФК	креатинінкіназа
МД	малоновий діальдегід
МСК	мезенхімальні стовбурові клітини
МШП	міжшлуночкова перетинка
ПОІ	питомий обсяг інфаркту
ПОЛ	перекисне окислення ліпідів
РС	рефрактерна стенокардія
РТ	розвиваємий тиск
СІ	серцевий індекс
СК	стовбурові клітини
СН	серцева недостатність
Тс	систоличний тиск в ЛШ
ТМФ	тімідінфосфорілаза
ФВ	фракція викиду
ФК	функціональний клас
ФУ	фракція укорочення
ХСН	хронічна серцева недостатність
УЗД	ультразвукове дослідження
УО	ударний об'єм крові
ЧСС	частота серцевих скорочень
ЯЖ	якість життя
BW	маса тіла
EF	ejection fraction (фракція викиду);
Hp	гаптоглобін
HW	маса серця
FS	fractional shortening (фракція укорочення);

LVIDs	end-systolic left ventricular internal dimensions (кінцевий систолічний внутрішній діаметр лівого шлуночка)
LVIDd	end-diastolic left ventricular internal dimensions (кінцевий діастолічний внутрішній діаметр лівого шлуночка)
LW	маса лівого шлуночка
NO	оксид азоту
SV	stroke volume (ударний об'єм)
VEGF	фактор росту ендотелія судин

ВСТУП

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, найнижчий 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; Габріелян 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; Mosini D., 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 тонусу.

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 методику 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, коронарорентрокулографію, 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, присвяченій 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.

РОЗДІЛ 1

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

1.1. Особливості діагностики та підходи до медикаментозного і немедикаментозного лікування рефрактерної стенокардії

Серцева недостатність, що викликається ІХС або кардіоміопатіями, є одним з найважчих захворювань з поганим прогнозом [110]. 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 [96, 277]. РС 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 АКШ) [156, 179, 277]. Відомо, що РС буває двох видів: гостра і хронічна.

Атеросклероз не є лінійним процесом, це скоріше захворювання, що має фази стабільності і нестабільності. Раптові та непередбачувані зміни симптоматики є наслідком різного ступеня деструкції бляшки [95, 128, 192, 251]. Хворий з РС має виражене обмеження звичайної фізичної активності або не здатний її виконувати без дискомфорту (ФК за Канадською класифікацією III-IV). У таких хворих є об'єктивні докази ішемії міокарда під час проби з фізичним навантаженням, стрес-ехокардіографії, сцинтиграфії міокарда та інших обстеженнях. Симптоми тяжкої стенокардії зберігаються

незважаючи на максимально переносиму «агресивну» антиангінальну терапію. Деякі хворі не здатні переносити традиційну антиангінальну терапію через появу побічних ефектів препаратів [95].

РС слід відрізнити від гострого коронарного синдрому, який включає в себе нестабільну стенокардію та ІМ. Диференціація РС від незворотного некрозу, тобто інфаркту міокарда, проводиться на підставі серійної реєстрації ЕКГ і визначення сироваткових маркерів пошкодження міокарда, включаючи ізоформи креатинінкінази (КФК-МВ) та кардіальний тропонин (І або Т).

Алгоритм лікування РС включає використання максимальної медикаментозної терапії (табл. 1.1): бета-адреноблокатори, нітрати, антитромбоцитарні препарати, антикоагулянти, статини, інгібітори ангіотензін-конвертуючого ферменту та ін. При оптимальному медикаментозному лікуванні хворі обов'язково повинні отримувати антитромбоцитарні препарати – аспірин в дозі 75–162 мг щодня і / або 75 мг клопідогрелю (прасугрелю 10 мг) щодня (якщо хворий не переносить лікування аспірином).

Таблиця 1.1

**Оптимальне медикаментозне лікування РС (COURAGE-trial 2007,
ACC/AHA 2013)**

Ацетилсаліцилова кислота 75–162 мг
Клопідогрель 75 мг або прасугрель 10 мг
Варфарин – монотерапія (МНВ 2,5–3,5) або в поєднанні з АСК (МНВ 2,0–3,0)
Бета-адреноблокатор тривалої дії
Антагоністи кальція (дигідропірідіни)
Нітрати
Інгібітори ангіотензін-конвертуючого фермента або блокатор рецепторів до ангіотензину II
Агресивна ліпідознижуюча терапія статинами або в комбінації з фізичними вправами / ніацином / фібратами

У Рекомендаціях ACCF/AHA 2013 року велика роль в лікуванні РС відводиться ефективній антикоагуляції. Схема лікування повинна включати бета-адреноблокатор тривалої дії, блокатор кальцієвого каналу і ізосорбідмононітрат сам по собі або в комбінації. При переносимості можна додати інгібітор ангіотензин-конвертуючого ферменту або блокатор ангіотензинових рецепторів.

Слід прагнути до значного зниження рівня холестерину ліпопротеїнів низької щільності (low-density lipoprotein, LDL) до 60–85 мг/л, використовуючи тільки статин або в поєднанні останнього з езетімібом. Коли мета досягнута і рівень LDL знижений, слід спробувати довести рівень ліпопротеїнів високої щільності (high-density lipoprotein, HDL) до значень понад 40 мг/дл і знизити рівні тригліцеридів до значення нижче 150 мг/дл, застосувавши фізичні навантаження, ніацин (вітамін В3) або фібрати (табл. 1.1) [313].

Сучасні немедикаментозні методи лікування РС включають нейростимуляцію (транскутанного електричну стимуляцію спинного мозку), посилену зовнішню контрпульсацію (enhanced external counterpulsation, EECSP), лазерну реваскуляризацію, генну, клітинну терапію і більш нові методи втручання, як, наприклад, перкутанна коронарна венозна артеріалізація *in situ* і перкутанне шунтування коронарної артерії *in situ* [41, 286].

Таким чином, немедикаментозну терапію РС можна розділити на наступні підходи: 1) вплив на периферичну нервову систему задля перервання шляху вісцерального больового сигналу (черезшкірна електрична стимуляція нервів, блокада лівого зірчастого ганглія, ендоскопічна торакальна сімпатикотомія, епідуральна грудна анестезія, стимуляція спинного мозку); 2) стимуляція ангіогенезу – зовнішня контрпульсація, лазерна реваскуляризація міокарда, клітинна і генна терапія [15, 192, 288, 363].

Стимуляція спинного мозку (spinal cord stimulation, SCS) (клас рекомендацій ІІв (користь / ефективність менш переконливі). З 1987 р. дана

методика була запропонована як метод знеболення для хронічної стенокардії, рефрактерної до медикаментів, малоінвазивних втручань або хірургічного лікування.

Існують переконливі дані про ефективність застосування стимуляції спинного мозку при РС. Зазначена методика використовувалася протягом 20 років і деякі дослідження вказували на поліпшення якості життя і зменшення нападів стенокардії, так само як і зниження частоти повторних звернень в стаціонар з приводу ангінозних болів. Слід зазначити, що наявності загрозливих для життя ускладнень, пов'язаних зі стимуляцією спинного мозку, не спостерігалось. Місцеві інфекційні ускладнення або зміщення катетера, що вимагають повторної катетеризації, відбуваються досить рідко [238].

Транскутанна електростимуляція нерва (transcutaneous electrical nerve stimulation, TENS) – сучасний метод, який поліпшує самопочуття пацієнтів при важкій формі РС, що не піддається потужному медикаментозному лікуванню. TENS включає використання електричного струму низької напруги через прокладки, що поміщаються на шкіру в болючій ділянці. Метод первинно заснований на теорії контролю входження болю (gate control theory of pain). Стимуляція аферентних нервових волокон великого діаметра рефлекторно гальмує виділення медіаторів болю з волокон менших діаметрів в субстанцію желатіноза (substantia gelatinosa) спинного мозку [278]. Інша загальновізнана теорія стверджує, що механізм дії низькочастотної TENS полягає в активації провідних шляхів для ендогенних опіоїдів. Цікаво, що вплив низькочастотного TENS зворотній під впливом налоксону (антагоніста опіоїдів) [327]. Можливі й інші механізми впливу, такі як підвищення концентрації ендорфіну в кровотоці і спинномозкової рідині [179].

Лазерна трансміокардіальна реваскуляризація мала на меті створення міокардіальних каналів, які заповнювалися новими судинами. Дана методика нетрадиційної реваскуляризації міокарда вперше впроваджена в практику в США в 1998 році [17]. За допомогою надпотужного лазера (потужністю

1 кВт) в серці створюють каналці діаметром 1 мм. Самі каналці з часом заростають, але пізніше між ними утворюються дійсно нові судини [13, 317, 321]. Передбачається, що після трансміокардіальної реваскуляризації в результаті звільнення чинників зростання активується ангиогенез і відбувається денервація больових волокон лазером, що зменшує симптоми стенокардії. Однак цей метод застосовується рідко через свою інвазивність і низьку ефективність [354]. Проте точний механізм позитивного ефекту трансміокардіальної лазерної реваскуляризації ще не до кінця вивчений, але у більшості пацієнтів нівелюються болі і зростає переносимість до фізичного навантаження. В результаті після операції поліпшується якість життя.

Зазначені методи давали лише тимчасове і часткове зменшення больового синдрому, не впливаючи на найближчий і віддалений прогноз. Деякі з них застосовувалися без порівняння з групами плацебо. Не встановлена також можливість запобігання повторних госпіталізацій після перерахованих процедур.

Метод зовнішньої контрпульсації (ЕЕСР – enhanced external counterpulsation) – допоміжний метод лікування РС, який полягає в послідовному нагнітанні повітря в манжети, які накладені на нижні кінцівки. Це призводить до ретроградного артеріального кровотоку і до збільшення діастолічного тиску в аорті, що в свою чергу викликає збільшення коронарного перфузійного тиску і поліпшення кровопостачання міокарда. Також відбувається збільшення венозного повернення. Миттєве викачування повітря з манжет на початку скорочення шлуночків знижує судинний опір і, отже, знижує напругу стінки серця, необхідне для вигнання крові. Пізніми ефектами є збільшення венозного повернення і посилення серцевого викиду. Все це призводить до збільшення доставки кисню до міокарда і зниження потреби серця в кисні. Значний стеноз однієї або більше коронарної артерії веде до різниці тиску перфузії в різних ділянках міокарда. Збільшення тиску в діастолу призводить до відкриття і формування колатералей і посилення кровопостачання гіпоперфузованої ділянки [11, 155]

Ударно-хвильова терапія серця є ще однією технологією, що дозволяє неінвазивним методом покращувати кровопостачання міокарда в зоні ішемії за рахунок утворення нових капілярів [133, 219]. Принцип даного методу заснований на механічному впливі на ішемізований міокард енергією акустичної хвилі. При цьому в зоні впливу, яка визначається за даними ЕхоКГ, вивільняється ряд вазоактивних субстанцій, включаючи ендотеліальний фактор росту судин, що сприяє вазодилатації і неоангіогенезу. Під час процедури проводиться постійне спостереження за місцем розташування цільової області на ультразвуковому моніторі. Нанесення ударного впливу здійснюється в фазу ранньої діастолі під контролем електрокардіограми (ЕКГ). Лікування складається з 9 сеансів: 3 сеанси через день на 1, 5, 9 тижнях. Кожен сеанс включає ударну дію по 300 імпульсів на 3 зони міокарда (всього 2700 імпульсів на курс). Лікування УВТ проводиться на тлі медикаментозної терапії [102].

1.2. Сучасний погляд на проблему регенерації міокарда

В останні десятиліття з'явилося багато нових даних щодо регенерації серця. Слід зазначити, що виділяють фізіологічну і репаративну регенерацію серця. Фізіологічна регенерація – закономірний процес відновлення тканин в результаті їх природнього відмирання. Репаративна регенерація – відновлення функцій органу після ушкоджень, дистрофічних процесів, інфекцій, перенапруг, травм, інтоксикацій, кисневого голодування. На відміну від більшості інших тканин ссавців, м'язова тканина серця не може повністю відновитися після ушкодження [315]. У той же час, деякі риби і амфібії здатні регенерувати серце. Певні дані дозволяють припустити, що існують деякі можливості і для відновлення серця ссавців. Слід зазначити, що темп проліферації кардіоміоцитів (КМЦ) поступово зменшується на пізніх стадіях ембріогенезу, і незабаром після народження відбувається зміна зростання міокарда з гіперпластического на гіпертрофічний [115, 267].

Існує три механізми клітинної смерті: апоптоз, некроз та їх комбінація [210, 286]. Смерть клітини в результаті апоптозу або некрозу має різні наслідки для ремоделювання серця. Некроз КМЦ веде до запальної реакції, проліферації судин, інфільтрації макрофагами, активації фібробластів і, відповідно, утворення рубця [286]. Після апоптозу репаративний процес йде без накопичення колагену, а апоптозні тіла видаляються сусідніми клітинами без видимих змін морфології тканини. Проте апоптоз може індукувати гостре ремоделювання стінки шлуночка [191, 311].

У нормі в серці відбувається постійне оновлення КМЦ за рахунок СК тканинних ніш, в яких локалізуються і функціонують СК серця. Гомеостаз в серці підтримується в результаті збалансованих процесів апоптозу старих КМЦ і формуванні нових КМЦ в результаті поділу та диференціювання СК серця в нішах [164, 194]. При порушенні даного балансу відбувається передчасне збільшення кількості старіючих міоцитів зі зниженою скорочувальною функцією, що в свою чергу призводить до порушення функції шлуночків серця і старіння серця як органу [110].

Відомий факт, що тканини серцевого м'яза дуже чутливі до нестачі кисню. Так, в зоні ішемії протягом 8–10 с витрачається пов'язаний з міоглобіном і фізично розчинений кисень, в результаті чого напруга його в м'язовій тканині серця знижується нижче критичного, тобто до 6 мм.рт.ст. У міокарді порушується обмін речовин, припиняються окислювально-відновні реакції, що призводить до загибелі КМЦ [92]. Далі в міжклітинному просторі з'являються внутрішні мембрани міокарда, які активують компоненти комплементу, це призводить до різкої дегрануляції тучних клітин і вивільнення серотоніну, гістаміну і фактора, що активує тромбоцити [216, 314, 355]. Потім розвивається запальна реакція, що супроводжується коагуляційний некрозом КМЦ, набряком м'язової тканини, пошкодженням нейтрофилами, моноцитами/макрофагами і Т-клітинами [173, 265]. Т-клітини починають стимулювати формування рубцевої тканини. До цього моменту завершується розбирання позаклітинного матриксу пошкодженого міокарда і

починається його формування *de novo*. Джерелом для матриксу є фібробласти, які мігрують в зону пошкодження, та синтезують колаген I і III типів. Відомо, що у відповідь на фактори хемотаксису, SCF, TGF1, IP-10 інтенсивно секретують в зоні ішемії, можуть залучати клітини кісткового мозку і фібробласти прилеглих органів і тканин [323, 337, 348]. Продукція колагену в зоні ішемії спостерігається на 3–4 добу після ІМ. На мікроскопічному рівні фібрили колагену виявляються в перинфарктній зоні на 7-у добу після ушкодження. Синтез колагену триває протягом місяців після виникнення ішемічного пошкодження в зоні інфаркту, в перинфарктній і позаінфарктній областях [216].

У ряді досліджень продемонстровано, що один зі складових компонентів процесу ремоделювання – апоптична загибель КМЦ – відбувається в перинфарктній зоні міокарда [170, 293, 297]. Кількість КМЦ, що загинули, може досягати 35 % від загального числа клітин міокарда перинфарктної зони [319]. Інфарктна зона поступово розширюється і піддається рубцюванню, а неушкоджені ділянки гіпертрофуються, потім дилатуються, пристосовуються до нових умов функціонування. На тканинному рівні відбувається подовження і стоншення міофібрил, міокардіофіброз. Це призводить до розтягнення і стоншення ішемізованого міокарда, а у важких випадках може статися розрив серцевого м'яза. При аналізі постмортальних зрізів серця людини відразу ж після гострого ІМ виявлений початок регенеративних процесів в серці, які відбуваються за рахунок активації СК серця, які проліферують і диференціюються з утворенням КМЦ, гладком'язових і ендотеліальних клітин, організуються в дрібні артеріоли. Причому при ІМ мітотичний індекс СК серця в 29 разів більше, а при ХСН в 14 разів більше, ніж в здоровому серці [347]. Проліферація і диференціровка СК серця відбувається в перинфарктній зоні, а також в інших, більш віддалених ділянках серця, але не в самій зоні інфаркту.

У ряді робіт доведено, що проліферуючі міоцити можуть мігрувати в зону інфаркту та брати участь в заміщенні загиблої тканини [187, 347]. Цікавим є той факт, що при ІМ і ХСН відзначається збільшення числа старіючих СК серця: 10 % – в нормі, 18 % – при ІМ і 40 % при ХСН. Старіючі СК мають більш короткі теломери і знижену теломеразну активність, експресують інгібітори клітинного циклу, що свідчить про пошкодження ДНК. Також слід підкреслити, що число апоптотичних СК при ІМ і ХСН також підвищується в порівнянні з нормою в 12 і 32 разів відповідно. Отже, якщо розмір ІМ перевищує регенеративний потенціал СК в силу розповсюдженості ушкодження міокарда, або через нестачу компартмента СК, що є особливо актуальним при ХСН, відновлення тканини не відбувається. Крім цього, негативний вплив на проліферацію та міграцію СК серця надають запальні цитокіни та недостатня продукція факторів росту.

G. Olivetti et al. [291] довели, що у пацієнтів з СН погіршення функції ЛШ може бути пов'язано з апоптозом. Вони провели морфологічне дослідження міокарда у 7 пацієнтів з СН IV класу за класифікацією NYHA, яким було пересажене серце. У чотирьох пацієнтів була дилатаційна кардіоміопатія, у трьох – ішемічна. У міокарді видалених сердець були виявлені ознаки апоптозу. Паралельно з цим, G. Olivetti досліджував 36 препаратів сердець пацієнтів в термінальній стадії СН, видалених при трансплантації цим пацієнтам донорського серця. Було виявлено, що апоптоз в кардіоміоцитах цих хворих був виражений в 232 рази сильніше, ніж в серцях пацієнтів групи порівняння, у яких не було ознак СН. Цікавим є той факт, що апоптоз клітин грануляційної тканини пов'язаний зі зворотним ремоделюванням серцевого м'яза після інфаркту міокарда [256].

1.3. Інноваційні методи реваскуляризації міокарда

Встановлено факт, що при ряді патологічних станів, таких як цукровий діабет 2 типу, СН, ІХС, атеротромбоз та ін., при яких дисфункція ендотелію розглядається як один з найважливіших патогенетичних факторів,

функціональна здатність ендотеліальних прогеніторних постнатальних клітин організму обмежена, власне як і їх мобілізація, що пояснює погану адаптаційну регенерацію міокарда при його пошкодженні [12, 180, 248, 268]. Слід зазначити, що основні механізми, що опосередковують ангіопоетичний вплив ЕПГК залишаються до кінця не з'ясованими [267, 268]. Це пояснюється тим, що індукований ангіогенез і реендотелізація не є атрибутами подальшого диференціювання мобілізованих прогеніторних клітин, а реалізуються за рахунок продукції ангіогенних і росткових факторів паракринної природи, таких як VEGF, фактор росту фібробластів, Г-КСФ, а так само через хемокіни RANTES і ІЛ-6 і сфингозин-1-фосфат [167, 182]. При цьому такі процеси як хоумінг, атракція, адгезія, міграція, проліферація і кооперація, модульовані тканинними СК, швидше за все ініційовані хемокінами, продукуються ендотеліальними прогеніторними постнатальними клітинами, надають своєрідний ефект прекоденсування щодо перших [189].

Серед інноваційних методів лікування ІХС з'явилися такі, які стимулюють регенеративні процеси. До них можна віднести застосування рекомбінантних білків и пептидів (фактори росту, що запобігають апоптозу або стимулюють ангіогенез в перинфарктній зоні), генну терапію (застосування плазмідних або вірусних генних конструкторів, які кодують ангіогенні фактори), введення стовбурових або прогеніторних клітин різного походження [110, 212, 331].

Недавні дослідження продемонстрували, що при клітинній трансплантації в серці, кардіоміоцитах і клітинах судин визначається до 0,016 % від загального числа клітин реципієнта. Продемонстровано, що джерелом даних клітинних елементів є кістковий мозок і що їх міграція відбувається у відповідь на вивільнення в міокарді деяких цитокінів – гранулоцитарно-макрофагального колонієстимулюючого фактора (ГМ-КСФ), гранулоцитарного колонієстимулюючого фактора (Г-КСФ) і фактора росту стовбурових клітин (SCF – stem cells factor) [290]. При підвищенні

концентрації Г-КСФ відбувається збільшення викиду в периферичну кров CD34+-клітин, гемопоетичних СК і CD133 + -клітин-попередників ендотелію [212, 292, 331].

Так, застосування SCF і Г-КСФ в терапії експериментального ІМ у мишей виявило поліпшення стану міокарда, що було доведено методами гістологічного дослідження і функціональних тестів. Застосування цих факторів у приматів не виявило змін розмірів зони інфаркту [92, 289]. Дані дослідження продемонстрували, що циркулюючі СК приматів брали участь тільки в формуванні судин і не сприяли репарації кардіоміоцитів. Клінічні результати досліджень також свідчили швидше про поліпшення васкуляризації зони ішемізованого міокарда, ніж про відновлення функції м'язової тканини [235, 248].

Плечев В. В. і співавт. [112] продемонстрували, що застосування 5-оксиметилурацила при експериментальному ІМ призводить до статистично значущого підвищення експресії генів до факторів росту судин hgf і lgl, що сприяло посилення неоваскулогенеза в зоні ішемії.

Бокерія Л. А. і співавт. [16] повідомили про однорічну ефективність застосування ТМЛР (трансміокардальної лазерної реваскуляризації міокарда) з введенням ангіогенного фактора α -ECGF. У таких пацієнтів зменшувався функціональний клас стенокардії і споживання нітрогліцерину, збільшувався поріг толерантності до фізичного навантаження, збільшувалась ФВ ЛШ при трансторакальній ЕхоКГ, зменшувались дефекти перфузії, а також поліпшувався фізичний та психо-емоційний стан хворих. Причому необхідно багаторазове введення α -ECGF для закріплення його ефекту, тому що тривалою дією препарат не володіє і в комплексному застосуванні з ТМЛР діє набагато краще [15].

У 2001 році Kocher A. A. et al. показали, що при введенні Г-КСФ і фактора росту СК за 5 діб до і через 3 доби після експериментального ІМ, в кровотоці визначалася велика кількість клітин Lin- / c-kit +, включаючи МСК (приблизно в 250 разів більше звичайної концентрації). При формуванні

нового міокарда зона інфаркту зменшувалася з 64 до 39 %, а ФВ ЛШ збільшувалася на 14 % [254, 295].

У 2004 році корейськими вченими були опубліковані результати дослідження, присвячені порівняльному аналізу застосування інтракоронарного введення АККМ, 4-х разового введення Г-КСФ з метою мобілізації власних СК. Дослідження проводилося на пацієнтах, які перенесли гострий ІМ і коронарну ангіопластику через 48 годин після початку захворювання. У групі з клітинної трансплантацією значно збільшилася перфузія ішемізованих ділянок міокарда, поліпшувалася функція серця у вигляді достовірного збільшення ФВ ЛШ, зменшення КСО і даний ефект спостерігався протягом 6 місяців. У групі з введенням Г-КСФ і контролю ці показники не поліпшувалися. Таким чином, була продемонстрована неефективність застосування Г-КСФ [248].

В цьому ж році турецькими вченими було проведено клінічне випробування препарату «Нейпоген» (Г-КСФ), який вводили пацієнтам з ішемічною кардіоміопатією. На четвертий день після введення виконували аферез периферичної крові і виділяли СК, які потім під час проведення шунтуючих операцій вводили інтраміокардіально. В результаті у більш ніж половини хворих спостерігалось збільшення ФВ ЛШ. Один хворий помер від сепсису, при аутопсії в місці ін'єкції було виявлено значну кількість ендотеліальних клітин і новоутворених судин [296].

У зв'язку з ефективністю інтраміокардіальної клітинної терапії при ІХС метою роботи Кононенко В. І. зі співавт. [88] була оцінка фенотипічних характеристик і цитокін-продукуючих властивостей моноклеарних клітин, мобілізованих введенням препарату G-CSF з кісткового мозку пацієнтів з СН, що розвилася після перенесеного гострого ІМ. Показано, що введення препарату G-CSF приводить до мобілізації ендотеліальних прогеніторних постнатальних клітин з КМ в периферичну кров (CD34 + / CD133 + і CD34 + / KDR + популяцій). Інтраміокардіальне введення клітин призводило до поліпшення перфузії в зонах введення у 76 % пацієнтів. У хворих з

виявленими поліпшенням перфузії міокарда, кількість CD34 + CD133 + ЕПК була в 3,2 рази вище, ніж у пацієнтів без ефекту, або з погіршенням стану. Мононуклеарні клітини після введення G-CSF в 48-годинній культурі секретують цитокіни Еро, GM-CSF, TNF- α , що сприяє поліпшенню кровопостачання міокарда. Периферична кров є доступним джерелом ендотеліальних прогеніторних постнатальних клітин, а мононуклеари після мобілізації здатні надавати репаративну дію на ішемізованих міокард [186].

Козлов В.А. і Смоляник А. Б. [86] застосували граноцит (Г-КСФ) і ронколейкін (інтерлейкін-2) при лікуванні ІМ для стимуляції виходу аутологічних СК з кісткового мозку. Вони відзначили позитивний вплив цих субстанцій на процеси ремоделювання, відновлення систолічної функції серця, запобігання формуванню рубцевої тканини.

Останнє десятиліття з'явилися публікації, присвячені застосуванню комплексу da Vinci при виконанні мамарокоронарного шунтування і відзначені позитивні сторони робот-асистованої реваскуляризації міокарда у хворих на ішемічну хворобу серця [182].

Qian L. опублікував роботу, присвячену лікуванню ІМ з використанням ретровірусів в експерименті [307]. Автор моделював ІМ у мишей шляхом перев'язки однієї з великих гілок коронарних артерій, потім виконувалося інтраміокардіальне введення ретровірусів, що містять ген флуоресцентного білка dsRed і (або) гени GMT, на кордоні формуючого некрозу. Через дві доби зі зразків міокарда, отриманих з місць введення ретровірусів, готували гістологічні зрізи і фарбували їх на dsRed, α -актінін (використовувався як маркер кардіоміоцитів), віментин і Thy1 (використовувалися як маркери фібробластів). Клітини, які ко-експресують α -актінін і dsRed, не виявлялись, тоді як багато віментин-позитивних клітини також забарвлювалися на dsRed. За допомогою FACS було показано, що близько 4 % клітин з отриманих зразків мали фенотип dsRed + Thy1 +, що свідчило про ефективність використаної методики для трансфекції фібробластів серця *in vivo*. Рівень експресії GMT в dsRed + Thy1 + клітинах був в 60 разів вище в порівнянні з

dsRed-Thy1 + клітинами і в 6-8 разів вище ендogenousного рівня експресії цих же факторів в кардіоміоцитах. Крім того, було показано, що крім фібробластів відбувалася трансдукція клітин ендотелію (PECAM +) і периваскулярних клітин (NG2 +), але не гемопоетичних (CD34 +) і перикардіальних (WT1 +) [196].

Протягом 4 тижнів після виникнення інфаркту та введення ретровірусів з GMT в області ушкодженого міокарда виявлялися клітини, які ко-експресують α -актинін і β -галактозидазу. Експресія останньої вказувала на те, що родоначальницями цих клітин були експресуючі періостином або Fsp1 клітини. У той же час, клітини мали добре сформовані сакромери і подібну морфологію з ендogenousними кардіоміоцитами. Крім α -актиніна, вони також експресували інші характерні для кардіоміоцитів білки, включаючи тропоміозин, кардіоспецифічний тропонін T і важкий ланцюг міозину. Більше половини з цих клітин мали нормальні сакромерні структури.

Аналіз експресії N-кадгерінов і Cx43, які відіграють ключову роль у формуванні міжклітинних контактів в міокарді, показав, що близько 90 % індукованих кардіоміоцитів експресували ці білки. Приблизно половина досліджуваних клітин N-кадгерінов і Cx43 в великих кількостях локалізувалися по краях клітин. У 4% індукованих кардіоміоцитів розподілення Cx43 було повністю аналогічне такому в ендogenousних кардіоміоцитах.

Таким чином, в даному дослідженні авторам вдалося показати, що під час гострої фази ІМ резидентні фібробласти серця можуть бути конвертовані в клітини, подібні КМЦ шляхом локального введення ретровірусних векторів з генами GMT. Початкова ефективність перепрограмування *in vivo* та *in vitro* була приблизно однакова – 10–15 % трансфєкованих клітин. Проте, отримані *in vivo* кардіоміоцити мали більш зрілий фенотип. Швидше за все, це обумовлено факторами мікрооточення, такими як міжклітинний матрикс, секретуємі білки та ін., які, можливо, збільшують ефективність перепрограмування. Індуковані кардіоміоцити здатні до анатомічної і

функціональної інтеграції з міокардом, що може призводити до значного поліпшення параметрів скорочувальної активності серця в постінфарктному періоді.

М. Hedman зі співавт. [230] опублікували результати 8-річних спостережень в рамках порівняльного плацебо-контрольованого клінічного дослідження безпеки препаратів на основі аденовірусного вектора і ДНК-плазмід з геном фактора росту ендотелія судин (VEGF) 165 (в ліпосомах) в лікуванні 103 пацієнтів з ІХС, що планувалися для хірургічного лікування. Всім пацієнтам в ході коронарної ангіопластики або стентування виконувалися інтраміокардіальні ін'єкції препаратів. В результаті, статистично значущих відмінностей в 8-річній виживаності пацієнтів (82 % сумарно), а також у розвитку несприятливих явищ виявлено не було. Та ж дослідницька група в Фінляндії в 2013 році виконала I / II фазу клінічних випробувань препарату на основі аденовірусного вектора з VEGF-D для лікування пацієнтів зі стенокардією напруження II–III ФК.

Іншу групу терапевтичних генів становлять послідовності, що кодують різні ізоформи FGF. Так, Росії виконано III фазу клінічних випробувань генотерапевтичного препарату «Genex», російське назва «Кардіоново» (Cardium Therapeutics Ink.) [208]. Однак, введення препарату на основі аденовірусних векторів з геном FGF-4 досить складне – інтракоронарне, з використанням спеціальної системи. У попередніх клінічних дослідженнях було показано, що препарат має терапевтичний ефект, що виявляється в зниженні кількості і тривалості нападів стенокардії тільки у жінок. У частини чоловіків ефект був навіть нижче, ніж в групі плацебо [110, 290].

Ряд розробок пов'язані з дослідженням ефективності генотерапевтичних препаратів на основі гена HGF. Зокрема, в Кореї проводиться клінічне дослідження безпеки препарату на основі ДНК-плазмід з геном HGF (ViroMed Co., Ltd.; VM Biopharma), що вводився інтраміокардіально при виконанні шунтуючих операцій на коронарних судинах пацієнтам з ІХС [316].

Крім ДНК-плазмід, що кодують один терапевтичний ген, розробляються препарати на основі нуклеїнових кислот, що включають відразу кілька генів. Передбачається, що експресуючі фактори будуть підсилювати дію один одного, тим самим значимо посилять ефект терапевтичного ангиогенезу. Однією з найбільш поширених комбінацій є VEGF-A165 / bFGF. Зокрема, в Польщі в 2009 році завершилися клінічні дослідження безпеки та ефективності (фаза II) препарату на основі плазмиди з зазначеними генами. Препарат вводився інтраміокардіально пацієнтам зі стенокардією напруги III–IV ФК під час виконання оперативного лікування [163]. В ході дослідження було встановлено, що перфузія міокарда, виміряна в спокої і при навантаженні, не відрізнялася від такої в контрольній групі. Однак покращилася переносимість фізичного навантаження [258].

Таким чином, розробка геннотерапевтичних препаратів для лікування пацієнтів з ІХС, виконується в усьому світі досить активно. Аналізуючи опубліковані результати клінічних досліджень, можна зробити висновок про безпеку препаратів як на основі невірусних, так і вірусних векторів. Що цікаво, незважаючи на багаторазово більш високу ефективність трансфекції при використанні вірусних геннотерапевтичних конструкцій в порівняльних дослідженнях і при зіставленні результатів різних досліджень вираженої різниці в клінічній ефективності лікування пацієнтів з ІХС не спостерігалось. Однак, для більш обґрунтованих висновків, необхідні дані повноцінного мета-аналізу, які поки відсутні [99].

1.4. Клітинна кардіоміопластика мезенхімальними стовбуровими клітинами

На відміну від медикаментозних і хірургічних методів лікування ІХС 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 [61, 292]. З огляду на те, що ІМ як

максимальна точка проявів ІХС, характеризується процесами запалення, некротичною і апоптичною загибеллю кардіоміоцитів, гіперплазією і ремоделюванням як ураженого, 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. et al. [176]. Подальші більш детальні дослідження властивостей цих клітин, виявили, що вони володіють здатністю після ішемічного ушкодження міокарда диференціюватися в клітини з фенотипом КМЦ і заміщати загиблі клітини серця господаря. Це було продемонстровано Orlic D. [292] і привернуло увагу до клітинної терапії як вчених, так і практикуючих медиків [56].

Мезенхімальні стовбурові клітини (МСК) є багатообіцяючим матеріалом для клітинної як ауто- так і аlogenної терапії з двох причин. По-перше, МСК виявлені, ізольовані і виділені з диференційованих дорослих і постнатальних тканин, таких як КМ (Prockop DJ, 1997) [306], периферична кров (Kuznetsov SA et al., 2001) [261], м'язи (JY Lee et al., 2000) [263], судини (Brighton et al., 1992) [184], шкіра (Mizuno & Gliwacki, 1996) [282], і пупкова кров (OK Lee et al., 2004) [264]. По-друге, МСК як універсальний будівельний матеріал вже понад два десятиліття привертає до себе увагу вчених різних країн в зв'язку з можливістю їх диференціювання в остеобласти, хондроцити, адипоцити, нейрони, кардіоміоцити та ін. [45, 325]. Така висока пластичність МСК пояснюється різноманітним специфічним генним каскадом в недиференційованих МСК [165]. Крім іншого, в багатьох дослідженнях *in vivo* було виявлено, що введені ззовні МСК надалі виявлялися в жировій тканині, тканині легенів, хрящовій тканині, а периваскулярній області центральної нервової системи, серцевому м'язі, тканині печінки, кістковому мозку, ендотелії, селезінці і тимусі тварин [275]. Фенотипічно МСК ідентифікуються по відсутності маркерів, характерних для гемопоетичних клітин, таких як CD34-, CD45-, glycophorin A-, CD14-, HLA-DR, антигенів CD80, CD86, і за наявністю наступних сигнальних

молекул: CD 105 (endoglin), CD129, CD166, CD90 (Thy1), CD44 (hyaluronate receptor), CD29, CD13, CD106 (VCAM-1), ICAM-2, LFA-3 [246, 356, 362]. Крім того, встановлена здатність МСК стимулювати ангиогенез, що пояснює потенціал широкого клінічного застосування СК в кардіології та кардіохірургії [209]. Встановлено антиапоптотичний ефект трансплантації МСК при нирковій недостатності, серцевої недостатності, нейродегенераторних захворюваннях так і при інших патологіях [61, 87, 165, 206, 300]. Таким чином, МСК демонструють секрецію ростових і антиапоптотических факторів, які демонструють паракринний ефект, стимулюють зростання нових судин, запобігають апоптозу ендотеліальних і гладком'язових клітин судин, сприяючи тим самим виживання кардіоміоцитів в умовах гіпоксії [61, 207, 222].

Lee et al. [264] було продемонстровано, що МСК, що осіли в легенях після внутрішньовенної трансплантації, здатні активувати і починати секрецію протизапального білка TSG-6. З огляду на те, що хронічний запальний процес вважається ключовим в прогресуванні атеросклерозу, протизапальний ефект МСК є ефективним для поліпшення серцево-судинного прогнозу. Так само в останні десятиліття виявлені і ряд інших чинників, що секретуються МСК [40, 97, 112]. Відомий факт, що одним зі складових компонентів процесу ремоделювання є апоптотична загибель кардіоміоцитів, яка відбувається в перинфарктній зоні міокарда [92], тому антиапоптотический ефект МСК особливо актуальний при даній патології.

Існує ряд робіт, присвячених ефективності застосування МСК при дилатаційній та ішемічній кардіоміопатії, з огляду на той факт, що розвиток кардіоміопатії різних видів, ймовірно, пов'язаний з мутацією значного числа генів, що відповідають за синтез білків КМЦ (тітін, десмін, вінкулін, кадгерінов та ін.). Таким чином, обгрунтовано можна підкреслити, що паракринний ефект МСК якимось чином призупиняє прогресування хвороби [43, 148]. Крім іншого встановлено, що в міокарді у пацієнтів, страждаючих дилатаційною, гіпертрофічною і ішемічною кардіоміопатією, виявляються

клітини, які експресують z-kit (рецептор до фактору СК) і маркер проліферації Ki-67. Останні, крім активації власних СК серця, беруть участь в хоумінгі пересаджених МСК [76, 140]. У зв'язку з цим, застосування клітинної трансплантації у хворих із застійною серцевою недостатністю різної етіології призводить до поліпшення перфузії міокарда при інтраміокардіальному введенні [19, 46, 67, 68, 274].

Цікавим є факт, що застосування алогенних МСК не стимулює реакцію відторгнення «трансплантат проти господаря». Встановлено, що МСК володіють мінімальною експресією молекул власного комплексу гістосумісності II класу і недоліком ко-стимулюючої поверхневої молекули В-7, необхідної для запуску Т-клітинної імунної відповіді [172, 301, 340, 353].

Встановлено, що після інтраміокардіального введення МСК в зону ІМ достовірно збільшується локальний рівень VEGF і сумарний поперечний зріз судинного русла, поліпшується регіональний кровотік і відповідно скороливість міокарда [338]. На моделі ІМ у свині при трансендокардіальному введенні аутологічних клітин КМ були істотно поліпшена скорочувальна здатність міокарда і получили покращення колатерального кровообігу. У дослідженнях *in vitro* отримані докази, що СК продукували VEGF і моноцитарний хемоаттрактантний білок, за допомогою яких і поліпшувався колатеральний кровотік [282, 322].

Даний факт був підтверджений Li N. et al. [269], який відзначив збільшення кількості колатеральних судин в 5,7 рази через 3 тижні після введення МСК КМ в область ІМ щурів. Клітини кісткового мозку продукували фактор росту фібробластів, VEGF, ангіопротейн, інтерлейкін і фактор некрозу пухлин, які в наслідку регулювали ангіогенез. Також було відзначено, що ФВ ЛШ покращилася на 48 % в порівнянні з групою контролю.

Цікавим є той факт, що при трансплантації МСК як у тварин, так і у людини, не дивлячись на поліпшення функції серця і об'єктивного збільшення толерантності до фізичних навантажень, відзначено транзиторне

збільшення рівня мозкового натрійуретичного пептиду. Передбачається, що подібний ефект можна розглядати як ознаку кардіоміогенеза [269].

Деякими авторами зазначена перевага використання неприлипаючих мононуклеарів КМ, що володіють вираженим ендотеліальним потенціалом, а при використанні несепарованих СК КМ відзначалися елементи кісткової тканини в зоні ішемічного пошкодження міокарда [121].

У ряді оглядово-аналітичних робіт [127, 149] проведено аналіз цитокінів, які секретують СК КМ людини *in vitro* (табл. 1.2).

В роботі Вострікової О. Ф. зі співавт. [28] відзначено, що у щурів з моделлю ІМ в пренекротичну зону вводили три види МСК: ендотеліоцитоподібні, кардіоміоцитоподібні і недиференційовані. В результаті було відзначено збільшення концентрації caspase 3, яка відображає відстрочення початка процесів рубцювання і демонструє позамежну роботу мітохондрій КМЦ, що є відображенням їх адаптації до несприятливих умов.

У ряді досліджень мишам з ІМ вводили МСК людини, мічені ферментом lacZ і через 14 діб дані клітини продукували кардіоспецифічні ферменти десмин і тропонин Т, а через 60 діб – α -актин і фісфобаламін [341].

Порівняльні дослідження ефективності трансплантації декількох видів клітин в клітинній трансплантології з'являються не часто, тому завжди представляють значний інтерес. Хоча клітинна кардіоміопластика вже зробила крок в клініку, але потік експериментальних робіт не зменшується. Тут спостерігається тенденція застосування клітин КМ (від мононуклеарної фракції цілком до окремих, відсортованих по 1–2 маркерами) в якості клітинного матеріалу на противагу структурним міобласти, застосовуваним більш широко раніше. В журналі *European Journal Cardiothoracic Surgery* в 2004 році з'явилася стаття, в якій порівнюється цей клітинний матеріал для кардіоміопластики. Після трансплантації клітин значно зріс кінцевий діаметр лівого шлуночка в діастолу – у всіх групах, крім комбінованої трансплантації.

Таблиця 1.2

Цитокіни, які продукують стовбурові клітини людини *in vitro*

Цитокіни	Основні морфогенетичні функції
Angiopoetin-1	Міграція ЕК та інгибування апоптоза
Fibroblast	Проліферація ЕК, інгибування апоптоза та ін
Fibroblast growth factor-7	Проліферація ЕК та інгибування апоптоза
Interleukin-1	VEGF активація та інгибування апоптоза
Interleukin-6	VEGF активація та інгибування апоптоза
Metalloproteinase-1	Формування капілярів
Metalloproteinase-2	Формування капілярів
Metalloproteinase-9	Формування капілярів
Placental growth factor	Проліферація ЕК та інгибування апоптоза
Stem cell-derived factor	Хоумінг-ефект СК
Transforming growth factor- β	Рост судин, проліферація ЕК, та інгибування апоптоза и др.
VEGF-A	Проліферація ЕК, ангиогенез, та інгибування апоптоза
VEGF-B	Проліферація ЕК, ангиогенез, та інгибування апоптоза
bFGF	Проліферація ЕК, ангиогенез, та інгибування апоптоза
Insulin-like growth factor	Проліферація ЕК, ангиогенез, та інгибування апоптоза
Hepatocyte growth factor	Проліферація ЕК, ангиогенез, та інгибування апоптоза

ФВ ЛШ достовірно зменшувалася в контрольній групі, якій вводили фізіологічний розчин, не змінювалася в групі трансплантації клітин кісткового мозку і збільшувалася в групах трансплантації міобластів і комбінованим трансплантатом. КДО ЛШ значно збільшився у всіх групах, крім групи з комбінованим трансплантатом.

Морфологічні дослідження показали, що трансплантати добре приживаються і інтегруються в міокард. Трансплантація клітин стимулювала ангиогенез в 2–4 рази краще в порівнянні з контрольною групою. Найбільше ангиогенний ефект був виражений в групах комбінованої трансплантації і скелетних міобластів, а найменше – в групі трансплантації клітин КМ [294].

Були представлені результати дослідження з порівняльної оцінки впливу інтраміокардіальної ауто трансплантації культури мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин кісткового мозку і ядерних клітин КМ на морфофункціональний стан міокарда після інфаркту. Експеримент був проведений на кроликах породи шиншила. ІМ моделювався шляхом лігування передньої низхідної гілки лівої коронарної артерії. Оцінку результатів проводили за допомогою функціональних (електрокардіографія, ехокардіографія) і морфологічних методів. В роботі показано, що інтраміокардіальна ауто трансплантація культури мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин КМ при експериментальному інфаркті міокарда приводила до зменшення площі зони ішемічного пошкодження, нормалізації показників систолічної функції серця, а також до стимуляції ангиогенезу. У той же час інтраміокардіальна ауто трансплантація ядерних клітин КМ супроводжувалася збільшенням зони ішемічного пошкодження і погіршенням показників систолічної функції серця в порівнянні з контрольною групою, хоча і характеризувалася з активацією ангиогенезу [253].

Матюковим А. А. в 2006 році опубліковані результати досліджень, присвячених порівнянню ефективності інтраміокардіального введення різних клітин при ІМ у кролика в експерименті [98]. ІМ моделювали шляхом

лігування низхідній гілці лівої коронарної артерії. Оцінку перфузії міокарда проводили методом емісійної комп'ютерної томографії перед моделюванням ІМ і через 10 діб, 1,5 місяці, 3, 6, 12 місяців. Були сформовані 3 групи експериментальних тварин: 1 група – в ішемізовану зону вводили ММ СК кісткового мозку; 2 група – вводилися ядерні фракція кісткового мозку (ЯСК); 3 група – вводилася ростова середа. Інтраміокардіальна аутотрансплантація ММСК і ЯСК кісткового мозку призводила до повного відновлення перфузії ішемізованого міокарда. Можна припустити, що трансплантовані ММСК впливали на процес ангиогенезу за рахунок їх диференціювання в судинні структури і секреції ангиогенних факторів, а ЯСК – за рахунок секреції ростових факторів.

Цікавим є той факт, що МСК можуть бути використані не тільки з метою регенерації, але і як засіб для доставки в них певних генів. Тобто вони можуть бути використовуватися для генної терапії. При цьому ген може бути поставлений під тканевоспецифічне промотор, який забезпечить його експресію лише в тій тканині, де вона необхідна. Терапевтичний ефект генетично модифікованих МСК був показаний в експериментах по трансфекції їх генами нейротрофічних чинників з подальшою трансплантацією щурам з ішемічним інсультом [259], а також при лікуванні еректильної дисфункції у старіючих щурів ін'єкцією МСК, трансфіковані геном ендотеліальної NO-синтази [177].

Терапевтичний ефект трансплантуюємих МСК полягає не тільки в тканинспецифічному диференціюванні в клітини пошкодженого органу, а й в паракринному ефекті. Одним з головних дій є трофічна функція МСК за рахунок продукції цитокінів, ростових факторів і інших речовин, що стимулюють регенерацію. Крім того, до поліпшення функції органу може призводити посилення його васкуляризації завдяки диференціювання МСК в ендотеліальні і гладком'язові клітини, що було показано в експерименті на собаках [325]. Великі надії покладаються на використання МСК в кардіології, особливо при ішемічній кардіоміопатії [189] і інфаркті міокарда [47, 56, 190].

Отже, незважаючи на всі позитивні моменти застосування МСК в клінічній практиці, є ряд серйозних проблем. Зокрема, отримання достатнього для трансплантації числа клітин утруднене обмеженістю їх здатності до проліферації *in vitro* і зниженням потенціалу ділення при множинних пасажах. Серйозною проблемою є гетерогенність СК і відсутність надійних методів виділення, розділення і очищення субпопуляцій МСК [110]. Так само, крім ризику диференціювання трансплантуємих МСК у небажаному напрямку, не можна скидати з рахунків і можливість їх пухлинної трансформації, особливо при тривалому культивуванні *in vitro*. Хоча МСК вважаються набагато менш схильними до утворення пухлин в порівнянні з ембріональними СК, відзначалися випадки появи в культивованих клітинах цитогенетичних аберацій, що призводять до розвитку саркоми у тварин-реципієнтів [340].

Позитивний ефект терапії МСК пов'язують з їх індуктивними і інформаційними властивостями: продукцією проангіогенних і антиапоптотичних цитокінів [252, 254], регуляцією системної запальної реакції і відновленням імунної модуляції в організмі [197], поліпшенням регенерації кардіоміоцитів і підвищенням їх стійкості до апоптозу [193], з пластичністю СК і їх впливом на проліферацію СК серця [164].

Фахівцями Державної установи «Національний інститут хірургії та трансплантології імені О. О. Шалімова» НАМН України в низці робіт, присвячених питанням лікування хворих на кардіоміопатію, які знаходяться в листі очікування трансплантації серця, доведено, що трансплантація стовбурових клітин пуповинної крові через 12 місяців проспективного спостереження дозволила підвищити ФВ ЛШ, параметри систолічної (S , v , $p < 0,05$) та діастолічної (e , a , $p < 0,05$) функцій ЛШ, параметри повздожньої ($p < 0,05$), трансмуральної ($p < 0,05$) та циркулярної деформації ($p < 0,05$) на відміну від консервативної терапії та вентрикулопластики за Батистою, що є підставою вважати даний метод ефективним для комплексної корекції зниженої функції ЛШ. При комплексній терапії із застосуванням

консервативного лікування та трансплантації стовбурових клітин пуповинної крові у хворих з дилатаційною кардіоміопатією, що перебувають в листі очікування трансплантації серця, доведено покращення як фізичного ($p < 0,05$), так ментального ($p < 0,05$) здоров'я, поліпшення якості життя на 40,3 % за Міннесотським опитувачем порівняно з вихідним станом. На відміну від вентрикулопластики за Батистою та консервативного лікування, клінічне покращення стану пацієнтів з дилатаційною кардіоміопатією після комплексної терапії із включенням трансплантації СК пуповинної крові супроводжується покращенням серцево-судинної виживаності та зниженням серцево-судинної смертності на 15,0 % [29, 30, 36].

1.5. Хоумінг, терміни і шляхи введення мезенхімальних стовбурових клітин

Вчених усього світу завжди цікавило питання про оптимальний шлях введення МСК для отримання бажаного результату. У ряді досліджень підкреслено здатність СК, що вводяться в кровотік, мігрувати і локалізуватися в зоні ішемії міокарда без участі екзогенних чинників. Цей факт названий «хоумінг-ефектом» [10].

МСК сприяють зростанню гемопоетичних попередників шляхом секреції ряду цитокінів, таких як інтерлейкін (ІЛ)-6, ІЛ-7, ІЛ-8, ІЛ-11, ІЛ-12, ІЛ-14, ІЛ-15, фактору LIF (leukemia inhibitor factor), макрофагального колонієстимулюючого фактора (М-КСФ), гранулоцитарно-макрофагального колонієстимулюючого фактора (Г-КСФ), фактору росту стовбурової клітини [246, 362]. МСК також можуть сприяти міграції гемопоетичних стовбурових клітин (ГСК), введених шляхом внутрішньовенної інфузії в кістковий мозок шляхом експресії хоумінг-рецепторів і хемокінів, наприклад, SDF-1 (stromal-derived factor - 1) [362]. Міграція трансплантованих МСК в кістковий мозок також може відбуватися за градієнтом концентрації SDF-1 за рахунок експресії CXCR4. Той же механізм взаємодії SDF-1 і CXCR4, а також HGF і

s-met запропонований для пояснення хоумінга-ефекту МСК щодо пошкоджених тканин [351].

Слід зазначити, що у пацієнтів з ішемічною кардіоміопатією міграційна відповідь на дію фактору-1 стромальних клітин і фактора росту судин істотно нижче, ніж у здорових людей. Даний факт свідчить про можливу початкову дисфункцію СК КМ у хворих на ішемічну кардіоміопатію, що може обмежувати терапевтичний потенціал аутологічної клітинної кардіоміопластики [231].

Wold L. et al. [273], після індукування експериментального ІМ у щурів виділяли їх МСК КМ та культивували разом з флуоресцентним маркером DAPI і Dil. Потім клітини внутрішньовенно вводили тваринам і через 2 дні виявляли в зоні ішемії. Таким чином було продемонстровано хоумінг-ефект.

Багато досліджень присвячено вивченню кількості вводимих клітин при лікуванні ІХС. Так, Хубулаева Г.Г. зі співавт. [136] продемонстрували в експерименті, що концентрація клітин в трансплантаті повинна бути чітко регламентована, тому що при збільшенні їх кількості ефект не збільшується, а навпаки може призвести до негативного результату.

З початку виникнення клінічного етапу клітинної кардіоміопластики виникло питання: яким чином вводити стовбурові клітини, що б досягти найкращого результату. Виділяють 5 найбільш поширених методів введення клітинного трансплантата при ІХС: внутрішньовенний, інтракоронарний, безпосередньо в зону ураження з боку епікарду, ендоміокардіальний ін'єкції за допомогою різних навігаційних систем, внутрішньовенні ін'єкції в коронарну вену через коронарний синус (дає можливість вводити клітини в область міокарда, що може застосовуватися при оклюзії коронарних судин) [19, 69, 70, 110, 144, 168]. Прихильники того чи іншого способу введення доводять ефективність останнього. Але не існує рандомізованих масштабних досліджень в даній області, і тому питання залишається дискусійним [80, 110, 168].

У роботах Какучая Т. Т. зі співавт. на підставі результатів клініко-інструментальних методів дослідження продемонстровано, що застосування кістково-мозкових ендотеліальних клітин попередників CD 133+ в середній дозі 2×10^6 є здійсненним і безпечним в лікуванні пацієнтів з хронічною серцевою недостатністю ішемічного і неішемічного генезу [75]. Але оптимальна доза клітинного трансплантата також дискутується за даними літератури [41].

У НДІ трансплантології і штучних органів імені В. І. Шумакова в 2003 році було проведено клінічне дослідження, при якому інтракоронарно застосовували культивовані СК КМ. Дослідження показало, що в першій групі хворих відразу після введення СК КМ знижувалася активність проапоптичних білків в плазмі крові [143], позитивно змінювалася динаміка іммунограмм хворих, а також показників їх клінічного стану [149]. Через 2 місяці у пацієнтів зростав індекс фізичної активності, відзначалося поліпшення якості життя, достовірно знижувалися маркери тяжкості СН (мозковий натрійуретичний пептид, а також ступінь вираженості міжшлуночкової асинхронії за даними радіоізотопної вентрикулографії). При аналізі частоти післяопераційних ускладнень було відзначено, що в групі хворих з АКШ і введенням СК КМ розвиток поліорганної недостатності повністю нівелювався, а кількість інфекційних ускладнень ставала достовірно нижчою.

У серії публікацій Темнов А. А. [123, 124, 125, 126, 127] порівнював результати лікування ІХС з АКШ та і введенням СК КМ, пацієнти в яких достовірно не відрізнялися за віком, тривалістю штучного кровообігу і штучної вентиляції легенів під час операції. Було продемонстровано, що трансплантація культивованих клітин КМ викликає не тільки поліпшення гемодинаміки і якості життя хворих, але і достовірно знижує частоту виникнення гнійно-септичних ускладнень після операцій АКШ. Одним з фактів, що забезпечує даний ефект, є захист клітин КМ імунною системою

хворого від додаткового стресового пошкодження, яким є операція АКШ із застосуванням штучного кровообігу [65].

В експерименті на щурах Кардаш О. Ф. та ін. [76,77] довели, що внутрішньовенне введення МСК на 7 добу ІМ більшою мірою стимулює неоангіогенез в 2 тижневому терміні введення, ніж інтраміокардіальний спосіб.

Конопляник А. Г. зі співавт. [89] продемонстрували в експерименті, що внутрішньовенне введення аутологічних МСК, комітованих 5-азацитідіном, призводить при адриаміциновій кардіоміодістрофії до посилення регенерації міокарда та збереження більшої кількості повноцінних кардіоміоцитів.

За даними літератури [142, 145] процес диференціювання СК в кардіоміоцити можна індукувати: 1) шляхом суперекспресії МБК-2, 2) додаванням даного чинника в культуру клітин, 3) активацією ТАК-1 гена, що відноситься до членів суперсімейства мітоген-активованої протеїн-3-кінази, яка перетворює передачу сигналів від морфогенетичних білків кістки. Дослідники також продемонстрували, що одночасна надекспресія Nkxh-2.5 і GATA-4, які є транскрипційними факторами, одними з найбільш ранніх маркерів для прекардіальних клітин, може викликати кардіогенне диференціювання P19CL6 noggin клітин. Ці дані були отримані *in vitro*, що дозволяє уточнити роль МБК в диференціюванні СК в морфогенетичні білки кістки.

Немков А. С. і співавт. [103] повідомили про восьмирічний досвід застосування аутологічних клітин кісткового мозку у кардіологічних хворих. Ними відзначено, що внутрішньокоронарне введення аутологічних клітин кісткового мозку має яскраво виражений позитивний ефект у вигляді підвищення ФВ ЛШ, зниження летальності від ІХС.

Нестерук Ю. А. зі співавт. [104] так само підтвердили ефективність інтракоронарного введення аутологічних клітин кісткового мозку у хворих на ІХС, у вигляді поліпшення якості життя (ЯЖ) і зниження функціонального класу (ФК) стенокардії. Автори рекомендують інтракоронарне введення

мононуклеарів кісткового мозку хворим на стенокардію, в лікуванні яких вичерпали всі можливості оперативного і медикаментозного лікування. Сєдов В. М. зі співавт. [120] запропонував використовувати трансплантацію аутологічних клітин кісткового мозку для поліпшення метаболізму міокарда і перфузії, що свідчить про перспективність застосування даного методу лікування у хворих, які підлягають традиційним методам реваскуляризації міокарда у вигляді АКШ і коронарної ангіопластики.

Борукаєв І. З. повідомив про підвищення скорочувальної функції ЛШ після інтракоронарної трансплантації аутологічних клітин кісткового мозку на тлі ІМ, що обумовлено поліпшенням регіонарної мікроциркуляції і «включенням» гібернуючого міокарда [21].

У 2008 році Molina E. Опублікував результати інтракоронарного введення МСК на експериментальній моделі мишей з гіпертрофією «перевантаження» з метою оцінки поліпшення гемодинамічних показників, толерантності до фізичних навантажень, зменшення запального фону і запобігання ремоделювання ЛШ. Через 28 днів спостереження було відзначено поліпшення систолічної функції ЛШ, збільшення толерантності до фізичного навантаження, зменшення рівнів ІЛ-1 і 6, ФНО і мозкового натрійуретичного пептиду [284].

Волковська І. В. опублікувала результати обстеження і лікування 22 пацієнтів (10 – з ІХС і 12 з ідіопатичною дилатаційною кардіоміопатією), яким була виконана трансплантація аутологічних стовбурових клітин-попередників (CD 133+) [25]. Всім пацієнтам до операції виконували рутинне клінічне обстеження, що включало детальний збір анамнезу, фізикальне обстеження, комплекс неінвазивних досліджень (ЕКГ, пробу з фізичним навантаженням на тредмилі, холтерівське ЕКГ-моніторування, трансторакальну ехокардіографію, сцинтиграфію міокарда, позитронно-емісійну комп'ютерну томографію, а також стандартні лабораторні методи обстеження). Всі пацієнти, включені в дослідження, були віднесені до III–IV ФК СН за класифікацією Нью-Йоркської асоціації кардіологів (NYHA).

Введення клітин в міокард проводили під час різних хірургічних втручань (АКШ, МКШ, аннулопластика, протезування клапанів), а в 4 спостереженнях трансендокардіально. В результаті роботи автори прийшли до висновків, що клітинна «кардіоміопластика» за допомогою аутологічних клітин-попередників CD 133+ дозволяє рекомендувати її використання в якості вибору методу лікування у пацієнтів за наступними показаннями: ХСН III–IV ФК за NYHA (ішемічного і ідіопатичного генезу) при неможливості виконати адекватну операцію прямої реваскуляризації міокарда і / або транслюмінальну балонну ангіопластику у пацієнтів з ІХС при наявності життєздатного міокарда.

Бокерія Л. А. та ін [18] продемонстрували, що інтраміокардіальне транскатетерне введення клітинного трансплантата має набагато більші переваги перед інтракоронарним. Відзначено виражений паракринний ефект трансплантації аутологічних клітин кісткового мозку у вигляді підвищення концентрації в крові в посттрансплантаційному періоді більше 10 біологічно активних речовин.

Дьячков А. В. та ін. [64] запропонували інтракоронарне введення алогенних МСК при ХСН і спостерігали від неї позитивний ефект, який розвивався з першого тижня після трансплантації і тривав протягом 6 місяців у вигляді зменшення рівня мозкового натрійуретичного пептиду та поліпшення функціонального стану хворого.

Перше піонерське дослідження з використанням навігаційної системи NOGA XR було опубліковано в 2003 році групою американських і ізраїльських вчених, які за допомогою катетера трансендокардіально вводили аутологічні клітини КМ пацієнтам із тяжкою формою стенокардії, яка не корегувалася звичайною реваскуляризацією. У 8 з 12 пацієнтів були отримані значні поліпшення, які зберігалися протягом 3-х місяців спостереження [218].

В цей же період Tse H. F. et al. так само за допомогою системи NOGA XR вводили аутологічні мононуклеари КМ пацієнтам з ІХС, через 3 місяці

відзначали нівелювання симптомів стенокардії, поліпшення перфузії міокарда і поліпшення функції серця [344].

Рахмат-Заде Т. М. і ін. [117] відзначили ефективність застосування АККМ при інтраміокардіальному введенні на фоні хронічної СН та довели поліпшення скорочувальної функції ЛШ і можливість застосування даної методики в комплексі з АКШ.

Харламовим А. В. зі співавт. [134] було проведено порівняльний аналіз трансплантації СК з периферичної крові і жирової тканини у хворих в гострому періоді ІМ за допомогою навігаційною системою NOGA XR. МСК з жирової тканини отримували з використанням системи Celution System. СК з периферичної крові виділяли шляхом цитофереза після попередньої стимуляції виходу їх з кісткового мозку шляхом застосування комбінованої терапії цитокінами. В результаті роботи було доведено, що аутологічна трансплантація СК з периферичної крові і жирової тканини є високо ефективним і безпечним методом лікування гострого ІМ. Трансплантація мобілізованих СК периферичної крові має свої переваги, пов'язані зі стимуляцією природних процесів регенерації, в тому числі і на рівні організму, та отриманні міксту СК з високим ступенем потентності.

Чернявський А. М. та ін. [137, 138] продемонстрували, що ендокардіальна імплантація аутологічних СК з використанням навігаційної системи NOGA XR через 3 місяці після введення зменшує функціональний клас стенокардії та СН. Відзначалася тенденція до збільшення ФВ на тлі проведеної консервативної терапії. Таким чином, даний метод введення МСК був безпечним для пацієнтів. Крім іншого, зазначалося поліпшення перфузії міокарда за даними сцинтиграфії. У подальших публікаціях автори відзначили, що інтраміокардіальне введення аутологічних клітин кісткового мозку за допомогою системи NOGA XR при ішемічній серцевій недостатності через 6 місяців покращує виживаність і робить позитивний вплив на функцію ЛШ серця [82].

Під час експерименту на щурах Шахов В. П. зі співавт. [144] продемонстрували однакову ефективність застосування МСК і комітірованих МСК 5-азацітідіном. В обох випадках було відзначено посилення неоангіогенезу, але клітинна трансплантація не впливала на розміри рубця. Цікавим є той факт, що якщо МСК на останньому етапі культивування помістити на 2 години в термостат при температурі 43 °С для активації синтезу білків теплового шоку, то хоумінг ефект виражений набагато сильніше [175].

У 2005 році М. Hofmann опублікував своє дослідження, присвячене вивченню хоумінга трансплантованих нефракціонованих клітин кісткового мозку і CD34+ хворим з гострим ІМ. Клітини були помічені 18 фтордезоксіглюкозою і вводилися внутрішньовенно (1 група) і інтракоронарно (2 група) через 5–8 діб після виконання ангіопластики і стентування коронарних артерій. Було виявлено, що при внутрішньовенному введенні нефракціонованих клітин КМ рівень накопичення мічених клітин в серці не перевищував фонового значення. При внутрішньокоронарному введенні останні склали від 1,3 до 2,6 % від загальної кількості введених клітин, причому максимум «світіння» доводився на печінку і селезінку. При інтракоронарному введенні CD34+ клітин їх накопичення в міокарді склало від 14 до 39 %. Життєздатність вводимих клітин в загальному досягла 92–96 % [237].

1.6. Комбіновані технології лікування стенокардії із застосуванням мезенхімальних стовбурових клітин

У 2001 році Hamano et al. [228] опублікували перше клінічне дослідження ефективності застосування імплантації аутологічних клітин кісткового мозку під час АКШ. Через 1 рік після виконаної процедури відзначено значне поліпшення перфузії в зоні кровопостачання артерії, яка не була шунтована.

У своїх роботах Strauer В. Е. [333] проаналізував результати лікування 20 пацієнтів з трансмуральним гострим ІМ. Всім пацієнтам була виконана екстрена коронарографія з наступною пластикою в термін 2–72 годин від початку больового синдрому. 10 пацієнтам була виконана трансплантація мононуклеарів КМ, решта 10 становили групу контролю. Кожному пацієнту з основної групи через 6–9 діб після виконаної ангіопластики інтракоронарно було введено 8×10^7 МНК КМ, що містять в своєму складі $0,65 \pm 0,4$ % CD133+ та $2,1 \pm 0,28$ % CD34+. Через 3 місяці при порівнянні даних обстеження двох груп пацієнтів показано статистично значущу перевагу результатів клітинної кардіоміопластики над стандартною терапією ІМ [99].

У 2003 році німецькими вченими Stamm С. et al. [330] опубліковано результати лікування 6 пацієнтів, яким під час виконання АКШ проводили ін'єкцію аутологічних клітин кісткового мозку. Через 9–16 місяців після оперативного лікування на тлі значного поліпшення міокардіальної перфузії відзначалося помірне поліпшення скорочувальної функції міокарда. Не було виявлено злоякісних утворень, порушень ритму серця у пацієнтів. Даною групою дослідників в 2007 році був опублікований результат лікування пацієнтів з 14 добовим ІМ, яким разом з АКШ виконували інтраміокардіальну трансплантацію аутологічних клітин кісткового мозку. У період від 18 до 63 місяців відзначено підвищення ФВ ЛШ, поліпшення перфузії міокарда при емісійній комп'ютерній томографії [332, 357].

У національному науковому медичному центрі м. Астана було проведено дослідження безпеки та ефективності системного введення алогенних МСК кісткового мозку при гострому ІМ з підйомом сегмента ST (STEMI) і з вираженою систолічною дисфункцією ЛШ (ФВ <40 %). Всім хворим на протязі 2 годин після надходження в стаціонар проведено черезшкірне коронарне втручання з відкриттям інфаркт-залежної артерії. Порівнювалися дві групи пацієнтів. Перша була контрольна, якій виконували черезшкірне коронарне втручання і стандартну медикаментозну терапію. У другій на 7 добу внутрішньовенно проводили трансплантацію МСК. В

основній групі відзначалося достовірне поліпшення суб'єктивно самопочуття пацієнтів, знижувалися показники С-реактивного білка. Протягом 6 місяців підвищувався рівень ангіопоетина-1, який на пізніх стадіях ангіогенезу стабілізує утворену судину. Достовірно знижувався рівень передсердного натрійуретичного пептиду, з 7 доби значно підвищувалася концентрація VEGF (vascular endothelial growth factor), FGF (fibroblast factor growth), ANG-1 (angiotensin-1), які досягали максимуму через 3 і 6 місяців. При аналізі даних ЕхоКГ відзначалося збільшення ФВ ЛШ, зменшення кінцевого сістолічного об'єму (КСО) ЛШ, КДО ЛШ, значно знижувався функціональний клас ХСН [61].

Немков А. С. зі співавт. запропонували використовувати інтракоронарне введення аутологічних клітин кісткового мозку після оклюзії шунтів після АКШ, як метод вторинної реваскуляризації міокарда. Була підтверджена ефективність застосованої методики за допомогою ізотопних методів оцінки перфузії міокарда [103].

У ряді незалежних досліджень під керівництвом Chen Sh. [190] продемонстровано в цілому на 100 пацієнтах з гострим ІМ, що після проведення ангіопластики інтракоронарне введення клітинного трансплантата моноклеарів КМ призводить до підвищення ФВ ЛШ та зменшення КДО ЛШ [205, 335].

Так само, незалежно один від одного, Ozbaran M. et al. [296], Galinanes M. [220] застосували інтраміокардіальне введення моноклеарів КМ при ішемічній кардіоміопатії під час виконання АКШ. Вони отримали поліпшення кінетики стінок ЛШ і поліпшення якості життя хворих.

У 2003 році Britten M. B. et al. [183] провели інтракоронарну трансплантацію моноклеарів КМ на тлі гострого ІМ після ангіопластики. Дослідження підтвердило поліпшення функції ЛШ. Автори довели, що тільки вихідна міграційна активність стовбурових (прогеніторних) клітин в культурі. Цей показник є одним з тих, що характеризує функціональну

активність клітин і статистично значимо впливає на результати трансплантації СК КМ.

У 2004 році у зв'язку з впровадженням в клінічну практику системи NOGA XR Fush H. et al., [217] використовували ендоміокардіальний шлях введення моноклеарів КМ у хворих на ІХС, що призводило до регресії стенокардії при гострому ІМ. Це супроводжувалося підвищенням ФВ та регіональної скоротливості ЛШ.

У 2005 році Kuethe F. опублікував аналіз позитивних результатів інтракоронарного введення МСК [257]. У дослідженні брали участь 5 хворих з ІМ $1,3 \pm 0,5$ року давності. Термін спостереження за хворими був 12 місяців. Методами оцінки ефективності клітинної терапії були: катетеризація ЛШ, ЕхоКГ, навантаження з добутаміном і кардіопульмонарне тестування. Через рік спостереження відзначалося значне поліпшення глобальної скоротливої функції ЛШ, зменшення зони рубця і підвищення толерантності до фізичного навантаження. Проте маленька вибірка, не може давати гарантовані результати.

Гурєєвим С. В. зі співавт. [57] оцінений результат виконання АКШ в поєднанні з трансплантацією аутологічних клітин КМ на 80 пацієнтах. В дослідженні було доведено зниження числа кардіальних і екстракардіальних ускладнень, а також поліпшення якості життя в порівнянні з групою пацієнтів, яким виконували тільки АКШ. Їм же було проведено клінічні дослідження застосування моноклеарних клітин КМ після подвійної активації спочатку *in vivo*, а потім *ex vivo* в процесі їх культивування при хронічній СН. Встановлено ефективність застосування інтраміокардіальної трансплантації активованих МСК при виконанні АКШ.

Закірьянов А. Р. зі співавт. [66] застосували аутологічну інтраміокардіальну трансплантацію МСК в поєднанні з АКШ у хворих на ІХС та цукровий діабет II типу. Доведене достовірне зниження інсулінорезистентності та поліпшення вуглеводного і ліпідного обміну, а також більш тривале функціонування шунтів.

У 2005 році А. Patel et al. [299] досліджували результати введення субепікардіально мононуклеарної фракції КМ під час операції коронарного шунтування без штучного кровообігу (off-pump). У дослідженні брали участь 20 пацієнтів з ішемічною кардіоміопатією (ФВ ЛШ менше 35 %). Тривалість спостереження склала 12 місяців. У групі контролю проводили лише АКШ в комбінації із сучасною терапією ХСН. Через 6 міс. після операції достовірне збільшення ФВ ЛШ з $29 \pm 3,6$ до $46,1 \pm 1,9$ % було відзначено в групі пацієнтів із поєднаним лікуванням (КШ + СК) в порівнянні з контрольною групою (з $30,7 \pm 2,5$ до $37,2 \pm 3,4$ %).

Chen Sh. et al. [190] підтвердили, що трансплантація змішаної культури клітин аутологічного кісткового мозку або мононуклеарної фракції КМ статистично значимо покращує функцію міокарда у хворих на ІХС.

Н. Dohmann [201] опублікував аналіз анатомопатологічних і морфологічних досліджень, проведених під час розтину тіла хворого з рефрактерною стенокардією і ХСН ішемічного типу, який помер через 11 місяців після трансендокардіальної клітинної кардіоміопластики. У місці ін'єкцій СК ознак ураження міокарда не виявлено, щільність капілярів на 1 см^3 тканини була вищою в місці введення. Також спостерігалася гіперплазія інтрамуральних клітин і адвентиції. Отже, в зоні застосування клітинної терапії був яскраво продемонстрований ефект ангиогенезу.

У 2006 D. Moscini et. al. [283] також показали безпеку введення СК під час операції АКШ у пацієнтів з гострим ІМ давністю від 4 тижнів до 6 місяців. Через 3 місяці після операції було відзначено значуще збільшення ФВ ЛШ на 5 % в порівнянні з контрольною групою (1 %).

У 2008 році Ang K. et al. [162] опублікували результати рандомізованого дослідження, де проводили порівняння інтракоронарного і інтраміокардіального методів введення СК КМ в поєднанні з хірургічною реваскуляризацією міокарда та ізольованого АКШ у хворих з великовогнищевим постінфарктним кардіосклерозом. Відповідно до методу лікування хворі були розділені на 3 групи. 20 осіб склали контрольну групу,

21 хворому було виконано АКШ в поєднанні з інтракоронарним введенням СК і 21 хворому – АКШ і інтраміокардіальне введення СК. За даними стрес-ЕхоКГ з добутамином через 6 місяців після операції не виявлено поліпшення скоротливості міокарда в області рубцово-зміненого міокарда ЛШ ні при інтракоронарному, ні при інтраміокардіальному методах введення СК у порівнянні з контрольною групою. Крім того, не було відзначено зменшення глибини і розміру зони рубцевої тканини, а також поліпшень загальної функції міокарда ЛШ.

Prapas S. et al. [304] показали безпеку і ефективність комплексного лікування хворих з ішемічною кардіоміопатією. Після АКШ без штучного кровообігу в поєднанні з об'ємредукуючою операцією (шляхом плікації передньоапикальної або задньобокової стінок ЛШ) і інтраміокардіальними ін'єкціями кістковомозкових СК, ФВ ЛШ збільшилася з $21,7 \pm 7,4$ до $30,6 \pm 6,9$, $36,5 \pm 4,5$, $37,7 \pm 4,2$ % через 3, 6 і 12 місяців відповідно.

Yoo K-J. et al. [358] опублікували дані про лікуванні 5 пацієнтів з ІМ терміном не більше 1 місяця, які мали трьохсудинне ураження коронарних артерій і нестабільну стенокардію. Мононуклеарну фракцію КМ вводили під час виконання АКШ без штучного кровообігу в нереваскуляризовані зони міокарда ЛШ з причини вираженого кальцинозу або дифузного ураження коронарної артерії. Було відмічено підвищення середньої ФВ ЛШ з 45,8 до 53,2 % через 2 міс після операції, а також поліпшення перфузії в зоні інфаркту.

Ахмедовим Ш. Д. зі співавт. [6] опублікували перший успішний клінічний досвід гібридних операцій з корекції функції мітрального клапана і зменшення об'єму лівого передсердя з використанням клітинних технологій. У хворих з дилатаційною кардіоміопатією відзначено зменшення процесів ремоделювання міокарда через 1 рік після операції, що дозволяє застосовувати даний метод у цієї категорії хворих.

Бокерія Л. А. та ін. [15] запропонували використовувати поєднання ТМЛР з трансплантацією аутологічних МСК кісткового мозку у хворих, які

потребують повторної реваскуляризації з дифузним ураженням коронарних артерій, тому що виконання ним повторного АКШ супроводжувалося досить високою летальністю та частотою ускладнень.

У 2010 році Rivas-Plata A. et al. [310] також показали збільшення ФВ ЛШ (з $26,4 \pm 4$ до $37,3 \pm 11,5$ %), а також поліпшення перфузії міокарда після АКШ і імплантації кістковомозкових СК у порівнянні з контрольною групою пацієнтів, які отримували тільки АКШ (з 29 ± 2 до $31,5 \pm 4,3$ %).

Буховец І. Л. і співавт. повідомили про трирічне спостереження за пацієнтами. У дослідження увійшли 66 пацієнтів з ІХС та постінфарктним кардіосклерозом. Було сформовано 2 групи: 1 група – 38 чоловіків у віці 46–64 років з ІХС, яким виконували АКШ в поєднанні з клітинною кардіоміопластиком, а саме – трансплантацією аутологічних СК КМ, у 2 групу – 28 чоловіків у віці 41–63 років, яким виконували тільки АКШ. У проспективне дослідження увійшло 40 пацієнтів після клітинної кардіоміопластики. Пацієнтам 1 і 2 груп до і після операції АКШ (у строки 3, 6, 12 місяців і 3 роки) проводилась ехокардіографія серця, однофотонна емісійна комп'ютерна томографія міокарда. Також виконувалася морфологічне дослідження біоптатів міокарда. Через 6 місяців після АКШ відзначений найбільший клінічний ефект. У більшості пацієнтів знизився функціональний клас стенокардії і недостатності кровообігу по NYHA. В обох групах встановлено статистично значуще поліпшення показників глобальної систолічної функції ЛШ і збільшення ФВ без суттєвих відмінностей між групами. Відзначено достовірне зменшення обсягу як стабільних, так і мінущих дефектів перфузії. Актуарна виживаність до третього року склала 80 % [24].

Hans-Micgael Klein опублікував роботу про використання АКШ разом з ЛМЛР і ін'єкцією АККМ, яке він виконував пацієнтам з ІХС і ФВ менше 35 %. Була продемонстрована висока ефективність методу комбінованої реваскуляризації, що дозволило автору рекомендувати її в лікуванні термінальної стадії СН, різних кардіоміопатій як підготовчий етап до

трансплантації серця в тій чи іншій комбінації (з або без АКШ) і нешунтабельних ситуаціях [229].

У 2011 році К. Anastasiadis et al. [160] запропонували новий гібридний підхід – введення СК КМ в міокард під час операції установки імплантуємого апарату для допоміжного кровообігу типу LVAD. Дана методика була виконана у 2 пацієнтів з тяжкою серцевою недостатністю. Через 12 місяців після операції відзначено зменшення класу СН, а також поліпшення перфузії тієї області ЛШ, куди було вироблено введення СК.

В цьому ж році Traverse J. H. [343] опублікували дані про ефективність використання інтракоронарного стентування і трансплантації клітин КМ при гострому ІМ в порівнянні з групою контролю. Через 6 місяців відзначено більш низькі показники кінцевого систолічного і діастолічного об'єму ЛШ, зменшення зони рубця після ІМ.

Отже, з вище наведених даних видно, що трансплантація МСК 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 ядромістячих клітин КМ. Неможливо з упевненістю стверджувати, чи є нефракціоновані СК КМ чи інші види СК, які використовуються в клінічних дослідженнях, оптимальним матеріалом для лікування хворих на різні форми ІХС. Неможливо оцінити повністю всі позитивні моменти застосування клітинної трансплантації, що вимагає подальшого дослідження.

Таким чином, існує потреба в розробці оптимальної комбінації лікування хворих на ІХС, яка ускладнена ішемічною дисфункцією міокарда, коли немає технічної можливості для первинної або повторної прямої реваскуляризації, яка дасть змогу збільшити віддалену виживаність, поліпшити ЯЖ і збільшити його тривалість.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Робота є експериментально-клінічним дослідженням і містить дані щодо розробки патогенетично обґрунтованого нового підходу до лікування хворих з рефрактерною стенокардією.

2.1. Матеріали і методи експериментальних досліджень

Експериментальна частина роботи виконувалася на 142 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. Порода Вістар-Кайота використовувалась нами завдяки тому, що вона є інбредною, що мінімізує реакцію відторгнення, враховуючи її генетичну однорідність.

Тварини утримувались у віварії в умовах 12-годинного світлового дня, кімнатної температури і доступу до води та їжі *at libitum* при температурі повітря +20–+22 °С, вологості не більше 50 %, в світловому режимі – доба-ніч. Використання тварин в експерименті проводилось відповідно з правилами, регламентованими «Європейською конвенцією по нагляду і захисту позвоночних тварин, які використовуються в експериментальних та інших научних цілях» (Страсбург, 1986), Директиви Ради Європейської Сопівдружності від 24.11.86 г. та розпорядження МОЗ України №32 від 22.02.88 р. Оперативні втручання виконували в умовах експериментальної операційної під кетаміновим наркозом (12,5мг/100 г маси тіла внутрішньом'язово).

Індукцію ІМ здійснювали за розробленою нами методикою в умовах загального знеболення. В положенні тварини на спині виконували стернотомію, перикардіотомію, після чого прошивали і перев'язували передню міжшлуночкову артерію. Стернотомну рану ушивали пошарово. Під

час операції температура тіла тварин підтримувалась на рівні $37,0 \pm 0,5$ °C за рахунок зовнішнього джерела тепла.

До експерименту залучали тільки тварин з трансмуральним ІМ, наявність якого підтверджували за даними ЕКГ та УЗД.

Слід зазначити, що 22-і тварини померли в перші години після моделювання патологічного стану в наслідок розвитку життєзагрожуючих аритмій.

Таким чином, експериментальне дослідження проводилася на 120 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) (рис. 2.1).

Тварин, що вижили і увійшли до дослідження, виводили з експерименту через 1, 6, 24 години, 7 і 30 діб після моделювання патологічного стану шляхом декапітації (в умовах загального знеболення).

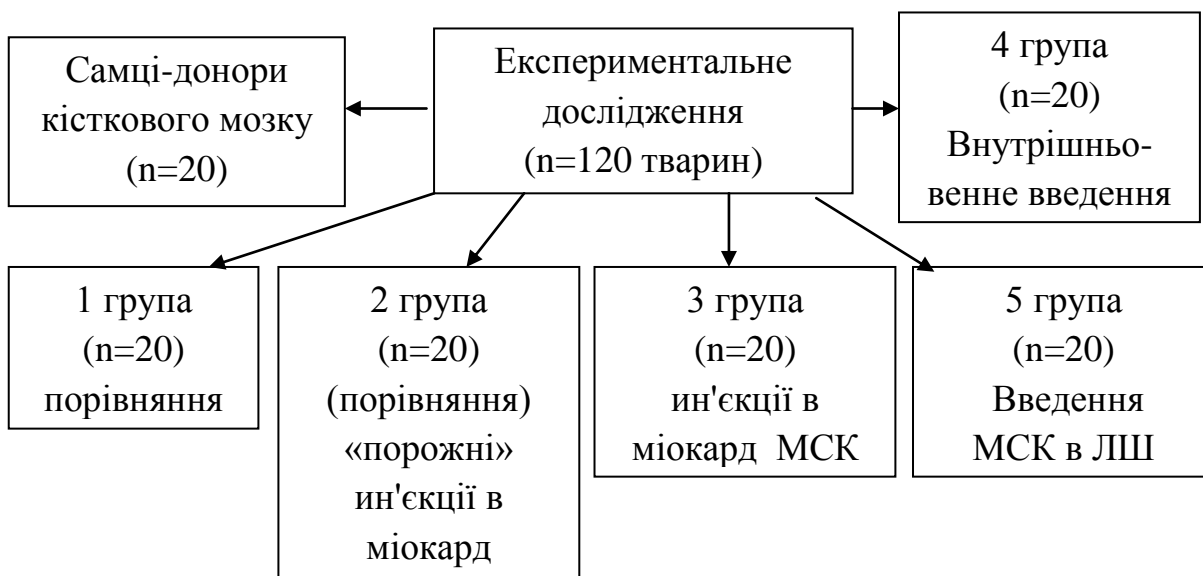


Рис. 2.1. Дизайн експериментальної частини дослідження.

Окрему групу становили 20 самців, яких ми використовували в якості донорів МСК задля подальшого дослідження по Y-хромосомі хоумінга клітин в організмі.

З п'яти дослідних груп: 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 МСК в дозі 10 млн. клітин, в 4-й групі МСК вводили внутришньовенно в такій же дозі шляхом пункції хвостової вени, в 5-й групі МСК вводили в порожнину ЛШ шляхом пункції і проведення катетера крізь праву стегнову артерію (таким чином намагалися створити максимальну концентрацію СК у гирлі коронарної судини та імітувати інтракоронарне введення).

МСК клітини отримували з кісткового мозку тварин (в кількості 0,5–1 мл) з додаванням 625 од/мл гепарина (Дарниця, Україна). Кров нашаровували на градієнт Histopaque-1077, щільність 1,077 г/мл, (Sigma, США) і центрифугували протягом 30 хв. при 1500 об/хв. Отримані мононуклеари збирали піпеткою і послідовно відмивали 3–4 рази в розчині Хенкса (Біолот, Росія) шляхом центрифугування при 1000 об./хв протягом 14 хв. Отриману таким чином мононуклеарну суспензію клітин кісткового мозку засівали на покриті колагеном культуральні флакони площею 75 см² (Corning-Costar, США) в концентрації $2-5 \times 10^6$ клітин на флакон.

Культивування МСК проводили в суміші живильних середовищ DMEM / F12, 1:1, (Sigma, США) з додаванням 10 % ембріональної телячої сироватки (Біолот, Росія), 0,75 мг/мл глютаміна (Інститут поліомієліту та вірусних енцефалітів, Росія), 2 нг/мл основного фактора росту фібробластів (Sigma, США) і по 100 од/мл пеніциліну і стрептоміцину (Дарниця, Україна) в CO₂-інкубаторі (Jouan, Франція) при 37 °C і 5 % атмосфері CO₂. Зміну середовища проводили кожні 3–4 добу 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 тріпсину/ЕДТА (Біолот, Росія) у співвідношенні 0,05:0,02 % в ФСБ, рН 7,4 (Sigma, США). Коефіцієнт пасирування становив 1: 2 або 1: 3. Після

чого клітини культивували в CO₂-інкубаторі при тих же умовах. В результаті даних маніпуляцій отримували некоммітировану клітинну культуру МСК.

В динаміці у лабораторних тварин вивчали маркери неоангіогенезу в сироватці крові.

Про вміст оксиду азоту (NO) в плазмі крові судили за кількістю стабільних кінцевих метаболітів NO, а саме – NO₂⁻ + NO₃⁻ (UNOX). Принцип методу полягає в одномоментному відновленні нітратів в нітрити в присутності VCl₃ і реакції діазотування утворився нітритом сульфаніламіда з розвитком рожевого забарвлення. За тиждень до визначення метаболітів NO тварин переводили на низьконітратну дієту, з виключенням інших зовнішніх джерел нітратів.

Концентрацію фактора росту ендотелію судин (VEGF) вимірювали на двохлазерному проточному флуоресцентному аналізаторі Luminex (Luminex Corporation, США) на основі наборів реагентів Simplex ProcartaPlex™ (Affymetrix, США). Діапазон визначуваних концентрацій для VEGF-A склав від 22,6 пг/мл до 23200,0 пг/мл. Аналіз виконували відповідно до інструкції, представленої фірмою-виробником реагентів. Всі детекторні антитіла в наборі перебували в вигляді концентрату. Суміш детекторних антитіл (1x) готували відповідно до таких розрахунками: 25 мкл суміші детекторних антитіл (1x) на одну лунку. Розраховували кінцевий обсяг (V_{fin}) необхідної суміші детекторних антитіл (1x). V_{fin}=3000 мкл (з урахуванням запасу на піпетування). У всі лунки планшета вносили суміш мікросфер з навантаженими на них антитілами об'ємом 50 мкл, далі планшет встановлювали в пристрій Hand- Held Magnetic для фіксації парамагнітних сфер, що дозволяло проводити відмивання мікросфер. У перший і другий стріпи вносили підготовлені калібратори (в дублях). В останні лунки вносили по 25 мкл буфера і 25 мкл досліджуваних зразків. Час інкубації становив 2 години при кімнатній температурі і постійному перемішуванні (500 оборотів в хв. в планшетному термостаті). Після триразового відмивання мікросфер

універсальним буфером від незв'язаних компонентів реакції в усі лунки додавали по 25 мкл детекторних антитіл.

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. Набір Endotelin (1-21) містить очищені поліклональні захоплюючі антитіла і моноклональні детектуючі антитіла, специфічні до ендотеліну. На першому етапі проба плазми і детектуючі антитіла одночасно вносилися до лунок. Ендотелін 1, що присутній у зразку плазми, зв'язується із захоплюючими антитілами і утворює сендвич – комплекс з детектуючими антитілами. Після промивання лунок і видалення неспецифічно зв'язаного матеріала в лунки додавали комплекс з піроксидази з антитілами, який дозволяє визначити зв'язані антитіла. Після видалення кон'югата, який не зв'язався, в лунки вносили ферментний субстрат – 3,3 –5,5 – Tetramethyl benzidine / Hydrogen Peroxide. По інтенсивності забарвлення, яке прямо пропорційне вмісту ендотеліна (1–21) в пробі плазми крові судили про рівень ендотеліна.

Терміни дослідження: через 1, 6, 24 год. після індукції патологічного стану і лікування, а також на 7 і 30 добу дослідження.

ПОЛ оцінювали за рівнями гаптоглобіна, церулоплазміна та ТБК-активованих продуктів.

Концентрацію гаптоглобіна (Hr) в сироватці крові визначали імунотурбідиметричним методом (реактиви SENTINEL CH, Італія).

Рівень церулоплазміна оцінювали модифікованим методом Равіна по здатності окислювати р-фенілендамін.

Вміст ТБК-продуктів (малоновий діальдегід (МД)) сироватці крові оцінювали по методу M. Mihara (1980). 0,2 мл плазми крові змішували з 2 мл 1,4 %-ої ортофосфорної кислоти та 1 мл 0,5 %-ої тіобарбітурової кислоти. Суміш інкубували на лазні 45хв, після чого охолоджували і додавали 2 мл н-бутанола. Зразки центрифугували при 4000 g на протязі 20 хв. Верхню фазу

фотометрували в порівнянні з контрольною пробою при 532–570 нм. Розрахунки проводили з коефіцієнтом екстинції $1,56 \times 10^5 \text{ см}^{-1} \text{ М}^{-1}$.

В якості маркерів метаболічної активності міокарда були обрані креатинінкіназа (МВ-КК), аспартатамінотрансфераза (АсТ), аденозіндезамінази (АДА), лактатдегідрогеназа (ЛДГ),

Активність ЛДГ визначали за допомогою набору для визначення пірувату (Hoffmann-La Roche Ltd., Швейцарія) на біохімічному аналізаторі А25 (BioSystems, Іспанія).

МВ-КК в сироватці крові визначали колориметричним методом з використанням креатинфосфата в якості субстрата при довжинах хвиль 334, 340, 365 нм).

Рівень АДА в еритроцитах проводили в два етапи. Спочатку виконували виділення еритроцитів з венозної крові за методикою Bouum (1980). Визначення активності АДА проводили спектрофотометричним методом по кількості аміака (азота), який вивільняється в процесі каталізуємих реакцій, активність виражали в нмоль/хв·мл в 1×10^9 клітин.

Рівні АсТ в сироватці крові визначали на біохімічному аналізаторі "Express Plus" (Ciba Corning, Велика Британія) відповідно до рекомендацій IFCC (Міжнародної федерації клінічної хімії).

УЗД серця проводили на апараті GE Vivid (США) за допомогою датчика 12 МГц. Терміни дослідження: 1 і 3 місяці експерименту.

ЕКГ 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 \times^{100} – \times^{400} із попереднім забарвленням гістологічних препаратів гематоксиліном та еозином з метою характеру змін у міокарді. Матеріал фіксували в 10 % нейтральному формаліні, після чого він підлягав спиртовій проводці та парафіновій заливці, виготовляли зрізи товщиною 5–6 мкм. Оглядові препарати, які забарвлені гематоксиліном та еозином, використовувалися для загальної оцінки стану тканин, що досліджувалися.

Забарвлення препаратів фукселіном на еластичні волокна за Вейгертом з дозбарвленням пікрофуксином за методом Ван Гізона, а також забарвлення за Маллорі використовувалися для виявлення та диференціювання сполучнотканинних структур.

Для оцінки морфометричних показників виконували гістохімічні методики за прописами, які наведені у вказівках з гістохімії. Для кількісного аналізу стану рубця ми проводили морфометричне дослідження. Оскільки при рубцюванні інфаркту міокарда відбувається зменшення його розміру, то в першу чергу визначали ступінь контракції вогнища ІМ. Для цього визначали зовнішній і внутрішній діаметри нормальної тканини міокарда, прикордонної з ділянкою інфаркту.

Таким чином, теоретично можливу площа міокарда в тотальному зрізі вираховували за формулою:

$$S = \pi (R_2 \text{ зовнішній} - r_2 \text{ внутрішній})$$

Імуногістохімічне дослідження проводили на парафінових зрізах, товщиною 5–6 мкм непрямим методом Кунса за методикою Brosnan (1979 р.). Цифрові дані оброблені методами варіаційної статистики.

2.2. Матеріали і методи клінічних досліджень

2.2.1. Дизайн дослідження і характеристика груп хворих

Для реалізації поставлених завдань проведено поздовжнє ретроспективне і проспективне обсерваційне дослідження з оцінки пропонованого комплексного підходу до лікування пацієнтів з рефрактерною стенокардією.

В основу клінічної частини дисертаційної роботи лягли результати обстеження, лікування та динамічного спостереження за 231 пацієнтом з РС, які перебували на стаціонарному лікуванні у відділенні невідкладної і відновної кардіохірургії Державної установи «Інститут невідкладної і відновної хірургії імені В. К. Гусака» НАМН України з 2007 до 2013 року и відділення кардіохірургії Державної установи «Інститут загальної та

невідкладної хірургії імені В. Т. Зайцева» НАМН України сумісно з фахівцями Інституту клітинної біореабілітації (директор – к.мед.н. Граматюк С. М.) з 2014 по 2018 рр. Дослідження виконувалися при дотриманні міжнародних правил біоетики, що пред'являються міжнародними організаціями та асоціаціями, протокол дослідження був схвалений локальним етичним комітетом (голова – професор А. А. Штутін) і відповідає Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації 2010 р. перегляду.

Критеріями включення в дослідження пацієнтів з ІХС були наступні:

- наявність у пацієнта рефрактерної стенокардії з важкими клінічними проявами і малою ефективністю медикаментозної терапії;
- неможливість реваскуляризації зони інфаркту (нешунтабельна і / або непридатна для транслюмінальної балонної ангіопластики коронарна артерія);
- вік пацієнта не більше 70 років;
- високий ризик виконання АКШ у зв'язку з низькою скоротливою функцією ЛШ;
- підписання пацієнтом інформованої згоди на участь у клінічному випробуванні.

Критеріями виключення з дослідження були наступні:

- захворювання кісткового мозку, які перешкоджають забору матеріалу і трансплантації (лімфома, мієлодиспластичний синдром та ін.);
- супутних онкопатологія;
- гострий інфаркт міокарда;
- Свіжий (менше 6 тижнів до початку дослідження) інсульт;
- наявність вказівок на діагностовані злоякісні новоутворення протягом останніх 5 років;
- виражена дисфункція нирок (сечовина крові >50 мг/дл, креатинін більше або дорівнює 2,5 мг/дл);

- виражена дисфункція печінки (АсТ, АлТ в 5 разів перевищують верхню межу норми);
- іммунокомпрометуючий статус;
- наявність активної інфекції будь-якого типу;
- важке легеневе захворювання;
- алкоголізм чи наркотичного залежність;
- відсутність згоди хворого на пропоновану програму обстеження та лікування.

Клінічне досліджування проводили в два етапи. На **першому етапі** дослідження на основі ретро- і проспективного аналізу результатів лікування 156 хворих вивчалася ефективність ремоделювання міокарда з використанням МСК у хворих на рефрактерну стенокардію. Згідно до завдань дослідження хворі були розподілені на дві групи. Групу порівняння склали 80 хворих, у яких в період з 2007 по 2010 р.р. використовувались традиційні схеми консервативного лікування. В основну групу увійшли 76 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.

Дизайн першого етапу дослідження подано на рис. 2.2.

Вік обстежених хворих становив у середньому $53,2 \pm 12,7$ (від 37 до 88 років). Співвідношення чоловіки / жінки становило 2,47:1. Розподіл хворих за статтю та віком подано в таблиці 2.1.

В обох групах переважали чоловіки: 58 (37,2 %) – в групі порівняння та 53 (34,1 %) – у основній групі (табл. 2.1). У віці до 60 років в групі порівняння було 40 хворих (35,6 %), в основній групі – 40 хворих (52,6 %), що вказує на соціальну значимість проблеми.

Діагноз РС був встановлений на підставі клінічної картини, даних анамнезу, результатів інвазивних і неінвазивних методів обстеження. За класифікацією NYHA (Нью-йоркської асоціації серця) всі пацієнти були

віднесені до II–IV функціонального класу хронічної серцевої недостатності (ХСН).

Таблиця 2.1

Розподіл хворих за статтю та віком (n=156)

Вік хворих, років	Група порівняння (n=80)				Основна група (n=76)			
	Стать							
	чоловіча		жіноча		чоловіча		жіноча	
	Кількість хворих							
	абс.	відн., %	абс.	відн., %	абс.	відн., %	абс.	відн., %
41–50	5	3,2	2	1,3	4	2,6	1	0,6
51–60	19	12,2	14	8,9	24	15,4	11	7,0
61–70	43	15,8	8	5,1	25	16,1	9	5,8
Усього:	58	37,2	24	15,3	53	34,1	21	13,4

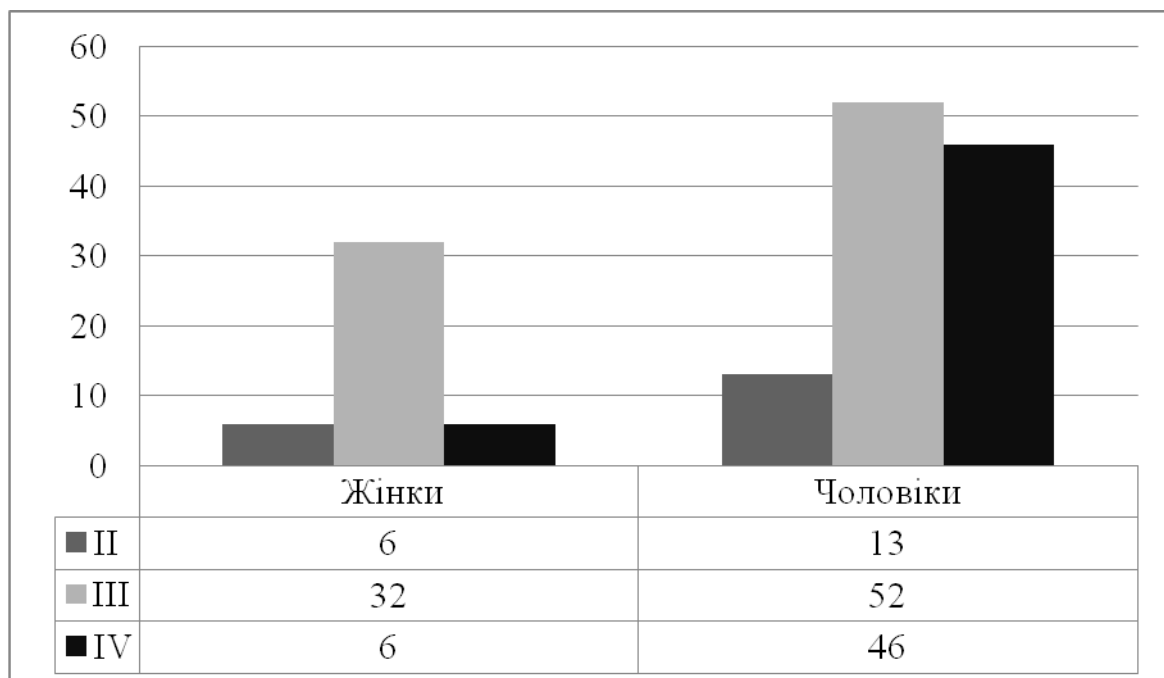


Рис. 2.1. Розподіл хворих з РС різної статі по ФК NYHA ХСН.



Рис. 2.2. Дизайн першого етапу клінічного дослідження

За функціональним класом (ФК) ССС (Канадська асоціація кардіологів) стенокардії, пацієнти розподілилися наступним чином (табл. 2.2).

Як свідчать наведенні в табл. 2.2 дані, велика частина (61,5 %) пацієнтів страждали стенокардією III ФК ССС.

З аналізу вихідного клінічного статусу пацієнтів обох груп слід, що кількість пацієнтів перенесли один ІМ було 46,1 % в основній групі і 52,5 % в групі порівняння, два і болем ІМ – 53,9 % і 47,5 % відповідно по групах. У хворих переважно був синусовий ритм, проте надшлуночкові екстрасистоли

спостерігалися у 27,6 % пацієнтів основної групи і у 32 % групи порівняння, шлуночкові екстрасистоли – у 25 і 22,5 % відповідно. Аневризматичне постінфарктне розширення ЛШ спостерігалось у 22,4 і 23,8 % пацієнтів (відповідно по групах).

Таблиця 2.2

Розподіл хворих з РС різної статі по ФК ССС стенокардії

Стать хворого	Всього	ФК стенокардії					
		II		III		IV	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%
Чоловіки	111	21	18,9	71	63,9	19	17,2
Жінки	45	15	33,3	25	55,5	5	11,1
<i>Всього</i>	156	36	23,1	96	61,5	24	15,4

Середня ФВ ЛШ у пацієнтів обох груп була нижчою за норму і становила в основній групі $29,4 \pm 6,3$ %, в групі порівняння – $30,5 \pm 6,6$ %. Середній час від останнього ІМ склало $3,2 \pm 1,4$ років (табл. 2.3). Відмінностей в досліджуваних параметрах в групах не було ($p > 0,05$).

Таблиця 2.3

Вихідний клінічний статус досліджуваних пацієнтів (n=156)

Показник	Групи	
	Основна (n=76)	Порівняння (n=80)
Один ІМ в анамнезі	35 (46,1 %)	42 (52,5 %)
Два і більше ІМ в анамнезі	41 (53,9 %)	38 (47,5 %)
Надшлуночкова екстрасистоля	21 (27,6 %)	26 (32,0 %)
Шлуночкова екстрасистоля	19 (25,0 %)	18 (22,5 %)
Аневризма ЛШ	17 (22,4 %)	19 (23,8 %)
Середня ФВ ЛЖ	$29,4 \pm 6,3$	$30,5 \pm 6,6$
Час від першого ІМ (роки)	$3,2 \pm 2,4$	$3,4 \pm 1,9$

Характер ураження коронарного русла у досліджуваних пацієнтів з РС представлені в таблиці 2.4, з якої видно, що в дослідження були включені переважно пацієнти з множинним ураженням серцевих артерій дистального типу, у більш ніж 50% пацієнтів відзначалося закриття шунтів і стентів, що відповідно пояснює важкий перебіг рефрактерної стенокардії у них. Найчастіше дивувалася ПМШВ і ПКА, а також ДВ. Дані, представлені в таблиці, демонструють мультифокальність ураження артерій. Відмінності в досліджуваних параметрах між групами не було ($p>0,05$).

Таблиця 2.4

Характер ураження коронарного русла (n=156)

Показник	Групи	
	Основна (n=76)	Порівняння (n=80)
Загальна кількуість уражених коронарних артерій (%)	45,9	46,7
Стовбур ЛКА (%)	87,2	88,8
ПМШВ (%)	88,8	89,6
ДВ (%)	55,6	53,4
ОВ (%)	32,1	33,6
ВТК (%)	13,7	14,2
ПКА (%)	75,6	76,3
Закриття шунтів і стентів (%)	63,9	65,7
Ураження дистального русла(%)	33,7	31,9

Відмінностей в досліджуваних показниках в різних групах не було ($p>0,05$).

Завданням **другого етапу** дослідження була оптимізація методики кардіоміопластики у пацієнтів з РС, відповідно до чого нами було сформовано 5 підгруп (по 15 осіб у кожній): 1 підгрупа – порівняння – пацієнти отримували тільки медикаментозну терапію; 2 підгрупа – плацебо

контроль (пацієнтам виконували порожні трансендокардіальні ін'єкції в міокард за допомогою електрофізіологічне навігаційної системи NOGA XR); 3 підгрупа – виконували системне внутрішньовенне введення аутологічних МСК в дозі 50 млн; 4 підгрупа – інтракоронарне введення аутологічних МСК в дозі 50 млн; 5 підгрупа – трансендокардіальне введення аутологічних МСК кісткового мозку в дозі 50 млн. Таким чином дизайн другого етапу дослідження виглядав наступним чином (рис. 2.3).

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

За класифікацією NYHA (Нью-Йоркської асоціації серця), всі пацієнти були віднесені до II–IV функціонального класу ХСН.

Найбільше число пацієнтів було з III ФК – 45, що склало 60 %, з IV ФК кількість хворих було 17 – 22,7 % і II ФК – 13 (17,3 %). Дана тенденція розподілу хворих по ФК спостерігалася і пацієнтів з різними підлогою, так чоловіків з III ФК було 41 (62,1 %), з IV ФК – 14 (21,2 %) і II ФК – 11 (16,7 %). Жінок з III ФК було 4 (44,4 %), з IV ФК – 3 (33,4 %) і II ФК – 2 (22,2 %).

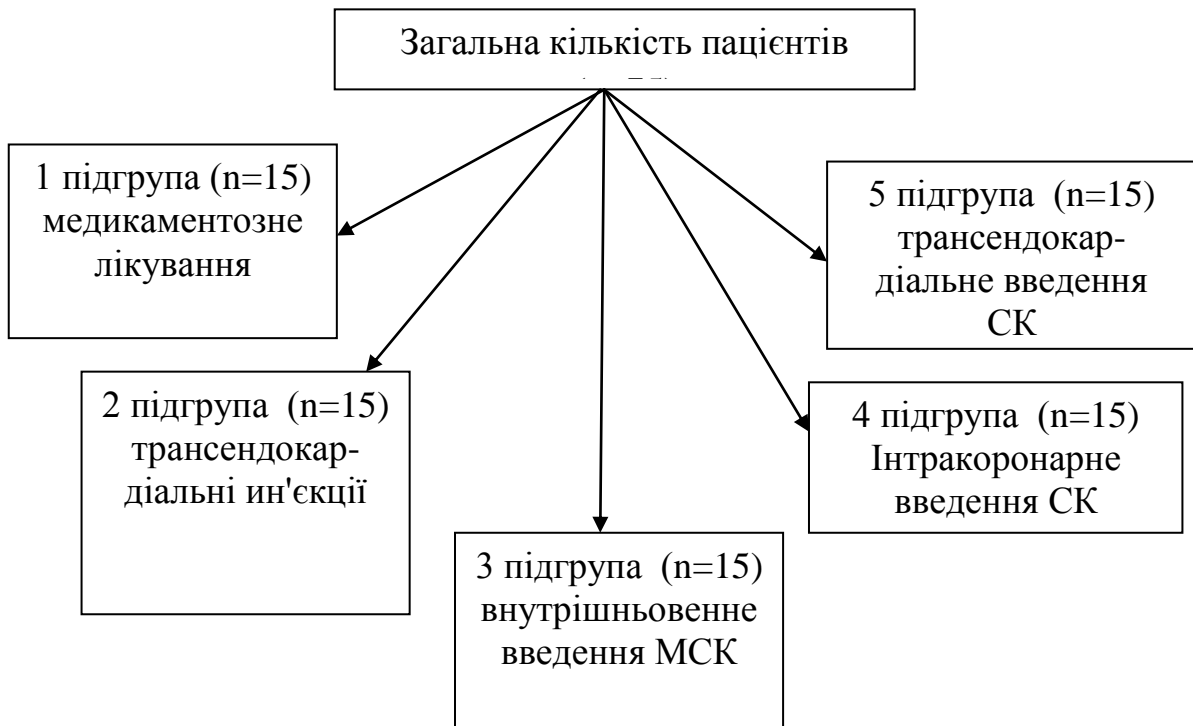


Рис. 2.3. Дизайн другого етапу клінічного дослідження.

За ФК стенокардії, пацієнти розподілилися наступним чином: найбільше число склали з III ФК – 47 (62,7 %), з II ФК – 15 (20 %) і IV ФК – 13 (17,3 %). Причому чоловіків з III ФК було 42, що склало 63,6 %, а з II і IV ФК було порівну по 12 (18,2 %). Серед жінок пацієнти з III ФК було 5 (55,6 %), з II ФК – 3 (33,3 %) і IV ФК – 1 (11,1%).

Вихідна клінічна характеристика хворих представлена в табл. 2.5. При аналізі досліджуваних параметрів, ми бачимо, що кількість пацієнтів перенесли один ІМ було від 33,3 до 53,3 %, два ІМ від 26,7 до 46,7 %. У хворих переважно був синусовий ритм, який був присутній від 86,7 до 100 % пацієнтів, надшлуночкові екстрасистоли спостерігалися від 20 до 33,3 %, шлуночкові екстрасистоли від 20 до 33,3 %. Аневризматичне постінфарктне розширення ЛШ спостерігалось від 20 до 26,7 %. Середня ФВ лівого шлуночка, була нижчою за норму і коливалася в межах $30,4 \pm 6,9$ %. Середній час від останнього ІМ склало $3,2 \pm 1,4$ років.

Таблиця 2.5

Вихідна клінічна характеристика пацієнтів з РС

Параметр		1		2		3		4		5 підгрупа	
		підгрупа	підгрупа	підгрупа	підгрупа	підгрупа	підгрупа	підгрупа	підгрупа	підгрупа	підгрупа
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Кількість ІМ	1	6	40	7	46,7	8	53,3	6	40	5	33,3
	2	4	26,7	3	20	4	26,7	5	33,3	7	46,7
Синусовий ритм		13	86,7	14	93,3	15	100	12	80	13	86,7
Надшлуночкові екстрасистоли		5	33,3	4	26,7	3	20	3	20	4	26,7
Шлуночкові екстрасистоли		3	20	5	33,3	3	20	4	26,7	3	20
Аневризма ЛШ		4	26,7	3	20	3	20	4	26,7	3	20

Примітка. Розбіжності в клінічних характеристиках досліджуваних груп недостовірні ($p > 0,05$).

Характер ураження коронарного русла у пацієнтів з РС представлені в таблиці 2.6, з якої ми бачимо, що це переважно пацієнти з множинним ураженням серцевих артерій, дистального типу, у більш ніж 50% пацієнтів відзначається закриття шунтів і стентів, що відповідно пояснює важкий перебіг рефрактерної стенокардії у них. Найчастіше дивувалася ПМЖВ і ПКА, а також ДВ. За досліджуваними показниками підгрупи були репрезентативними ($p>0,05$).

Таблиця 2.6

Характер ураження коронарного русла (n=75)

Показник	1 підгрупа	2 підгрупа	3 підгрупа	4 підгрупа	5 підгрупа
Загальна кількість уражених коронарних артерій (%)	45,9	46,3	46,7	47,5	48,4
Стовбур ЛКА (%)	4,7	4,5	4,8	4,7	4,3
ПМШВ(%)	89,6	87,2	88,8	89,1	91,3
ДВ(%)	55,6	51,9	53,4	54,6	57,1
ОВ(%)	33,6	32,1	33,2	33,2	30,4
ВТК(%)	14,2	13,7	15,4	14,2	11,9
ПКА(%)	75,6	77,1	78,4	76,3	73,9
Закриття шунтів і стентів(%)	66,4	63,9	65,7	66,2	67,9
Ураження дистального русла(%)	31,9	33,7	30,2	29,8	28,9

Таким чином, на обох етапах дослідження групи і підгрупи хворих були репрезентативними.

2.2.2. Інструментальні методи дослідження

Обстеження пацієнтів до і після введення ауто-МСК проводилося за наступним протоколу:

1. Стандартна ЕКГ
2. Тредміл – тест (Brace protocol)
3. 6-хвилинний тест з ходьбою
4. Холтерівське моніторування ЕКГ
5. Трансторакальна ЕхоКГ
6. Електромеханічне картування навігаційною системою NOGA XR.
7. Коронарографія, вентрикулографія

Електрокардіографічні методи. При реєстрації ЕКГ використовувалися 12 стандартних відведень. Запис ЕКГ проводилася за загальноприйнятою методикою. При аналізі ЕКГ-стрічок визначалися: ритм серцевої діяльності, положення електричної осі серця, максимальна тривалість сегмента Р, інтервалу PQ, оцінювали наявність патологічних Q зубців на ЕКГ, морфологію і тривалість QRS- комплексу та інтервалу ST-T, гіпертрофію лівого шлуночка (ознаки гіпертрофії лівих відділів серця оцінювалися за критеріями Соколова-Лайона). Визначали тривалість інтервалу QT. Проводилася оцінка атріовентрікулярної і внутрішньошлуночкової провідності.

Холтерівське моніторування ЕКГ. Моніторування ЕКГ проводили в природних для хворого умовах без обмеження фізичних навантажень. Суб'єктивні відчуття реєструвалися в формі щоденника. Запис розшифровувалась автоматично за допомогою комп'ютерного аналізу і далі під візуальним контролем.

Оцінювали добове коливання серцевого ритму (середня, максимальна і мінімальна частота ритму), частота і спектр порушень ритму серця, загальна кількість суправентрикулярних і шлуночкових екстрасистол, їх градація, рівень коливання ST-T сегмента щодо ізоелектричної лінії, наявність епізодів

пароксизмальної фібриляції передсердь або інших суправентрикулярних тахікардії, шлуночкових порушень ритму, порушення провідності.

Проба з фізичним навантаженням на тредмілі. ЕКГ тест з дозованим фізичним навантаженням має величезне значення для клінічної оцінки та лікування хворих із захворюваннями серця, особливо ІХС. Він також використовується в якості методу скринінгу у безсимптомних хворих і для функціональної оцінки здорових осіб, як метод вимірювання працездатності. Тредміл - бігова доріжка є методом дозованого ізотонічного (динамічного) фізичного навантаження. Пробу з фізичним навантаженням (тредміл тест) виконували на тлі повної антиангінальної терапії препаратів в ранкові години. Проводилася оцінка толерантності до фізичних навантажень, оцінювалася тривалість навантаження і наявність ЕКГ критеріїв ішемії. Методика стрес-тесту на тредмілі проводиться за протоколами Bruce за умов:

- навантаження повинно зростати поступово, кожна нова ступінь навантаження змінюється мінімум через 3 хв;
- симптоми (прекардіального болю і т.д.) і ознаки (артеріальний тиск (АТ), частота серцевих скорочень (ЧСС) і ЕКГ) повинні реєструватися протягом всього тесту, а також принаймні протягом 6–8 хв після його закінчення;
- навантаження не повинно різко перериватися.

Тест з 6-хвилинною ходьбою відповідний субмаксимальному навантаженню. Умови проведення даної проби - розмічений через 1 метр коридор, годинник з секундною стрілкою. Пацієнт повинен пройти по цьому коридору в прийнятно швидкому для нього темпі максимальну дистанцію за 6 хвилин (якщо пацієнт зупиниться для відпочинку, витрачений на це час включається в загальний залік). Дані досліджень свідчать про високу кореляційної зв'язку тесту з ФК СН і прогностичної значимості: пройдена дистанція <300 м відповідає несприятливого прогнозу.

Трансторакальну ехокардіографію (ЕхоКГ) виконували в горизонтальному положенні хворого на спині та/чи на лівому боці в другому-

четвертому міжребір'ях, в М- та В-режимах, а також у режимах імпульсно-хвильової та кольорової доплерографії за стандартною методикою на апаратах «Toshiba SSA-380A» (Японія), «Toshiba-Aplio» (Японія) з використанням секторальних датчиків з частотою випромінювання 2,5–5,0 МГц. Додатково проводилось картування деформації. Використовували загальноприйнятні позиції: апікальну 4-камерну, модифіковану апікальну 4-камерну, парастернальну позицію по довгій (PLAX) та короткій осі ЛШ (PSAX), парастернальну позицію вихідного тракту та субкостальні позиції, що забезпечували зображення для комплексної оцінки систолічної та діастолічної функції ЛШ, а також для оцінки систолічного тиску в правому шлуночку.

Оцінювали наступні показники стану систолічної функції міокарду: кінцевий діастолічний розмір (КДР) – максимальний розмір (у см) ЛШ у діастолу відповідно зубця R на ЕКГ; кінцевий систолічний розмір (КСР) – розмір порожнини ЛШ (у см) у систолу відповідно зубця T на ЕКГ, товщину задньої стінки ЛШ (см) в систолу та діастолу (ТЗСЛШс, ТЗСЛШд), товщину міжшлуночкової перетинки (МШП) (см) в систолу та діастолу (ТМШПс, ТМШПд), розмір кореня аорти (Ао) та ЛП (см).

Для подальшої роботи використовували наступні розрахунки показників функціонального стану міокарда, кардіальної та системної гемодинаміки, структурного стану міокарда та камер серця: – КДО і КСО розраховували за формулою L. E. Teicholz:

$$\text{КДО} = (7 \times \text{КДР}^3) / (2,4 + \text{КДР}),$$

де КДО – кінцевий діастолічний об'єм (мл); КДР – кінцевий діастолічний розмір (см).

$$\text{КСО} = (7 \times \text{КСР}^3) / (2,4 + \text{КСР}),$$

де КСО – кінцевий систолічний об'єм (мл); КСР – кінцевий систолічний розмір (см).

Індекс КДО та індекс КСО [92]:

$$\text{ІКДО} = \text{КДО} / S,$$

$$IKCO = KCO / S,$$

де S – площа поверхні тіла (m^2).

Індекс ЛП [136]:

$$I_{LP} = LP / S,$$

де S – площа поверхні тіла (m^2).

Площа поверхні тіла розраховувалась за формулою DuBois:

$$S_{body} = 0,20247 \times H_{0,725} \times W_{0,425},$$

де H – зріст в м; W – вага в кг.

Ударний об'єм крові (УО):

$$УО = КДО - КСО \text{ (мл)},$$

де КДО – кінцевий діастолічний об'єм; КСО – кінцевий систолічний об'єм.

Розрахунок об'єму та фракції викиду ЛШ проводили за модифікованим методом Симпсона. Ендокард шлуночку обкресливали вручну. Метод припускає наявність обертальної симетрії ЛШ. Таким чином, об'єм шлуночку можна вважати рівним сумі об'ємів циліндрів, які вписуються в обкреслену межу ендокарду.

Ударний індекс (УІ) [92]:

$$УІ = УО/S \text{ (мл/м}^2\text{)},$$

де УО – ударний об'єм; S – площа поверхні тіла.

Серцевий індекс (СІ) [92]:

$$СІ = УІ \times ЧСС \text{ (мл на с/см}^2\text{)},$$

де УІ – ударний індекс; ЧСС – частота серцевих скорочень.

Ступінь укорочення передньозаднього розміру ЛШ в систолу (ΔS) [92]:

$$\Delta S = [(КДР - КСР)/КДР] \times 100 \text{ (\%)};$$

де КДР – кінцевий діастолічний розмір; КСР – кінцевий систолічний розмір.

Ступінь потовщення задньої стінки ЛШ [92]:

$$\Delta TЗСЛШ = [(TЗСЛШс - TЗСЛШд / TЗСЛШд) \cdot 100\% \text{ (\%)}];$$

де ТЗСЛШс – товщина задньої стінки ЛШ в систолу; ТЗСЛШд – товщина задньої стінки ЛШ в діастолу.

Ступінь потовщення міжшлуночкової перетинки ЛШ [92]:

$$\Delta \text{ТМПЛШ} = [(\text{ТМПЛШс} - \text{ТМПЛШд} / \text{ТМПЛШд}) \cdot 100\% (\%);$$

де ТМПЛШс – товщина міжшлуночкової перетинки ЛШ в систолу; ТМПЛШд – товщина міжшлуночкової перетинки ЛШ в діастолу.

Індекс асиметричності гіпертрофії (ІА) [Денисюк, Іванов]:

$$\text{ІА} = \text{ТМПЛШд} / \text{ТЗСЛШд},$$

де ТМПЛШд – товщина міжшлуночкової перетинки ЛШ в діастолу; ТЗСЛШд – товщина задньої стінки ЛШ в діастолу.

Індекс систолічної напруги (ІСН) (Індекс М. Quinens'a) [92]:

$$\text{ІСН} = (\text{КСР} + \text{КДР}) \times \text{АТс} / (\text{ТЗСЛШс} + \text{ТЗСЛШд} + \text{ТМПЛШс} + \text{ТМПЛШд}),$$

де АТс – середній артеріальний тиск; $\text{АТс} = 0,42\text{ПАТ} + \text{ДАТ}$, ПАТ – пульсовий тиск, ДАТ – діастолічний тиск; КСР – кінцевий систолічний розмір; КДР – кінцевий діастолічний розмір; ТЗСЛШс – товщина задньої стінки лівого шлуночка у систолу; ТЗСЛШд – товщина задньої стінки лівого шлуночка у діастолу; ТМПЛШс – товщина міжшлуночкової перетинки у систолу.

Масу міокарда ЛШ (ММ) визначали за класичною формулою сфероїду [136]:

$$M_{\text{пл}} = 1,05 \times \left\{ \left[\frac{5}{6} A_1 (a + d + t) \right] - \left[\frac{5}{6} A_2 (a + d) \right] \right\}$$

$$M_{\text{ел}} = 1,05\pi \left\{ (b + t)^2 \times \left[\frac{2}{3} (a + t) + d - \frac{d^3}{3(a + t)^2} \right] - b^2 \times \left[\frac{2}{3} a + d - \frac{d^3}{3a^2} \right] \right\}$$

де $M_{\text{пл}}$ – маса ЛШ за методом площа-довжина (гр.); $M_{\text{ел}}$ – маса ЛШ за формулою усіченого еліпсоїду (гр.); A_1 – загальна площа ЛШ, виміряна у парастернальній позиції по короткій вісі на рівні папілярних м'язів (см²); A_2 – площа порожнини ЛШ, виміряна у тій самій проекції (см²); a – велика напіввісь від малої напіввісі до верхівки (см); d – усічена велика напіввісь від

малої напіввісі до площини мітрального кільця (см); b – розрахунковий радіус за короткою віссю, t – розрахункова середня товщина стінки.

Селективна коронарографія. Всім пацієнтам до операції виконували селективну коронарографію на ангиографічних установках «Angioscop D» фірми Siemens (Німеччина) і «Integris - 3000» фірми Phillips (Голландія) під місцевою анестезією (20 мл 0,5 % розчину новокаїну) за методом M. Jadcins з введенням катетера шляхом черезшкірної пункції стегнової артерії по S. Seldinger. Як контрастної речовини застосовували «Омніпак». Гемодинамічно значущими стенозами вважали звуження коронарної артерії більше 50 %.

2.2.3. Лабораторні методи дослідження

Лабораторне обстеження, поряд із загальноклінічними, біохімічними методами і дослідженням згортуючої системи крові включало *серійне визначення активності ферменту креатінфосфокінази (КФК) і його MB – фракції в сироватці крові* в ранньому післяопераційному періоді. Причому враховувалося як абсолютне-значення ферментів в ОД/л, так і процентне підвищення ізоферменту MB від загальної активності КФК. Брався до уваги і розрахунок сумарного викиду як загальної КФК, так і її ізоформи. Забір крові на КФК MB проводився у хворих після операції в динаміці шестикратно з інтервалом 3 години. Проби крові брали з вени на протязі 16–24 годин. Якщо активність MB КФК до цього часу не мала тенденції до зростання, то забір крові продовжували до тих пір, поки показники не знижувалися до величин, близьких до норми. Активність КФК і КФК MB визначали на біохімічних автоматичних аналізаторах COBAS 3000 + (Німеччина).

Визначення вмісту малонового діальдегіда (МД). Принцип використовуваного методу полягає в тому, що при високій температурі в кислому середовищі малоновий діальдегід реагує з тіобарбітуровою кислотою (2-ТБК), утворюючи забарвлений тріметіловий комплекс з максимумом поглинання при 532 нм. Для проведення аналізу 1 мл

біологічної проби поміщали в центрифужні пробірки і брали в облогу баластні білки додаванням 0,4 мл 17 % розчину трихлороцтової кислоти з кінцевою концентрацією 5%. Утворений осад відокремлювали центрифугуванням протягом 10 хвилин при 4000 об/хв на центрифусі типу Т 62. Надосадову рідину по 1 мл кількісно переносили в пробірки, додавали по 0,5 мл 0,8% водного розчину тіобарбітурової кислоти і поміщали проби на 10 хвилин в киплячу водяну баню. В якості контролю використовували проби, що містять замість надосадової рідини 0,05 М трис-НСІ буфер (рН 7,8).

Кількість МДА розраховували за формулою (Сталева І.Д., 1977):

$$\text{МДА} = D \times V_{\Gamma} / l \times m \times V_{\Pi} \times \epsilon$$

де V_{Γ} – об'єм гомогената, мл; D – оптична щільність, відн. Од.; L – довжина оптичного шляху, см; M – маса навіски, г; ϵ – коефіцієнт молярної екстинції, дорівнює $1,36 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$; V_{Π} – об'єм проби, мл.

Визначення вмісту дієнових кон'югатів (ДК) Принцип методу визначення продуктів ПОЛ полягає в наступному: в ході ПОЛ на стадії утворення вільних радикалів в молекулах поліненасичених жирних кислот виникає система сполучених подвійних зв'язків, що супроводжується появою максимуму в спектрі поглинання при 233 нм. В ході проведення аналізу 0,25 мл гомогенату суспендованих протягом 15 хвилин в гомогенізаторі Поттера з 9 мл екстрагуючої суміші гептан-ізопропанол в об'ємному співвідношенні 1:1. Отриману суспензію кількісно переносили в поліетиленові щільно закриті пробірки з метою уникнення випаровування. Пробі центрифугували 10 хвилин при 4000g на центрифусі типу Т-62. Надосадову рідину переносили в градуйовані пробірки і додавали 1/10 обсягу дистильованої води. Після 2-х кратного струшування і розшарування фаз відбирали гептанова фазу. До рівним обсягами додавали по 0,5 мл етанолу в об'ємному співвідношенні 1: 5 – 1:10. Оптичну щільність проб вимірювали на спектрофотометрі СФ-56 при 233 нм. В якості контролю використовували проби 0,05 М трис-НСІ буфера (рН 7,8).

Вміст дієнових кон'югатів в пробі розраховували за такою формулою (Сталева І.Д., 1977):

$$DK = D \times V_{\Gamma} / l \times m \times V_{\Pi} \times \epsilon$$

де V_{Γ} – об'єм гомогената, мл; D – оптична щільність, відн. Од.; l – довжина оптичного шляху, см; M – маса навіски, г; ϵ – коефіцієнт молярної екстинції на хвилі 233 нм, дорівнює $2,2 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$; V_{Π} – об'єм проби, мл

Вимірювання *концентрації лактата* в сироватці крові проводили на біохімічному аналізаторі A25 BioSystems (Іспанія) з використанням фірмового набору Hospitecs Diagnostics.

Активність лактатдегідрогенази (ЛДГ) визначали за допомогою набору Hoffmann-La Roche Ltd., Швейцарія на біохімічному аналізаторі A25 (BioSystems, Іспанія).

Визначення *активності каталази* проводили спектрофотометричним методом при довжині хвилі 410 нм. Метод базується на властивості H_2O_2 утворювати стійкий забарвлений комплекс з молібдатом амонія, який поглинається при 410 нм. Вимір активності каталази проводили спектрофотометричним методом при довжині хвилі 410 нм.

Метод визначення концентрації *відновленого глутатіона* заснований на властивості 5,5-дітіо-біс-(2-нітробензойної) кислоти (реактив Еллмана) реагувати з сульфгідрильною групою GSH з утворенням в еквімолярних кількостях тіонітрофенільного аніона, який має максимум поглинання при 412 нм.

Визначення рівня *мозкового натрій-уретичного пептиду (BNP)* та його попередника (NT-proBNP) в сироватці крові проводили методом імуноферментного аналізу (ІФА) за допомогою набору реактивів "BCM Diagnostics" (США). Отримані результати трактували відповідно до останніх Європейських рекомендацій (2016): ймовірний діагноз СН відповідав рівню NT-proBNP більше 400 пг/мл та рівню BNP більше 2000 пг/мл.

Біохімічні показники плазми, що включали глюкозу крові, холестерин, тригліцериди, ліпопротеїни низької щільності (ЛПНЩ), ліпопротеїни дуже

низької щільності (ЛПДНЩ), ліпопротеїни високої щільності (ЛПВЩ), а також сечовину, креатинін, залишковий азот, аланінамінотрансферазу (АлТ) й аспаратамінотрансферазу (АсТ), визначали на автоматичному біохімічному аналізаторі.

Методика визначення *церулоплазміну* зоснована на вимірі імунопреципітації при 340 нм. У зразки з буферним розчином додавали збиток специфічної сироватки. Збільшення поглинання світла в наслідок імунопреципітації регистриували колт реакція досягала кінцевої точки. Зміну світлопоглинання пропорційні кількості церулоплазміна в розчині.

Рівень *якості життя* (ЯЖ) пацієнтів оцінювали за Міннесотським опитувачем якості життя хворих з ХСН. Загальноприйнятим стандартним підходом при аналізі результатів заповнення анкети було визначення загальної суми балів (табл. 2.7).

Таблиця 2.7

Міннесотський опитувач якості життя у хворих з хронічною серцевою недостатністю

<p>Цей опитувач призначений для оцінки того, як серцева недостатність обмежувала ваші можливості в цьому місяці.</p> <p>Якщо ви впевнені, що цього симптому у вас немає, або він не спричинив істотного впливу на ваше життя цього місяця, обведіть знак "0" (Ні). Якщо ж вказаний симптом є і заважає вам жити так, як ви б хотіли, обведіть цифри від 1 до 5 відповідно до тяжкості симптому.</p>						
<p><i>Хронічна серцева недостатність не дозволяла вам жити в цьому місяці так, як ви хочете, в зв'язку з:</i></p>						
набряклістю стоп, гомілок і т. д.?	0	1	2	3	4	5
необхідністю відпочивати сидячи або лежачи впродовж дня?	0	1	2	3	4	5
труднощів при ходьбі або при підйомі по сходах	0	1	2	3	4	5
обмежень під час роботи по будинку або на дачній ділянці?	0	1	2	3	4	5
неможливості далеких поїздок?	0	1	2	3	4	5
порушення повноцінного сну в нічний час?	0	1	2	3	4	5
труднощів у взаємовідносинах з членами родини або друзями?	0	1	2	3	4	5

Продовження таблиці 2.7.						
обмеженою можливістю заробляти на життя?	0	1	2	3	4	5
неможливістю повноцінного активного відпочинку та зайняття спортом?	0	1	2	3	4	5
неможливістю повноцінного статевого життя?	0	1	2	3	4	5
дотриманням дієти, що обмежує кількість та різноманітність продуктів, що вживаються?	0	1	2	3	4	5
відчуттям нестачі повітря?	0	1	2	3	4	5
відчуттям втоми, стомлення, відсутності енергії?	0	1	2	3	4	5
необхідністю періодично знаходитися в лікарні?	0	1	2	3	4	5
витрат на ліки?	0	1	2	3	4	5
побічної дії ліків?	0	1	2	3	4	5
відчуттям, що ви є тягарем для сім'ї?	0	1	2	3	4	5
відчуттям безпорадності?	0	1	2	3	4	5
відчуттям занепокоєння?	0	1	2	3	4	5
нездатністю сконцентруватися та погіршенням пам'яті?	0	1	2	3	4	5
депресією?	0	1	2	3	4	5

Аналіз результатів проводився за принципом: 0 балів – відмінна якість життя, 105 балів – максимально погана якість.

Опитувальник якості життя SF-36 є неспецифічним та відображає загальне благополуччя і ступінь задоволеності тими сторонами життєдіяльності людини, які впливають на стан здоров'я. Показники кожної шкали складені таким чином, що вищі значення показника (від 0 до 100) означають кращу оцінку за обраною шкалою. З них формували два параметри: психологічний і фізичний компоненти здоров'я.

1. Складові шкали фізичного компоненту здоров'я (Physical health – PH):

- фізичне функціонування – PF (Physical Functioning);

- рольове функціонування, обумовлене фізичним станом – RP (Role-Physical Functioning);
 - інтенсивність болю – BP (Bodily pain);
 - загальний стан здоров'я – GH (General Health).
2. Складові шкали психологічного компоненту здоров'я (Mental Health – MH):
- психічне здоров'я – MH (Mental Health);
 - рольове функціонування, обумовлене емоційним станом – RE (Role-Emotional);
 - соціальне функціонування SF (Social Functioning);
 - життєва активність VT (Vitality).

Крім того, у хворих оцінювали наявність ускладнень і летальність в ранньому і пізньому пост трансплантаційному періоді.

2.3. Отримання некомітованих аутологічних МСК

Експлантацію КМ проводили в асептичних умовах з грудини (sternum) або з гребеня клубової кістки (crista iliaca) в кількості 20-40 мл з додаванням 625 од/мл гепарину (Дарниця, Україна). Аспірат КМ нашаровується на градієнт Histopaque-1077, щільність 1,077 г/мл, (Sigma, США) і центрифугували протягом 30 хв. при 1500 об/хв. Отримані моонуклеари збирали піпеткою і послідовно відмивали 3–4 рази в розчині Хенкса (Біолот, Росія) шляхом центрифугування при 1000 об/хв протягом 14 хв. Отриману таким чином моонуклеарного суспензію клітин кісткового мозку засівали на покриті колагеном культуральні флакони площею 75 см² (Corning-Costar, США) в концентрації $2-5 \times 10^6$ клітин на флакон.

Культивування МСК проводили в суміші живильне середовище DMEM / F12, 1: 1, (Sigma, США) з додаванням 10 % ембріональної телячої сироватки (Біолот, Росія), 0,75 мг/мл глютаміна (Інститут поліомієліту та вірусних енцефалітів, Росія), 2 нг/мл основного фактора росту фібробластів (Sigma,

США) і по 100 од/мл пеніциліну і стрептоміцину (Дарниця, Україна), в CO₂-інкубаторі (Joan, Франція) при 37 °С і 5 % атмосфері CO₂. Зміну середовища проводили кожні 3–4 добу 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.

Пасивування, 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 пасивування становив 1:2 або 1:3. Після чого клітини культивували в CO₂-інкубаторі при тих же умовах. В результаті даних маніпуляцій отримували некомміовану клітинну культуру МСК.

Діагностика клітинного матеріала

Перед доставкою клітинного матеріала в операційну проводили дослідження його якості і кількості. На початку готували камеру Горяєва, для чого до неї притирали чисте і сухе покрівне скло. Краплю суспензії клітин, зазделегідь розведену в 20–40 разів 2 % розчином оцетової кислоти в фізіологічному розчині підносили до шліфованого краю покрівного скла і заповнювали камеру повністю і без пухерів. Клітинам давали змогу осісти на протязі 1–2 хв, потім перераховували в 100 великих квадратах. Результати підрахунку у великих квадратах сумували і приносили обчислення кількості клітин в 1 мкл.

Вітальне фарбування з трепановим синім полягала в наступному: до 10–20 мкл клітинної суспензії додавали 1/10 об'єма 5 % розчину трипанового синього у фізіологічному розчині. Вносили зафарбовану клітинну суспензію в підготовлену камеру Горяєва, підраховували відсоток негативних (тобто живих, не зафарбованих в синій колір) клітин в 100 великих квадратах.

Для визначення клітинного складу використовували метод імунофлюоресцентної мікроскопії. Усі маніпуляції з антитілами проводили

згідно з рекомендаціям виробника. Для визначення клітинного складу в камеру Горяєва вносили суспензію клітин, кон'югованих з флюоресцентно-міченими антитілами, підраховуючи відсоток позитивних клітин в 100 великих квадратах з використанням мікроскопа дослідного класу Imager M2 («Zeiss», ГНімеччина) з джерелом флюоресценції і цифровою фотокамерою AxioCam HRC для реєстрації результатів.

2.4. Методика електромеханічного картування на навігаційній системі NOGA XR

Після письмової згоди пацієнтам виконували катетерного електромеханічне картування лівого шлуночка серця. Для операцій застосовували навігаційну систему нефлюороскопічного контролю Noga XR (Biosense Webster, США), електрофізіологічних лабораторію Prucka Engineering з програмою Cardiolab 6,5 (GE, США), рентгентелевізійну установку ОЕС 9800 Plus (GE, США).

Після премедикації розчином сібазона 0,5 % 2 мл внутрішньовенно під місцевою анестезією за методикою Сельдингера стандартно пунктували *v.subclavia sinistra* або *v.jugularis interna dextra* і *a.femoralis dextra*. Через систему верхньої порожнистої вени встановлювали інтродьюсер розміром 6F для моніторингу центрального венозного тиску. Трансаортально через стегнову артерію шляхом пункції за методикою Сельдингера в лівий шлуночок вводився катетер для картування Nogastar (Biosense Webster, США).

За допомогою цього катетера виконували електроанатомічну об'ємну реконструкцію лівого шлуночка з відтворенням його геометрії і послідовності електричної активації останнього. Відображалися також анатомічні структури: фіброзні кільця мітрального і аортального клапанів (за типовою ЕКГ і рентгенівськими орієнтирами), місце реєстрації потенціалу пучка Гіса в зоні міжшлуночкової перегородки. 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 ЛШ, оцінювали локалізацію провідною системи, орієнтовно – наявність рубців. Геометрію ЛШ 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) карти. Аналіз електричної і механічної активності ЛШ 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 гібернірованого міокарда). Саме вони є мішенню для клітинної терапії.

Після завершення процесу картування ЛШ катетер для картування замінювали на катетер Myostar (Biosense Webster, США), призначений для трансендокардіального введення активних субстанцій. Виконувалися ін'єкції аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин (8–10 ін'єкцій) в міокард на глибину, яка дорівнює половині товщини стінки, визначеної за допомогою трансторакальної ЕхоКГ напередодні.

До цього, за 3–4 тижні до процедури виконували забір кісткового мозку з крила клубової кістки, культивували мезенхімальні клітини в кількості 50 000 000. Обсяг кожної ін'єкції становив 0,2 мл. Уникали ін'єкцій в зоні провідною системи серця і верхівки для запобігання таких ускладнень як блокада лівої ніжки пучка Гіса і перфорація лівого шлуночка відповідно (рис. 2.4–2.5).



Рис. 2.4. Катетери для картування і ін'єкцій за допомогою навігаційної системи NOGA XR.



Рис. 2.5. Робота на навігаційній системі Noga XR.

2.5. Статистичні методи дослідження

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 порівнянних груп застосовували методи варіаційної статистики з використанням t-критерій Стюдента 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.

Основні положення розділу 2 опубліковані в роботах автора:

1. **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.

2. **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.

3. Гринь В. К., **Эстрин С. И.**, Попандопуло А. Г., Кравченко Т. В., Денисова Е. М., Сергиенко Н. В. Лечение рефрактерной стенокардии с использованием аутологических 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.

РОЗДІЛ 3

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ МЕТОДИК КЛІТИННОЇ КАРДІОМІОПЛАСТИКИ

3.1. Вплив МСК на ефективність ангиогенезу і стан судинного тону

Відомо, що основним активатором ангиогенезу при фізіологічних і патологічних станах є недостача кисню (гіпоксія або ішемія), який через активатор транскрипції факторів ангиогенезу – індукований гіпоксією фактор-1 (HIF-1), індукує експресію багатьох ангиогенних факторів, перш за все, основного регулятора – VEGF і його рецепторів. Ми зробили припущення, що відновлення кровотоку в ішемізованій тканини за допомогою трансплантації МСК обумовлено декількома механізмами. По-перше, МСК секретують ангиогенні фактори росту, включаючи VEGF, і основний фактор росту фібробластів (bFGF), які сприяють міграції і проліферації ендотеліальних клітин і їх попередників, а також формуванню нових судин. VEGF вибірково стимулює проліферацію та міграцію ендотеліальних клітин (ЕК), їх попередників і моноцитів, що експресують рецептори до нього, збільшує судинну проникність, сприяючи пропотіванню білків плазми в навколосудинний простір, що необхідно для міграції ЕК. VEGF також прискорює експресію ендотеліальної NO-синтази та утворення NO, що сприяє вазодилатації і стимулює експресію протеаз, які руйнують зв'язок між ЕК та позаклітинним матриксом, що необхідно для спрямованої міграції клітин. По-друге, МСК можуть диференціюватися в гладкомязові клітини та ендотеліальні клітини судин, що ростуть, а також стабілізувати їх, виконуючи функцію перицитів.

В результаті експериментального дослідження в динаміці протягом 1 місяця рівнів вазоконстриктора ендотеліну 1, вазоділататора оксиду азоту та ендотеліального фактора росту судин після моделювання ІМ, нами була

визначена загальна закономірність для всіх трьох показників: вони досягали максимального значення до 1 доби після моделюванні ІМ у щурів (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Динаміка концентрації маркерів ангіогенеза в сироватці крові крис

Показник	Контрольні значення	Терміни дослідження					Групи тварин
		1 год	6 год	24 год	7 діб	30 діб	
NO (мкг/мл) (n=20)	0,58±0,03	0,86±0,04 ***	0,92±0,03	1,12±0,05 ***	0,99±0,04*	0,88±0,03 *	1
		0,89±0,05 ***	1,04±0,04 *	1,26±0,03 ***	1,24±0,04	0,96±0,05 ***	2
VEGF (пг/мл) (n=20)	66,98±12,47	70,21± 11,36	126,72± 24,05*	220,45± 22,13*	134,89± 25,24	89,74± 21,38	1
		71,42± 13,45	134,86± 28,11*	288,22± 23,46***	189,57± 28,47*	132,74± 19,87	2
Ендоте- лін 1 (моль/мл) (n=20)	5,1±0,4	10,6±0,7 ***	12,8±0,5 *	12,9±0,4	8,8±0,3 ***	5,3±0,4 ***	1
		10,4±0,5 ***	12,8±0,6 **	9,1±0,3 ***	6,9±0,4 ***	5,1±0,2 ***	2

Примітка. При порівнянні з попереднім показником: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$; I – група ІМ без лікування; II – ІМ+в/в трансплантація МСК.

За результатами, що представлені в таблиці 3.1, через 1 годину після моделювання ІМ концентрація NO зростала з (0,58±0,03) до (0,86±0,04) мкг/мл, подібні зміни спостерігалися і в групі ІМ + трансплантація МСК (рис. 3.1). В подальшому через 6 годин у групі з ІМ вміст NO зростав до (0,92±0,03) мкг/мл, та досягав максимального значення до кінця 1 доби і становив (1,12±0,05) мкг/мл. На 7 добу після моделювання ІМ рівень NO знижувався і ця тенденція зберігалася до кінця дослідження, коли рівень

вазоділататора досягав $(0,88 \pm 0,03)$ мкг/мл, що достовірно ($p < 0,05$) перевищувало нормальні значення. У групі ІМ з трансплантацією МСК максимальні показники концентрації NO, ми спостерігали у 1-у добу та становив $(1,26 \pm 0,03)$ мкг/мл. Надалі концентрація оксиду азоту продовжувала поступово знижуватися. Через 1 місяць після моделювання ІМ 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 ІМ з внутрішньовенною трансплантацією МСК була достовірно вище, ніж в групі ІМ без лікування ($t=4,42$; $p < 0,001$). До кінця експерименту показники двох груп статистично не відрізнялися.

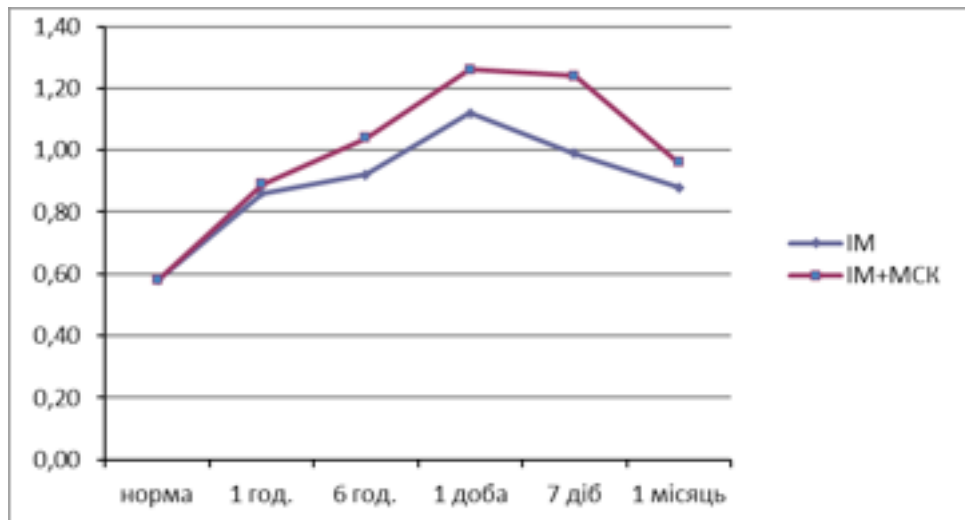


Рис. 3.1. Динаміка концентрації оксиду азоту (мкг/мл) в різні терміни експерименту.

Отримані результати свідчать про підвищення виробітки оксиду азоту протягом перших семи діб після трансплантації МСК, що сприяє вазодилатації в гострому постінфарктному періоді.

Нами було вивчено динаміку концентрації вазоконстриктора ендотеліну-1 в групі тварин з ІМ, так в ході експерименту встановлено його дворазове збільшення в порівнянні з нормою ($10,6 \pm 0,7$ моль/мл). Вміст ендотеліну-1 зберігався на високому рівні до кінця 7-ї доби (рис. 3.2).

Максимального значення, що дорівнював ($12,9 \pm 0,4$ моль/мл), даний показник досягав до 1-ї доби, а до кінця експерименту повертався до меж норми. У групі ІМ з внутрішньовенною трансплантацією МСК після моделювання ІМ, ми спостерігали схожу динаміку зростання рівня ендотеліну-1 ($10,4 \pm 0,5$) моль/мл з 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 місяця спостереження не відрізнявся від показників здорових тварин. Слід зазначити, що починаючи з 1-ї доби концентрація ендотеліну 1 була значно нижче в групі тварин з ІМ та внутрішньовенною трансплантацією МСК у порівнянні з тваринами з ІМ без лікування.

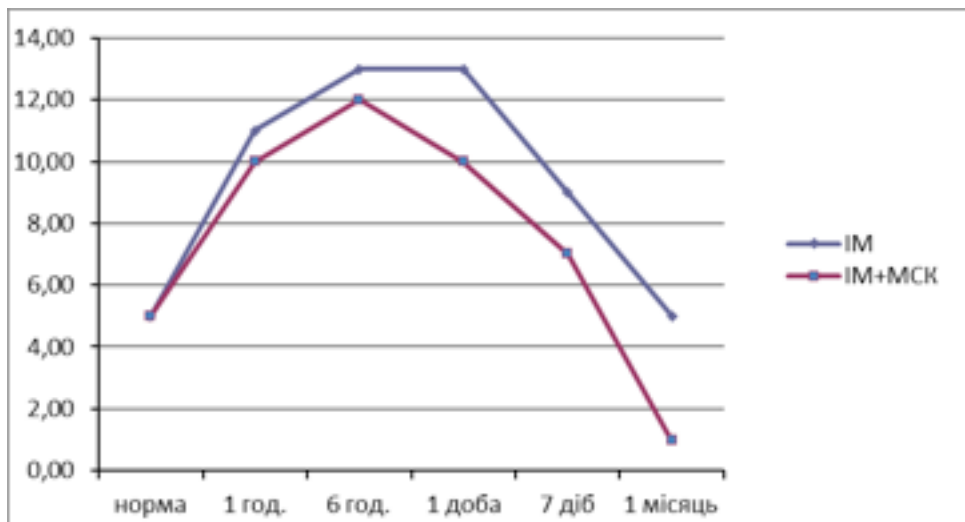


Рис. 3.2. Динаміка концентрації ендотеліну-1 (моль/мл) в різні терміни експерименту.

Отримані нами експериментальні дані свідчили про зниження ступеня ішемії міокарда після внутрішньовенної трансплантації МСК, що призводило до зниження рівня такого потужного вазоконстриктора, як ендотелін-1. Хоча отримані нами результати припускають, що ET1 є анаболічним фактором індукції диференціювання МСК, інші опубліковані дослідження прийшли до висновку, що ET1 функціонує як катаболический фактор, тому ми вважали за доцільне, на наступному етапі вивчити динаміку VEGF.

При вивченні динаміки концентрації VEGF (рис. 3.3), який відображає

інтенсивність ангиогенезу, встановлено, що до 6-ї годин після індукції ІМ даний показник не відрізнявся від контрольних значень.

Через 6 годин в групі тварин з ІМ 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 ІМ і трансплантацією МСК також до 6 години дослідження 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 ІМ та внутрішньовенною трансплантацією МСК був вище, ніж в групі крис з ІМ. Даний факт свідчив про те, що трансплантація МСК стимулює ангиогенез, підсилює експресію VEGF протягом всього періоду спостереження.

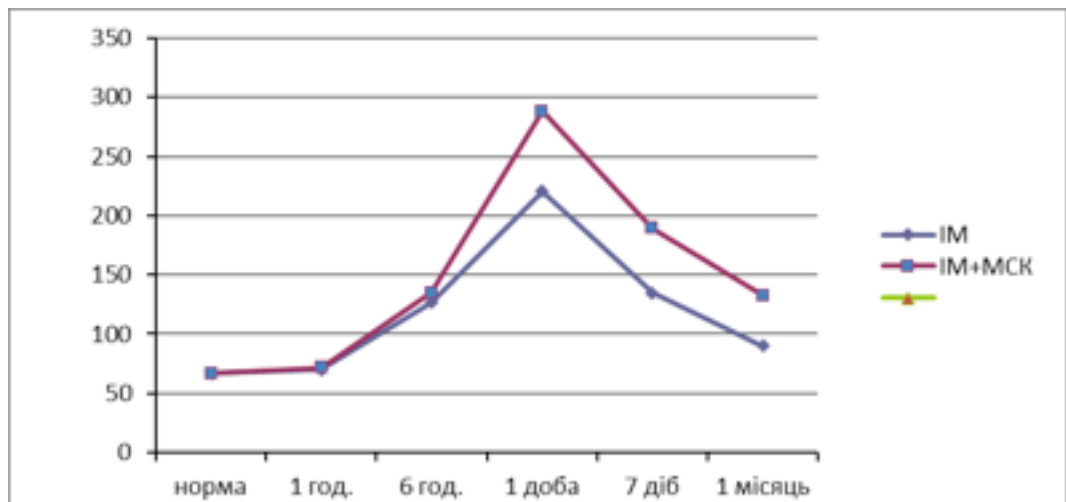


Рис. 3.3. Динаміка рівнів VEGF (пг/мл) в різні терміни експерименту.

При аналізі впливу трансплантації МСК на показники судинного тону після ІМ встановлено, що кардіоміопластика вже з 1-ї доби чинила виражену вазодилататорну дію, що знаходило відображення в підвищенні рівня NO з одночасним зниженням вмісту вазоконстриктора ендотеліну-1.

Характерно, що підвищений вміст оксиду азоту зберігалося до кінця експерименту.

При дослідженні концентрацій похідних оксиду азоту в групах тварин з різними способами введення МСК виявлено, що через 1 місяць у крис 1-ї і 2-ї груп відбувалося їх підвищення до $(0,88 \pm 0,03)$ і $(0,85 \pm 0,02)$ мкг/мл відповідно ($t=6,4$, $p<0,05$). У 3-й, 4-й і 5-й групах виявлено більш значне підвищення досліджуваного показника: $(0,99 \pm 0,04)$, $(0,96 \pm 0,05)$ і $(0,92 \pm 0,03)$ мкг/мл відповідно, при цьому в 3-й групі вміст NO був вище, ніж в 5-й групі ($t=1,99$, $p<0,05$).

Таблиця 3.2

Концентрації маркерів ангиогенеза в сироватці крові крис через 30 діб після моделювання ІМ

Показник	Контроль	Групи тварин				
		1(n=20)	2(n=20)	3(n=20)	4(n=20)	5(n=20)
NO (мкг/мл)	$0,58 \pm 0,03$	$0,88 \pm 0,03$ ***	$0,85 \pm 0,02$ ***	$0,99 \pm 0,04$ ***	$0,96 \pm 0,05$ ***	$0,92 \pm 0,03$ ***
VEGF (пг/мл)	$66,98 \pm 12,47$	$0,88 \pm 0,03$ ***	$0,85 \pm 0,02$ ***	$0,99 \pm 0,04$ ***	$0,96 \pm 0,05$ ***	$0,92 \pm 0,03$ ***
Ендоте- лін 1 (моль/мл)	$5,1 \pm 0,4$	$5,9 \pm 0,2$ *	$5,8 \pm 0,2$ *	$4,9 \pm 0,2$	$5,1 \pm 0,2$	$5,0 \pm 0,3$

Примітка. При порівнянні з контролем: * – $p<0,05$; ** – $p<0,01$; *** – $p<0,001$.

Подібна тенденція спостерігалася і стосовно концентрації VEGF. Так, в 1-й і 2-й групах його рівень не перевищував нормальні значення: $(89,74 \pm 21,38)$ і $(90,11 \pm 15,32)$ пг/мл відповідно ($p>0,05$). Однак, в 3-й, 4-й і 5-

й групах досліджуваний показник був значно вищим за норму і становив відповідно $(144,22 \pm 14,59)$, $(132,74 \pm 19,87)$ і $(111,43 \pm 12,22)$ пг/мл, при цьому, за аналогією з рівнем оксиду азоту, в 3-й групі визначався максимальний рівень у порівнянні з тваринами 5-ї групою ($t=1,97$, $p<0,05$).

Аналіз концентрації ендотеліну-1 показав, що в 3-й, 4-й і 5-й групах через 1 місяць після індукції експерименту рівень досліджуваного показника не відрізнявся від норми, а в 1-й і 2-й групах був дещо вищим нормальних значень і склав $(5,9 \pm 0,2)$ і $(5,8 \pm 0,2)$ мол мл відповідно.

Нами був виведений коефіцієнт компенсації ішемії (ККІ), який розраховували за формулою:

$$\text{ККІ} = (\text{NOx}100 + \text{VEGF}) / \text{ендотелін-1}$$

ККІ, виведений за допомогою математичного аналізу, дає можливість інтегрально визначення ефективності компенсації ішемічного ураження.

На рисунку 3.4 відображена динаміка ККІ в досліджуваних групах експериментальних тварин.

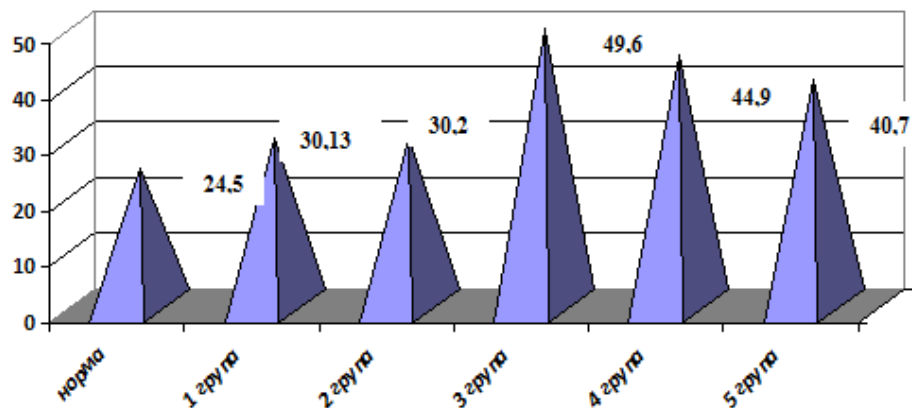


Рис. 3.4. Динаміка ККІ в різних групах тварин.

У експериментальних тварин без лікування (1-а і 2-а групи) відбувалося незначне підвищення ККІ до 30,13 і 30,2 у.о.д., що свідчило про спробу організму компенсувати альтерацію міокарда. У 3-й, 4-й і 5-й групах після клітинної кардіоміопластики МСК 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.

3.2. Вплив трансплантації МСК на інтенсивність ПОЛ при експериментальному ІМ

У таблиці 3.3 наведені результати дослідження показників ПОЛ у експериментальних тварин різних дослідних груп.

Таблиця 3.3

Показники ПОЛ і антиоксидантного статусу кардіоміоцитів при експериментальному інфаркті міокарда

Група	Вміст білків плазми		ТБК-активовані продукти, мкмоль/л
	Гаптоглобін, мг/дл	Церулоплазмін, мг/дл	
Контроль	37±8	13,2±1,1	1,09±0,1
1 група (n=20)	58±6*	15,5±4,1	2,81±0,8*
2 група (n=20)	59±4*	15,2±3,6	2,77±0,6*
3 група (n=20)	47±3	24,3±2,8**	1,55±0,5
4 група (n=20)	50±11	21,5±3,1*	1,74±0,5
5 група (n=20)	52±7*	19,1±2,5*	1,88±0,7

Примітки: Розбіжність між нормою і групою достовірна ($p < 0,05$) – *.
Розбіжність між нормою і групою достовірна ($p < 0,001$) – **.

В ході експериментального дослідження було виявлено, що для ішемізованого міокарда характерним було підвищення анаеробного обміну і гіпоксичний тип метаболізму. Однак, навіть максимально посилений метаболізм не здатний тривалий час захищати вже пошкоджений міокард і

гіпоксія закономірно викликає активацію процесів ПОЛ.

Так, при моделюванні ІМ відбувалося накопичення ТБК-активних продуктів (табл. 3.3) з $(1,09 \pm 0,1)$ до $(2,81 \pm 0,8)$ мкмоль/л ($t=2,13$, $p<0,05$). У групі тварин з трансплантацією МСК 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 ІМ, але вище норми, що свідчило про мінімізацію шкідливого чинника при трансплантації МСК і зниження інтенсивності ПОЛ.

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 маркером антиоксидантної системи – рівнем церулоплазміну.

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 ІМ відбувалося руйнування мембран кардіоміоцитів і активація ПОЛ, що відображалось в підвищенні ТБК-активних продуктів. Трансплантація МСК викликала значне зниження концентрації ТБК-активних продуктів. При вивченні рівня білків

плазми з антиоксидантними властивостями встановлено, що при ІМ значуще підвищувався рівень гаптоглобіну. У групі тварин з трансплантацією МСК відзначено менш виражене підвищення досліджуваних показників, що, можливо, було пов'язано зі зменшенням альтерації міокарда, викликаного ішемією. Отримані дані свідчать також про можливу активацію перекисного гемолізу еритроцитів, викликаного гіпоксією. Майже дворазове підвищення церулоплазміну в групі тварин з ІМ і трансплантацією МСК свідчило про стимуляцію трансплантованими МСК факторів природних систем антиоксидантного захисту так як церулоплазмін захищає міокард від прооксидантної дії двовалентного заліза і, як наслідок, гальмує процеси ПОЛ). Таким чином, трансплантація МСК значно обмежує швидкість ПОЛ і знижує експресію антиоксидантних білків плазми крові.

З метою визначення інтегральної функції оксидантної і антиоксидантної систем був розроблений і використаний коефіцієнт оксидантно-антиоксидантної системи (КОАС), який розраховували за формулою:

$$\text{КОАС} = \text{гаптоглобін} + (\text{ТБКакт.} * 100) / \text{церулоплазмін (у.од)}$$

Динаміка КОАС в групах лабораторних тварин відображена на рисунку 3.5.

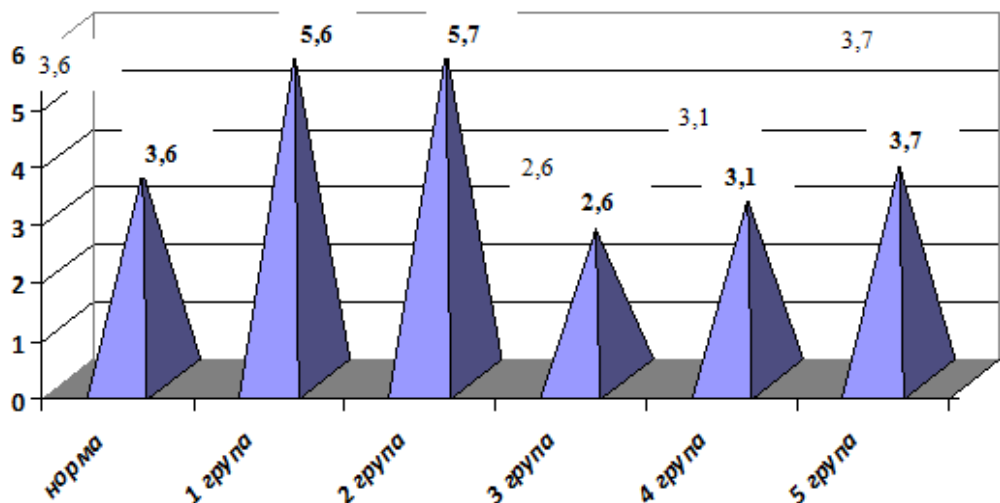


Рис. 3.5. Показники КОАС в групах експериментальних тварин.

Отримані дані свідчать, що при ІМ без лікування відбувалося переважання альтерації і, відповідно, активація оксидантної системи. Антиоксидантна ж система не встигала компенсувати руйнування і нейтралізувати агенти катаболізму, що призводило до значного зростання КОАС. Клітинна кардіоміопластіка значно стабілізувала показники КОАС, що проявлялося в значному його зниженні. При цьому найкращі результати були отримані у тварин після інтраміокардіального введення МСК.

Ступінь пошкодження міокарда при інфаркті оцінювали за рівнем кардіоспецифічних ферментів креатинінкінази (МВ-КК) і аспаратаміотрансферази АсТ (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

Біохімічні маркери метаболічної активності кардіоміоцитів при експериментальному інфаркті міокарда

Група	Активність ферментів			
	МВ-КК, Е/л	АсТ, Од./л	АДА, нмоль/хв·/мл	ЛДГ, Од./л
контроль	5125±123	150±22	102±22	780±11 **
1(n= 20)	7700±140*	273±15*	170±28*	1071±25 **
2(n= 20)	7654±118*	275±12*	167±19*	1123±22 **
3(n= 20)	5381±112	265±17*	84±17*	665±17
4(n= 20)	5855,5±129 **	262±28*	83±11*	671±10
5(n= 20)	5755,5±129 **	267±11*	82±15*	669±11 **

Примітки: Розбіжності між нормою і групою достовірні ($p < 0,05$) – *;
Розбіжності між нормою і групою достовірні ($p < 0,001$) – **.

Як свідчать наведені в таблиці 3.4 дані, вже через добу після припинення кровотоку виникало значне підвищення рівня МВ-КК з (5125 ± 123) до (7700 ± 140) Е/л ($t=13,8$; $p<0,001$), що свідчило про формування великого осередку ушкодження. Значення МВ-КК були підвищені у всіх групах тварин, крім 3-ї, в якій вміст ферменту не відрізнявся від норми. Значне збільшення концентрації МВ-КК відзначалося в 1-й і 2-й групах крис, при цьому істотних відмінностей між цими групами виявлено не було. Рівень МВ-КК в 4-й і 5-й групах дещо перевищував норму – $(5855,5 \pm 129)$ і $(5755,5 \pm 129)$ Е/л відповідно ($t=4$ і $4,8$; $p<0,01$).

Менш специфічним маркером об'єму ІМ виявилася АсТ. Рівень цього ферменту у всіх досліджуваних групах був вищий за норму, що свідчило про некроз кардіоміоцитів. При аналізі концентрації даного показника серед груп тварин найбільш високі цифри виявлені у 2-й групі, а найбільш низькі – в 4-й. У 2-й групі рівень АсТ підвищувався з (150 ± 22) до (275 ± 12) Од./л ($p<0,05$), в 4-й групі даний показник дорівнював (262 ± 28) Од./л, що істотно не відрізнялося від показників 1-ї групи (при $t=0,35$; $p>0,05$) і було значно вище норми ($t=3,1$; $p<0,01$). Таким чином, при великому ІМ відбувалося підвищення МВ-КК і АсТ, проте відносно розмірів некрозу МВ-КК є прогностично більш важливим фактором, а за рівнем АсТ можна тільки підтвердити наявність некрозу міокарда. При аналізі концентрації МВ-КК в групах тварин виявлено, що після клітинної кардіоміопластики об'єм пошкодження серцевого м'яза був меншим, ніж в групах крис без лікування.

Про рівень кисневого постачання кардіоміоцитів судили за активністю аденозіндезамінази (АДА) еритроцитів і лактатдегідрогенази (ЛДГ) плазми крові. Захисні ефекти аденозину при ішемії показані в численних роботах. Відомо, що АДА грає важливу роль при гипоксичному типі метаболізму. Набагато менше інформації про зміну активності АДА в еритроцитах.

У нашому дослідженні не було встановлено достовірних відмінностей активності АДА між групами здорових тварин і крис з ІМ – (102 ± 32) і (170 ± 48) нмоль/хв./мл. відповідно (при $t=1,17$; $p>0,05$). Так само не виявлено

й різниці в групах тварин з ІМ і ІМ з трансплантацією МСК – (83 ± 31) нмоль/хв./мл ($t=1,5$; $p>0,05$).

Значення ЛДГ в групі з ІМ були значно вищими, ніж в групі здорових тварин: (1071 ± 25) і (780 ± 11) Од./л відповідно (при $t=10,7$; $p<0,001$). В 4-й групі показник дорівнював (671 ± 10) Е/л, що було набагато нижче, ніж в групі тварин з ІМ ($t=2,1$; $p<0,05$). Рівні ЛДГ також значно відрізнялися між групами без використання МСК і групами з клітинною терапією. Так, у 2 групі концентрація досліджуваного ферменту була вищою за норму і становила (1123 ± 22) Од./л ($t=13,9$; $p<0,001$). У 3 групі даний показник був нижче норми і дорівнював (665 ± 17) ($t=5,7$; $p<0,05$).

Зниження активності ЛДГ побічно свідчило про збільшення оксигенації міокарда і активації аеробних шляхів окислення енергодаючих субстратів.

Залучений в катаболізм пуринових нуклеозидів фермент АДА локалізований в цитоплазмі клітин усіх тканин і каталізує дезамінування аденозініна і перетворення його в інозин, а дезоксіаденозина – в оксіаденозин. Збільшення швидкості дезамінування аденозину перешкоджає аденозінкіназній реакції, що посилює енергодефіцит. Накопичення гипоксантина, в який перетворюється аденозін після дезамінування, підсилює реакції вільнорадикального окислення за участю ксантинооксидази.

Стимуляція аденозином постсинаптичних А1-аденозинових рецепторів, локалізованих в пуринергічних синапсах, розташованих на клітинних мембранах скорочувальних кардіоміоцитів передсердь і шлуночків серця, викликає зменшення вмісту в них цАМФ і, отже, зниження скоротливості серцевого м'яза, тобто реалізується негативну інотропну дію аденозину. Джерелом аденозину еритроцитів є катаболізм АМФ. Можна припустити, що гальмування некомпенсованого розпаду АТФ в еритроцитах зменшує рівень субстрату для АДА. Зниження активності ферменту після трансплантації МСК зберігає пул аденозину і є хорошою прогностичним ознакою.

3.3. Результати макроскопічного і ультразвукового дослідження серця крис з експериментальним ІМ

В даному підрозділі дисертації проаналізовані результати макроскопічного дослідження серця, які зіставлені з даними ультразвукового дослідження.

При дослідженні маси тіла експериментальних тварин (табл.3.5) виявлено, що у всіх досліджуваних групах різниці в порівнянні з групою контролю не було.

При вивченні показників маси серця (HW) тварин також відзначили відсутність суттєвої різниці в досліджуваних групах в порівнянні з контролем.

Визначали також масу лівого шлуночка (LW) і коефіцієнти HW / BW і LW / BW (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

Морфометричні показники серця крис з експериментальним інфарктом міокарда

Показник	Групи					
	Контроль	1 (n=20)	2 (n=20)	3 (n=20)	4 (n=20)	5 (n=20)
BW – маса тіла (г)	302,4±13,2	301,5±12,8	300±14,3	302,8±12,2	300±14,2	302,1±11,5
HW – маса серця (г)	1,064±0,025	1,029±0,012	1,032±0,014	1,062±0,016	1,054±0,02	1,036±0,014
LW – маса ЛШ (г)	0,62±0,05	0,48±0,018	0,47±0,014	0,61±0,019	0,6±0,05	0,51±0,014
HW/BW (г/г)	0,354±0,019	0,345±0,021	0,347±0,03	0,353±0,02	0,355±0,02	0,351±0,013
LW/BW (г/г)	0,2±0,02	0,16±0,01	0,16±0,02	0,19±0,02	0,2±0,02	0,16±0,01

Примітка: статистична достовірність показників наведена в тексті.

В 1-й групі маса ЛШ дорівнювала $0,48 \pm 0,018$ г, що було набагато нижче норми ($0,62 \pm 0,05$) г, при $t=2,6$, $p<0,01$. Великий ІМ призводив до розвитку рубцевої тканини і зменшення маси ЛШ при незмінній масі серця, ймовірно, за рахунок компенсаторної гіпертрофії інших відділів серця. У віддалені терміни після ІМ маса серця зростала за рахунок гіпертрофованих правих відділів. У 2-й групі маса ЛШ дорівнювала ($0,47 \pm 0,014$) г, що було набагато менше норми, при $t=2,9$, $p<0,01$. При цьому, достовірних відмінностей за цим показником між 1-ю і 2-ю групами тварин виявлено не було. У 3-й і 4-й групах також не було виявлено значної різниці між досліджуваним показником, поряд із цим, вони не відрізнялися від норми ($t=0,19$ і $0,3$ відповідно). У 5-й групі ми відзначали зниження маси ЛШ до ($0,51 \pm 0,014$) г, що було нижче норми ($t=2,12$, $p<0,01$). Слід зазначити, що маса ЛШ була менше в 1-й, 2-й і 5-й групах тварин в порівнянні з 3-ю і 4-ю групами.

Дані інтегрального відношення HW / BW залишалися незмінним у всіх групах крис у порівнянні з нормою, що пояснювалося рубцюванням і дилатацією ЛШ, що призводило до зниження його насосної функції, розвитку серцевої недостатності по великому колу кровообігу. В подальшому процеси ремоделювання призводили до мітральної регургітації крові і збільшення об'єму лівого передсердя, а це, в свою чергу – до збільшення тиску в малому колі кровообігу. Дане перевантаження серця компенсувалося гіпертрофією правих відділів до певного моменту, але це призводило до недостатності кровообігу по малому колу та прогресування тотальної серцевої недостатності і гибелі лабораторних тварин.

На наш погляд, більш цікавим видається вивчення інтегрального показника відношення LW / BW . Так, в 1-й групі тварин відбувалося його зменшення до ($0,16 \pm 0,01$) при нормі ($0,2 \pm 0,02$) і $t=1,8$, $p<0,05$. У тварин 2-ї групи також відзначалося зниження даного показника до ($0,16 \pm 0,02$) і $t=1,4$, $p<0,05$. У тварин 3-ї і 4-ї груп інтегральний показник LW / BW залишався незмінним. У 5 групі він також знижувався до ($0,16 \pm 0,01$) і наближався до

значень, отриманих в 1 групі, однак не відрізнявся від 2-ї групи і був нижче, ніж в 3-й і 4-й групах.

Таким чином, в результаті макроскопічного дослідження серця встановлено, що при ІМ і застосуванні різних видів клітинної кардіоміопластики маса серця і тіла тварин залишалася незмінною за рахунок гіпертрофії і збільшення маси правих відділів серця і, частково, лівого передсердя. Маса лівого шлуночка за рахунок заміщення міокардиоцитів сполучною тканиною і дилатації порожнин зменшувалась, при цьому об'єм його зростав. Даний факт підтверджується стабільним показником HW / BW і чіткою динамікою відношення LW / BW .

В експерименті за допомогою апарату УЗД серця для новонароджених з датчиком 12МГц вивчили такі показники серця крис в різних дослідних групах (табл.3.6): LVIDd – end-diastolic left ventricular internal dimensions (кінцевий діастолічний внутрішній діаметр лівого шлуночка); LVIDs – end-systolic left ventricular internal dimensions (кінцевий систолічний внутрішній діаметр лівого шлуночка); FS – fractional shortening (ФУ, фракція укорочення); EF – ejection fraction (ФВ, фракція викиду); SV – stroke volume (УО, ударний об'єм). За даними УЗД, виконаного в день моделювання ІМ, достовірних відмінностей між експериментальними групами за значенням ФУ ЛШ виявлено не було ($p=0,099$), що вказує на однакові умови перед початком введення у всіх досліджуваних групах.

При вивченні кінцевого діастолічного внутрішнього діаметра ЛШ виявлено, що в 1-й групі тварин він збільшився з $(6,16 \pm 0,12)$ до $(7,19 \pm 0,16)$ мм, $t=5,15$, $p<0,001$. У другій групі визначалася аналогічна тенденція: даний показник збільшився до $(7,21 \pm 0,14)$ мм, $t=5,7$, $p<0,001$. У тварин 3-ї і 4-ї групи LVIDd залишався без зміни при $t=0,12$ і $0,98$ відповідно. У 5-й групі тварин LVIDd також збільшився до $(6,81 \pm 0,15)$ мм при $t=3,4$, $p<0,01$. При вивченні LVIDs було виявлено, що в 1-й групі крис він збільшився з $(2,82 \pm 0,18)$ до $(3,82 \pm 0,11)$ мм при $t=4,7$, $p<0,05$. У тварин 2-ї групи даний показник виріс до $(3,76 \pm 0,13)$ мм при $t = 4,2$, $p<0,01$. Слід зазначити, що в 3-й

і 4-й групах LVIDs залишався незмінним, а в 5-й групі збільшився до $(3,62 \pm 0,13)$ мм при $t=3,5$, $p < 0,05$. При цьому, LVIDs в 5-й групі істотно не відрізнявся від показників, зареєстрованих у крис 1-ї і 2-ї груп, і був вище показника 3-ї групи при $t=4,0$, $p < 0,01$. Таким чином, найкращі показники LVIDd і LVIDs були отримані у тварин 3-ї і 4-ї груп.

Таблиця 3.6

Ультразвукові показники функціонування серця у крис з інфарктом міокарда

Показник	Група					
	Конт- роль	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

Примітка: статистична достовірність показників наведена в тексті.

При порівнянні ФУ було виявлено, що у тварин 1-ї і 2-ї груп даний показник зменшився на $(26,8 \pm 0,8)$ і $(27,3 \pm 0,7)$ % відповідно при $t=9,8$, $p < 0,001$. У 3-й групі він залишався незмінним і дорівнював $(45,0 \pm 0,9)$ % при $t=0,16$, $p > 0,05$. В 4-й групі ФУ була трохи нижче норми і дорівнювала $(42,6 \pm 0,12)$ % при $t=1,98$, $p < 0,05$. У 5-й групі тварин ФУ дорівнювала $(31,2 \pm 0,9)$ %, що було нижче нормальних значень при $t=7,3$, $p < 0,001$. При цьому вивчаємий показник був вище в 5-й групі в порівнянні з результатами,

отриманими у тварин 1-ї і 2-ї груп при $t=3,7$ і $3,4$ відповідно, $p<0,05$, а також вище, ніж в 3-й і 4-й групах при $t=10,8$ і $12,6$ відповідно, $p<0,001$. До того ж, у тварин 3-ї групи ФУ була вище, ніж в 4-й групі при $t=2,6$, $p<0,05$.

Подібну тенденцію ми спостерігали при аналізі динаміки зміни ФВ ЛШ. Так в 1-й групі вона зменшилася з $(76,9\pm 2,5)$ до $(55,3\pm 3,4)$ % при $t=5,1$, $p<0,05$, у другій групі спостерігалася така ж картина, при цьому, різниці в показниках між 1-ю і 2-ю групами не було виявлено. У тварин 3-ї групи ФВ не відрізнялася від норми, а в 4-й групі цей показник був нижче норми і дорівнював $(70,6\pm 2,3)$ % при $t=1,9$, $p<0,05$. У тварин 5-ї групи ФВ також зменшилася до $(66,5\pm 3,3)$ при $t=2,5$, $p<0,05$. Слід зазначити, що показник ФВ в 5-й групі був вище, ніж в 1-й і 2-й групах при $t=2,4$ і $2,2$, $p<0,05$, але нижче, ніж в 3-й групі при $t=2,02$, $p<0,05$. Показник ФВ між 4-ю і 5-ю групами істотно не відрізнявся.

Динаміка зміни ударного об'єму в експериментальних групах була наступною: в 1-й групі УО зменшився з $(0,25\pm 0,08)$ до $(0,13\pm 0,03)$ мл при $t=1,9$, $p<0,05$, а в інших групах даний показник залишався незмінним. Проте, в 3-й групі УО був найбільш наближений до норми і був вище, ніж в 1-й, 2-й і 5-й групах лабораторних тварин.

Таким чином, 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 МСК. Дані ультразвукової картини збігалися з даними макроскопічного дослідження видалених після евтаназії сердець.

3.4. Скорочувальна функція серця крис при ремоделюванні інфаркта міокарда у віддалені терміни експерименту

Нами був вивчений ряд якісних характеристик роботи серця крис за даними УЗД. Так, наявність систолічного потовщення ураженого сегмента міокарда при ІМ в систолу було або знижено, або взагалі відсутньою. У

терміни понад 1 місяць після моделювання патологічного стану відзначалося витончення ураженого сегмента міокарда. Стоншений сегмент мав підвищену ехогенності в порівнянні з прилеглими сегментами внаслідок більшої кількості сполучної тканини (рис. 3.6)

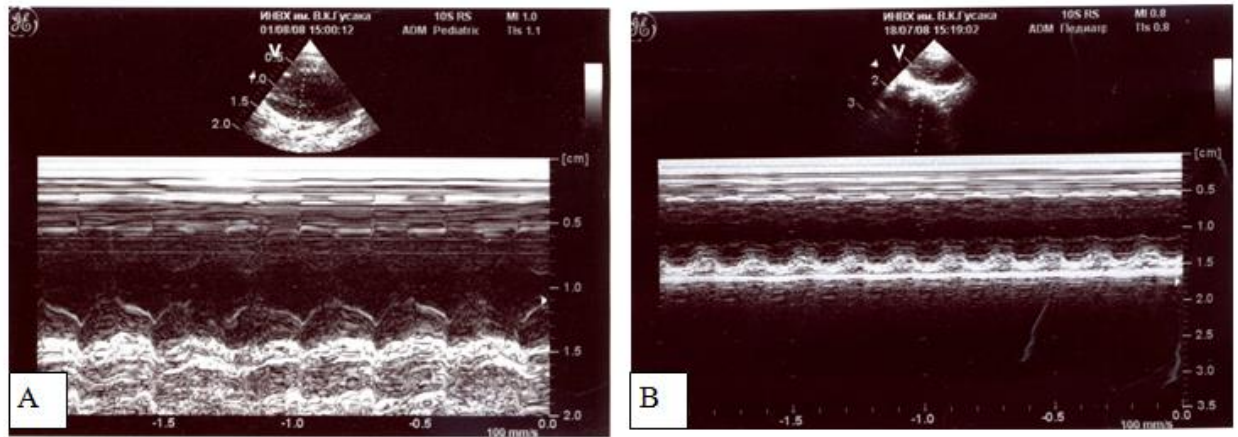


Рис. 3.6. Ехо-кардіографія серця у криси в нормі (А) і через 1 місяць після моделювання ІМ (В).

Візуалізувалися порушення рухливості стінки: гіпокінезія, акінезія або дискінезія, тобто рух ураженого сегмента в систолу був частково зниженим, відсутня або парадоксально направлений назовні. Сегменти стінки, протилежної ураженій при гострому інфаркті міокарда, як правило, компенсаторно гіперкінетичні. У трьох тварин з 1-ї групи візуалізувалася аневризма ЛШ у вигляді випинання «німої» стінки.

На рисунку 3.7. представлено ЕХО-КГ криси з 3-ї групи, де чітко видно номінальні зміни, які є, по суті, варіантом норми.

Таким чином, за даними ультразвукового дослідження можна визначити характерні для ІМ зміни в роботі серця, що збігалися з характерними даними клінічної картини в клініці у людей з ІМ. Даний факт підтверджує адекватність моделі ІМ у крис і можливість прогнозування перебігу ішемії міокарда. З досліджуваних варіантів клітинної кардіоміопластики найкращі результати були досягнуті при інтраміокардіальному введенні МСК.

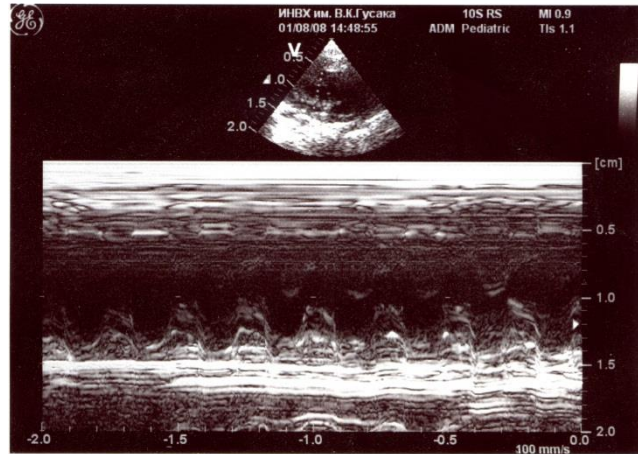


Рис. 3.7. ЕХО-кардіографія серця криси через 1 місяць після трансплантації МСК при ІМ.

Через 1 місяць від початку експерименту було проведено порівняльний аналіз скорочувальної функції серця у крис з ІМ без лікування.

В постінфарктному періоді достовірно зменшувалась ЧСС на 31 уд./хв., дещо зменшувався також АТ в порівнянні з нормою (табл. 3.7, рис. 3.8). Зіставлення функції ЛШ серця показало, що в постінфарктному періоді в порівнюваних групах АТ мав тенденцію до зниження в порівнянні з нормою (на 9 мм.рт.ст.).

Найбільша різниця між групами виявлена у величині кінцевого діастолічного тиску (КДТ), яке у крис з ІМ виявилось збільшеним майже у 2 рази в порівнянні з нормою. Збільшення КДТ свідчило про порушення механізмів скорочення і розслаблення міокарда. Слід зазначити, то індекс Катца у лабораторних тварин з ІМ зменшився майже на 8 % з високим рівнем достовірності.

При розрахунку ІФС з урахуванням маси тільки скорочувального міокарда, тобто без маси постінфарктного рубця, виявлено, що даний показник у крис з ІМ не змінювався, що свідчило про те, що у тварин у спокої він зберігався на вихідному рівні, не дивлячись на деякі дефекти скорочувальної функції серця. Це вказувало на те, що часткова втрата скорочувального міокарда на даній стадії захворювання добре

компенсувалося роботою збереженого міокарда.

Через 3 місяці за даними УЗД виявлено, що у крис з експериментальним ІМ спостерігалася виражена гіпертрофія правого шлуночка (в 1,14 рази), в результаті чого відносна маса серця збільшувалася на 1,1 %. Слід зазначити, що якщо гіпертрофія ЛШ пов'язана із збільшеним механічним навантаженням на збережений міокард, то гіпертрофія правого шлуночка обумовлена легеневою гіпертензією, характерною для серцевої недостатності. Гіпертрофія правого шлуночка в порівнюваних групах була значною в 92 % випадків, при цьому відносна маса правого шлуночка зросла на 46 %, незважаючи на те, що відносна маса серця збільшилась майже в 2 рази, а маса серця зростала на 49 %.

Через 3 місяці після моделювання ІМ, на відміну від 1-місячного процесу, спостерігалось істотне пригнічення скорочувальної функції серця в досліджуваних групах тварин. В першу чергу, звертало на себе увагу значне збільшення КДД ЛШ. У постінфарктному періоді значно знижувався РД – на 20 %, при цьому ЧСС залишалася незмінною. Індекс Катца у тварин зменшився на 12 %, а ІФП – на 15 %. Слід зазначити, що розвинутий систолічний тиск в ЛШ у крис з ІМ в термін 3 місяці був набагато нижче, ніж через 1 місяць, був меншим також і діастолічний тиск, що пов'язано з низьким КДТ і більш високим КДО.

Таким чином, через 1 місяць після моделювання ІМ виявлено незначне пригнічення насосної функції серця на фоні вираженої депресії його скоротливої функції. Це пов'язано з тим, що на початку ремоделювання серця на фоні ІМ компенсація СН відбувалася за рахунок підвищеного тиску наповнення ЛШ, що відображалось в підвищенні КДТ, КДО і КТ розмірів ЛШ, а потім і ПЖ. Ці фактори в певні терміни після ІМ можуть сприяти збереженню ХО на рівні, достатньому для збереження життєздатності організму. Однак, через 3 місяці компенсаторні можливості серця закінчувалися і відбувалася декомпенсація СН, що призводило до високого рівня летальності серед тварин з ІМ (в наших дослідженнях до 25 %).

Таблиця 3.7

Вплив 1 і 3-місячного постінфарктного ремоделювання серця на АТ і скорочувальну функцію серця у крис 1-ї групи

Показник Серія досліджу	ЧСС (уд/хв)	АТ мм рт.ст.		Тиск в ЛШ мм рт.ст.			Індекс Катца	ІФС
		АТс	АТд	Тс	КДТ	РТ		
норма	371±12	90±4,8	62±2,6	103±6,3	4,3±0,2	98±6,4	47120±2839	61±4,7
Модель ІМ 1 міс.	340±18*	85±3,8	61±3,4	95±4,5*	9,9±0,84	92±4,3	36227±2175*	55±3,4
Модель ІМ 3 міс.	375±24	92±4,3	63±4,1	83±3,2	18,5±2,4	66±3,2	35487±1864	51±2,1

Примітка: * – достовірність розбіжностей між показниками норми та ІМ ($p < 0,05$).

При вивченні даних показників в 3-й групі тварин нами була виявлена достовірна різниця в порівнянні з нормою в терміни 1 і 3 місяці експерименту (табл. 3.8, рис. 3.8). Подібну картину ми відмітили і в показниках, отриманих в групах 4 і 5 (табл.3.9 і 3.10, рис. 3.8).

Цілком ймовірно, що ряд незмінних показників був пов'язаний з ангіогенним і паракринним ефектом трансплантації мезенхімальних стовбурових клітин, які призводили до адаптації серця до нових умов існування та їх антиішемічним впливом.

При аналізі показників, отриманих у тварин 4-ї групи виявлено, що ЧСС через 1 місяць після ІМ зменшувалася з (371±12) до (333±22) уд./хв., потім поступово відновлювалася і через 3 місяці не відрізнялася від норми. При вивченні динаміки АТ (як систолічного, так і діастолічного) не було виявлено достовірної різниці в усі терміни дослідження. Діастолічний тиск в лівому шлуночку зменшувалася з (103±6,3) до (97±3,8) мм.рт.ст. і в термін 3

місяці не відрізнявся від норми. КДТ до 1 місяця зростав з $(4,3 \pm 0,2)$ до $(4,9 \pm 0,8)$ і залишався постійним до кінця експерименту. Також відзначалося зниження РТ і індексу Каца. В термін 1 місяць достовірно знизився ІФП з $(61 \pm 4,7)$ до $(55 \pm 3,4)$ і залишався таким до кінця дослідження (табл. 3.9, рис. 3.8).

Таблиця 3.8

Вплив 1 і 3-місячного постінфарктного ремоделювання серця на АТ і скорочувальну функцію серця у крис 3-ї групи

Показник Серія дослідду	ЧСС (уд/хв)	АТ мм рт.ст.		Тиск в ЛШ мм рт.ст.			Індекс Катца	ІФС
		АТс	АТд	Тс	КДТ	РТ		
норма	371±12	90±4,8	62±2,6	103± 6,3	4,3±0,2	98±6,4	47120± 2839	61± 4,7
ІМ+трансплантація МСК 1 міс.	368±13	87±3,4	61±3,3	99±5,2	4,9±0,3	97± 6,5	44418± 2975	59± 4,1
ІМ+трансплантація МСК 3 міс.	370±17	86±2,9	60,8± 3,3	104± 4,7	4,5± 0,47	92± 5,8	43258± 2147	58± 3,6

Таблиця 3.9

Вплив 1 і 3-місячного постінфарктного ремоделювання серця на АТ і скорочувальну функцію серця у крис 4-ї групи

Показник Серія дослідду	ЧСС (уд/хв)	АТ мм рт.ст.		Тиск в ЛШ мм рт.ст.			Індекс Катца	ІФС
		АТс	АТд	Тс	КДТ	РТ		
норма	371±12	90±4,8	62±2,6	103± 6,3	4,3± 0,2	98± 6,4	47120± 2839	61± 4,7
1 міс.	333±22*	84±3,3	60±2,9	97± 3,8*	4,9± 0,8*	92± 4,3*	36887± 2175*	55± 3,4*
3 міс.	373±21*	91±4,1	61±3,7	99± 2,7*	4,9± 0,4 ^α	95± 2,6* ^{**}	36929±15 39* ^{***}	56± 1,8* ^{***}

Примітки: * – достовірність розбіжностей між вивчаємим показником і попередніми даними ($p < 0,05$); ** – достовірність розбіжностей між вивчаємим показником і нормою ($p < 0,05$).

Таблиця 3.10

Вплив 1 і 3-місячного постінфарктного ремоделювання серця на АІ і скорочувальну функцію серця у крис 5 групи

Показник Серія опита	ЧСС (уд/хв)	АТ мм рт.ст.		Тиск в ЛШ мм рт.ст.			Індекс Катца	ІФС
		АТс	АТд	Тс	КДТ	РТ		
норма	371±12	90±4,8	62±2,6	103±6,3	4,3±0,2	98±6,4	47120± 2839	61±4,7
1 міс.	351±15*	87±3,5	61±3,1	97±3,2 *	5,4±0,7 *	90±3,8*	35318± 2202*	55±2,7 *
3 міс.	366±19*	91±3,7	62±3,8	97±2,6 **	5,5±0,5 **	86±2,9 **	36487±1 713 **	56±1,1 **

Примітки: * – достовірність відмінностей між досліджуваним показником і попередніми даними ($p < 0,05$); ** – достовірність відмінностей між досліджуваним показником і нормою ($p < 0,05$).

У тварин 5-ї групи через 1 місяць після індукції експерименту відзначалося зменшення базової ЧСС з (371±12) до (351±15) уд./хв. і до 3 місяців вона підвищувалася до (366±19), що істотно не відрізнялося від норми. Показники артеріального тиску, як у систолу, так і в діастолу, залишалися стабільними. Тс в термін 1 місяць зменшився з (103±6,3) до (97±3,2) і залишався стабільним до кінця експерименту. КДТ збільшився з (4,3±0,2) до (5,4±0,7), також залишаючись стабільним про кінця дослідження. Різниця тиску склала (90±3,8) і потім до 3 місяця знизилася ще до (86±2,9). Індекс Катца зменшився до 1 місяця з (47120±2839) до (35318±2202) і не змінювався до кінця спостереження. ІФП також зменшився з (61±4,7) до (55±2,7) і в наступному залишався стабільним. У 2-й експериментальній групі нами були виявлені наступні зміни (табл. 3.11, рис. 3.8).

При вивченні показників роботи серця інвазивною методикою у крис 2-ї групи було виявлено, що ЧСС в спокої знизилася з (371±12) до (345±13) і потім залишалася набагато нижчою за норму в термін 3 місяці – (360±15).

Таблиця 3.11

Вплив 1 і 3-місячного постінфарктного ремоделювання серця на АТ і скорочувальну функцію серця у крис 2-ї групи

Показник Серія дослідду	ЧСС (уд/хв)	АТ, мм рт.ст.		Тиск в ЛШ, мм рт.ст.			Індекс Катца	ІФС
		АТс	АТд	Тс	КДТ	РТ		
норма	371±12	90±4,8	62±2,6	103± 6,3	4,3±0,2	98± 6,4	47120± 2839	61± 4,7
1 міс.	345±13*	88±2,9	61±2,5	96± 2,6*	8,6±0,7*	95± 3,3*	36319± 2274*	55± 1,8*
3 міс.	360±15 *, **	90±2,9	62±2,7	90± 2,4 **	12,1±0,4 **	70± 2,5 * ^a	35916± 1831 **	53± 1,4**

Примітки: * – достовірність відмінностей між досліджуваним показником і попередніми даними ($p < 0,05$); ** – достовірність відмінностей між досліджуваним показником і нормою ($p < 0,05$).

Показники артеріального тиску не змінювалися протягом усього експерименту. Тс зменшився з (103±6,3) до (96±2,6) в термін 1 місяць і до 3 місяців – ще до (90±2,4). При цьому відзначалося збільшення КДТ до (8,6±0,7) і (12,1±0,4) відповідно. РТ в термін 1 місяць знижувався незначно (до 95±3,3), однак до 3-х місяців цей показник становив (70±2,5). Індекс Каца знижувався з (47120±2839) до (36319±2274) і залишався стабільним до кінця дослідження. ІФП зменшився з (61±4,7) до (55±1,8) і залишався на таких низьких показниках до кінця експерименту.

Отримані дані свідчать про відсутність достовірної різниці між більшістю досліджуваних показників у тварин 1-ї і 2-ї груп, а дані, отримані у тварин після трансплантації МСК, були найбільш наближені до фізіологічної норми (рис. 3.8) Проте, оптимальні показники були досягнуті в 3-й групі тварин (з інтраміокардіальними ін'єкціями МСК) у віддалені терміни дослідження.

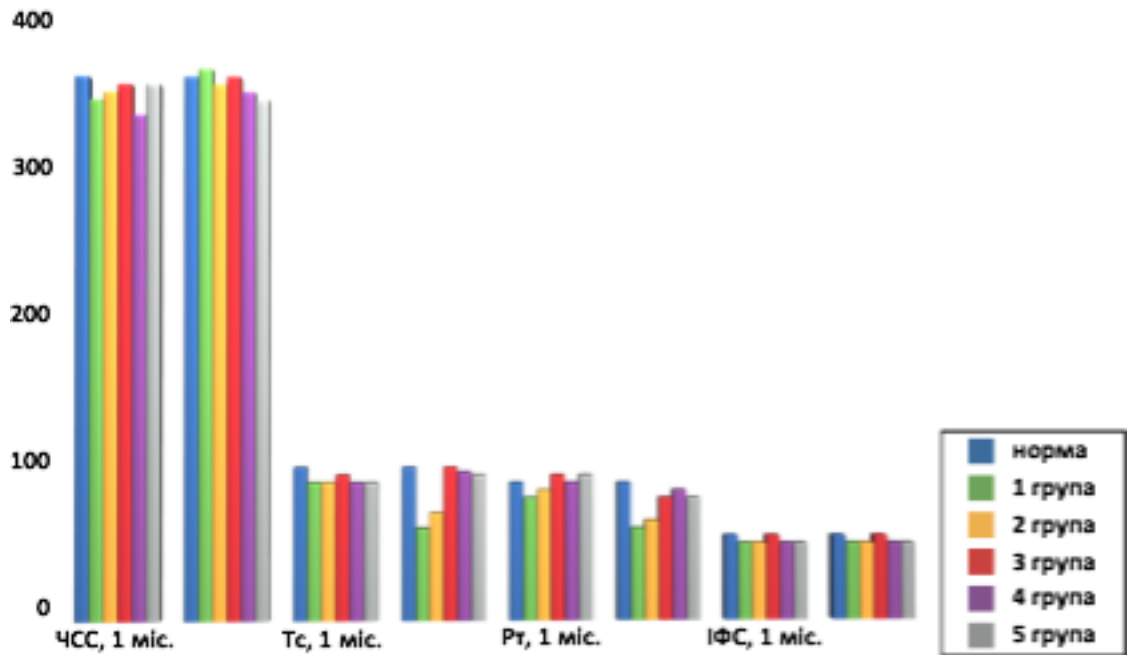


Рис. 3.8. Динаміка АТ і показників скорочувальної функції міокарда через 1 і 3 місяці експеримента.

Нами була висунута гіпотеза можливості прискорення неоангіогенезу у тварин 2-ї групи дослідження за рахунок запальної реакції в зоні альтерації, але в результаті дослідження ми не отримали достовірної різниці. Крім того, ймовірно, відбувалося розростання рубцевої тканини в місці ін'єкції, що посилювало ряд показників. Даний факт ми підтвердили під час гістологічного дослідження сердець після виведення тварин з експерименту.

КДТ лівого шлуночка значно збільшився в 1 групі, що свідчило про прогресування серцевої недостатності, у 2-й групі даний показник був нижче, ніж в 1-й, але набагато вище норми. В 3-й, 4-й і 5-й групах КДТ був в термін 1 місяць експериментального дослідження вище фізіологічної норми, але потім практично не змінювався. Найбільш близькими до норми були показники в 3-й групі (рис. 3.9).

При вивченні динаміки показника індексу Каца (рис.3.10), ми відзначили значне його зменшення протягом усього експерименту у тварин всіх груп, крім 3-ї.

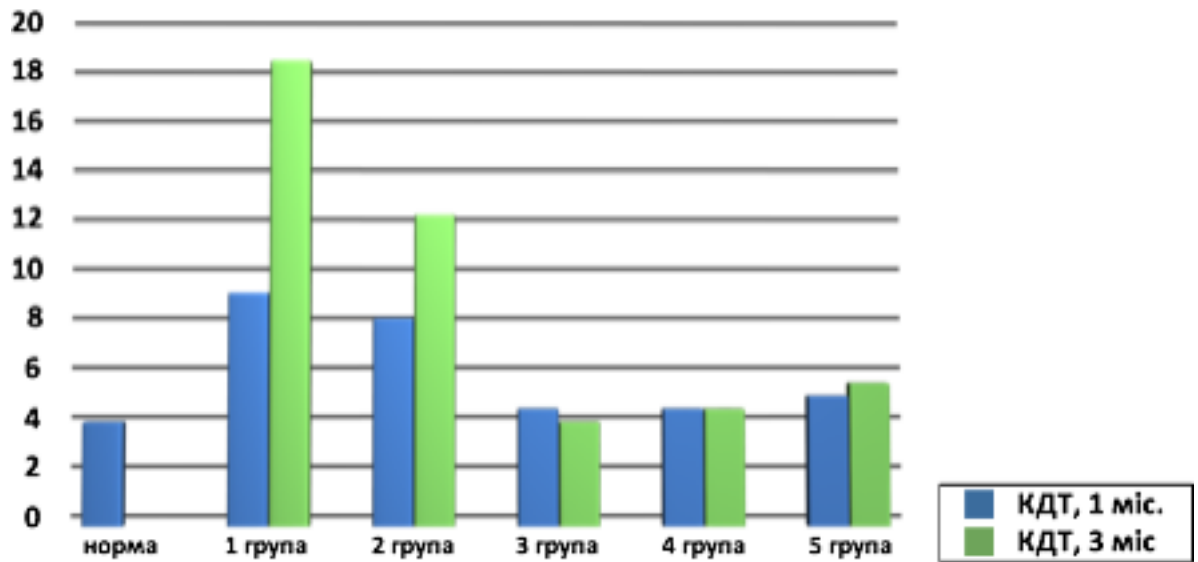


Рис. 3.9. Динаміка КДТ за інвазивною методикою в терміни 1 і 3 місяці.

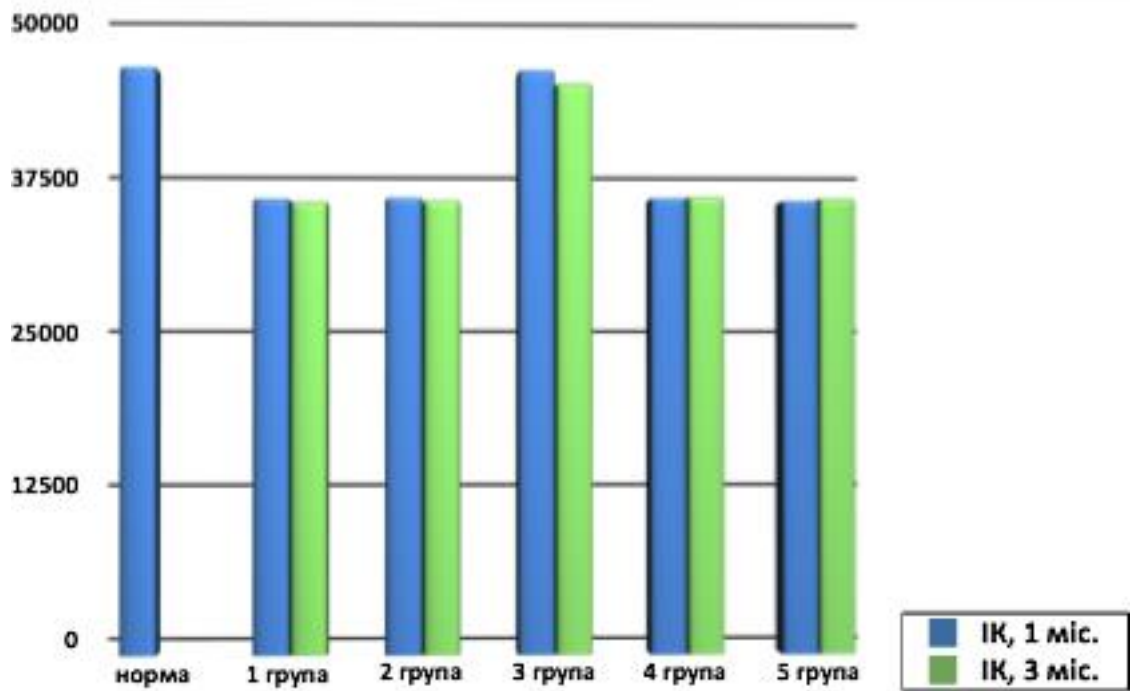


Рис. 3.10. Динаміка індекса Каца за інвазивною методикою в терміни 1 і 3 місяці.

3.5. Особливості біоелектричної активності серця і хронотропна функція серця крис на тлі клітинної кардіоміопластики

Дослідження функціональних властивостей міокарда показало, що зміни з боку ЕКГ виявлялися у тварин вже в першу добу після моделювання ІМ у вигляді змін в морфології шлуночкового комплексу QRS, порушень ритму.

Для статистичного дослідження функції серця ми використовували ЕКГ (рис. 3.11–3.13), для динамічного спостереження протягом тривалого часу – добове моніторування ЕКГ за методом Holter.

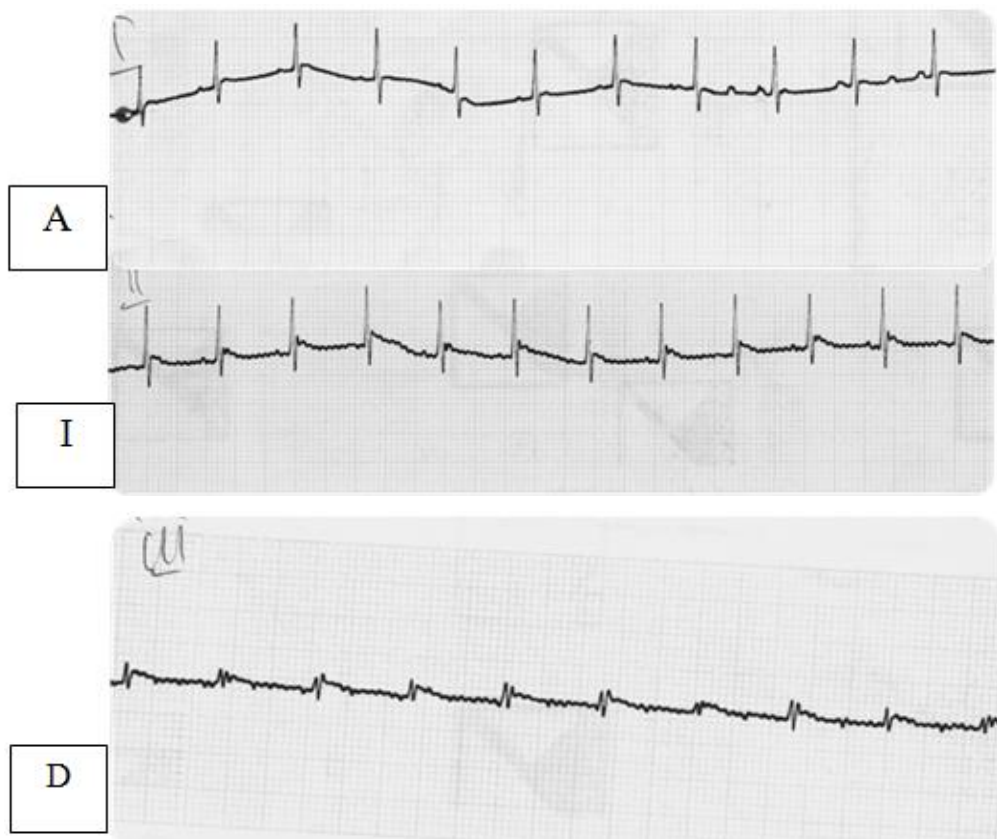


Рис. 3.11. ЕКГ серця здорової криси у відведеннях по Небу.

Слід зазначити, що через добу після моделювання ІМ у крис спостерігалася брадикардія, формування зубця q і зберігалася елевацією сегмента ST, що свідчило про наявність некрозу при поширеному трансмуральному інфаркті міокарда (рис. 3.12).

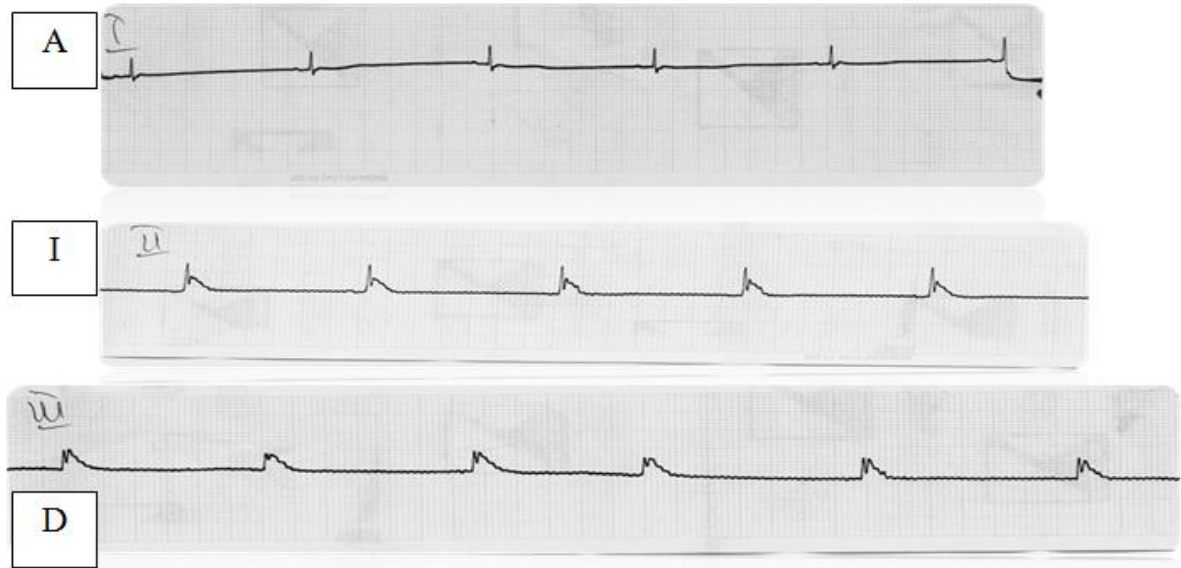


Рис. 3.12. ЕКГ криси через 1 добу після ІМ у відведеннях по Небу.

При порівнянні ЕКГ до моделювання ІМ і через 30 хвилин після перев'язки лівої коронарної артерії реєстрували елевацією сегмента ST- у вигляді кривої Парді, що свідчило про пошкодження міокарда в найгострішій стадії ІМ.

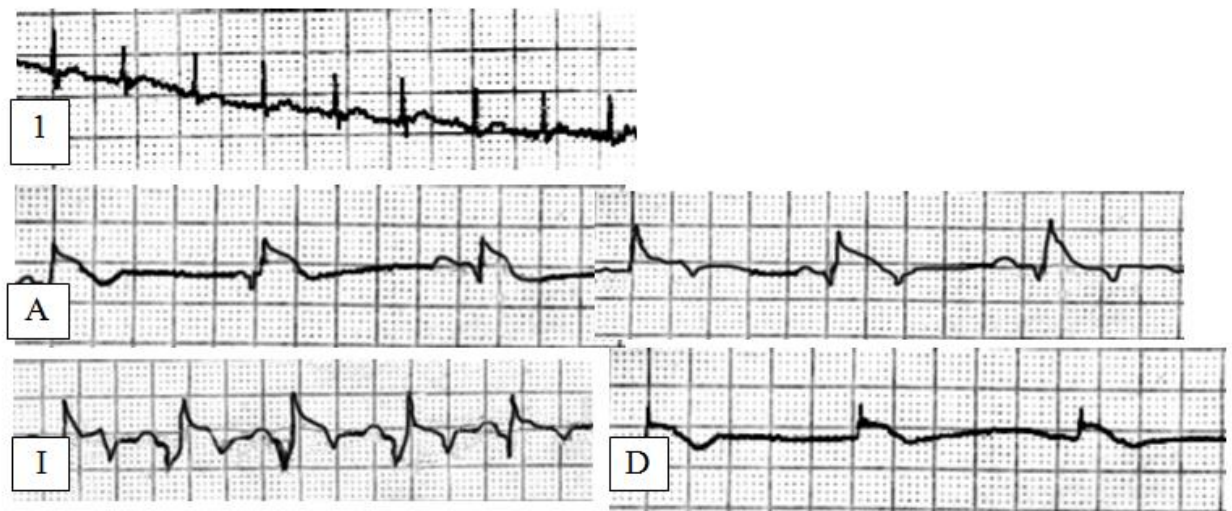


Рис. 3.13. 1 – норма; А, I, D – ЕКГ-динаміка ІМ у відведенні по Небу у криси.

Протягом перших 2-х годин формувалася патологічний зубець Q, який свідчив про наявність некрозу міокарда при гострій стадії інфаркта. Через 10–14 діб формувалася негативний зубець T, а збереження елевації сегмента

ST свідчило про формування гострої аневризми. Через 1 місяць після моделювання ІМ на ЕКГ реєструвалося збільшення амплітуди негативного зубця Т і «розширення» зубця Q, що відображають стадію рубцювання.

Подібну картину ми спостерігали у 40% тварин, у решти 60% зниження піднесеного ST припинялося на певному рівні, не досягнувши ізоелектричної лінії. Така «застигла» електрокардіограма (зазвичай зі сформованим негативним зубцем Т) є електрокардіографічною ознакою аневризми лівого шлуночка.

Надалі при аналізі даних добового моніторингу ЕКГ ми відзначали, що реєстраційні дані, які оцінювалися автоматично за допомогою програми, слід з обережністю сприймати і довіряти лише ручному перерахунку в зв'язку з тим, що деякі комплекси програма пропускала (рис. 3.14) через високу частоту серцевих скорочень у крис (більше 260 ± 60 за хв).

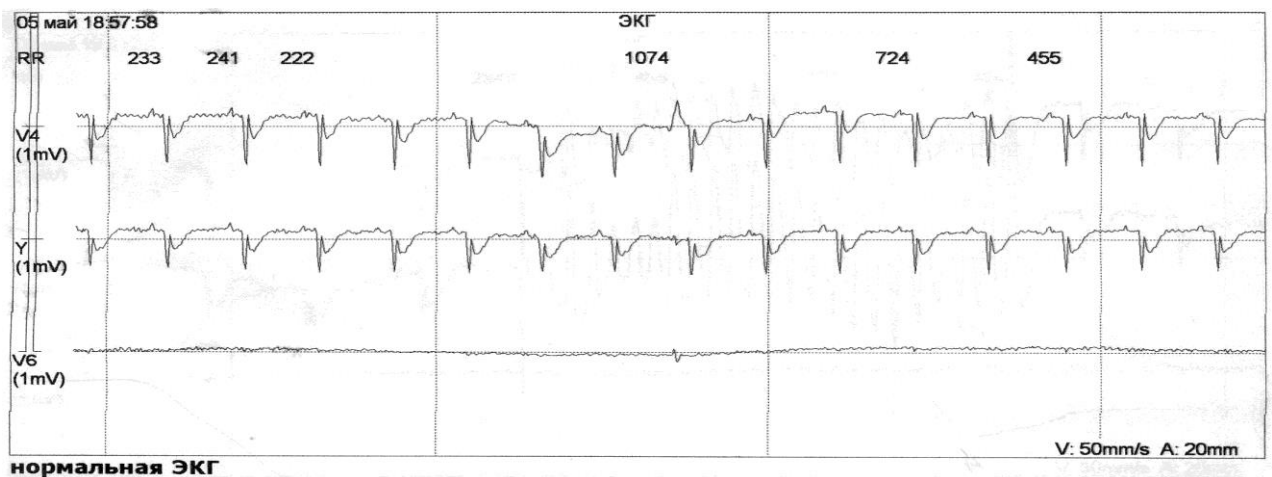


Рис. 3.14. Нормальна картина ЕКГ криси.

Через 7 діб після моделювання ІМ в 1-й групі тварин відзначалася монотопна шлуночкова бігемінія (рис. 3.15).

До 14 доби були присутні порушення ритму у вигляді шлуночкових екстрасистол (рис. 3.16) і абберантних надшлуночкових екстрасистол (НЕ).

До 30-ї доби після моделювання ІМ спостерігалися порушення провідності: часті АВ-блокади 2 ступеня типу Мобіц 1 (рис. 3.17).

Таким чином, за даними електрокардіографічного моніторингу в

групі крис з ІМ спостерігалися життєзагрожуючі аритмії, що призвели в 2 випадках до летальних наслідків.



Рис. 3.15. Кардіограма серця у криси 1 групи через 7 діб після моделювання ІМ.

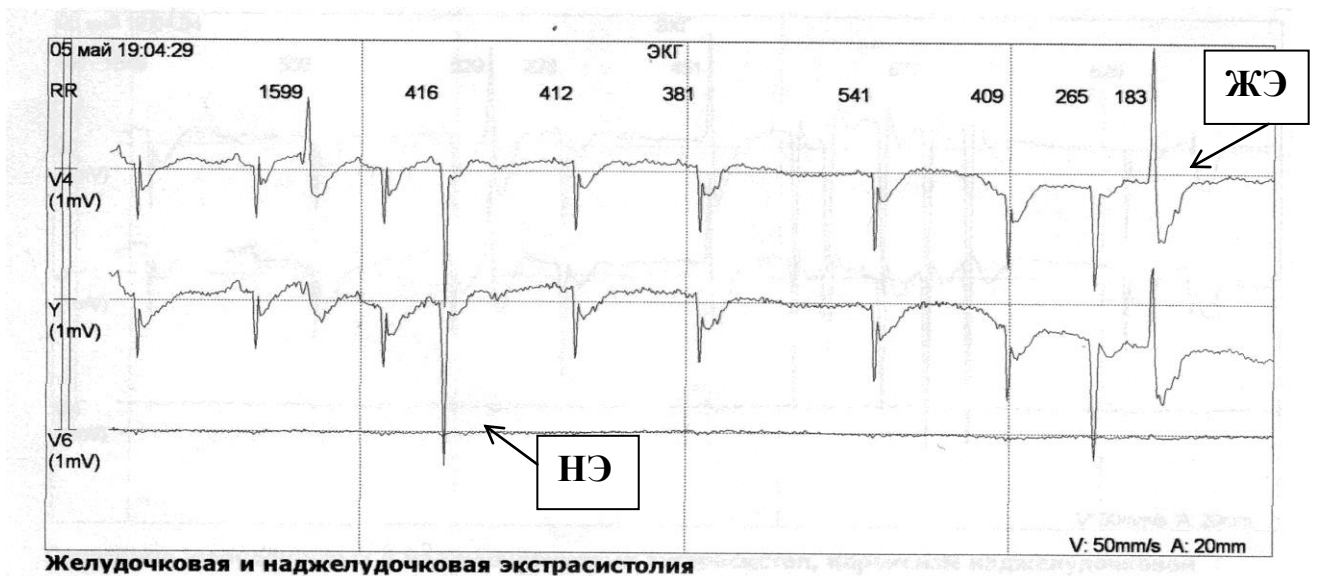


Рис. 3.16. Кардіограма серця у криси 1 групи через 14 діб після моделювання ІМ.

У інтактних тварин ЧСС в стандартних умовах становила (485 ± 43) уд./хв. При моделюванні ураження міокарда цей показник знижувався до $(142,5 \pm 78,9)$ уд./хв., а вже через 2 години дорівнював $(270 \pm 100,25)$ уд./хв.

Через тиждень після моделювання інфаркту міокарда у тварин 1-ї групи досліджуваний показник діяльності серцево-судинної системи був значно вище – (541 ± 19) уд./хв. Дослідження базового рівня ЧСС через два тижні після моделювання інфаркту міокарда статистично достовірних ($p < 0,05$) відмінностей з показниками інтактних тварин не виявили – (503 ± 23) уд./хв.

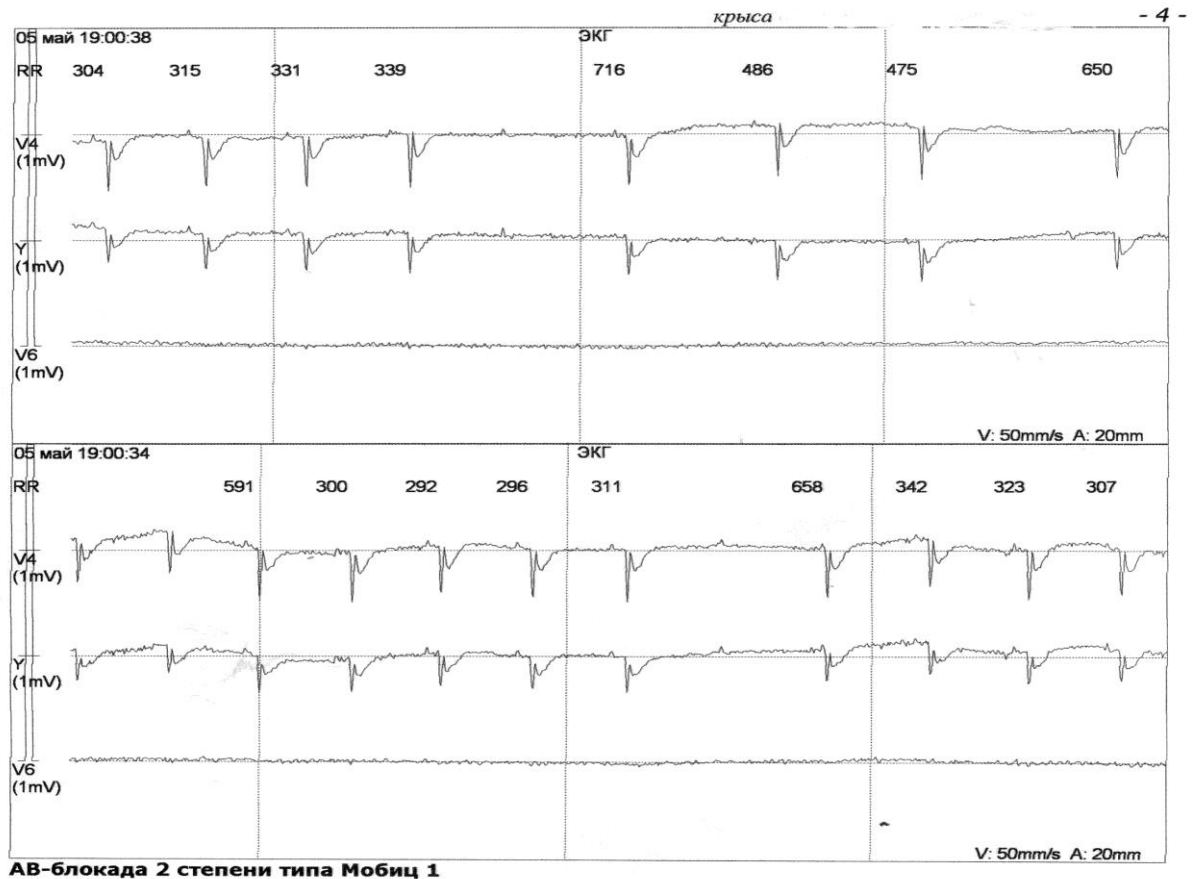


Рис. 3.17. ЕКГ криси 1-ї групи через 30 діб після моделювання ІМ.

При моделюванні стресового навантаження у тварин всіх груп спостерігався позитивний хронотропний ефект, при цьому вираженість останнього значно відрізнялася у тварин різних груп. Так, у інтактних крис на першій хвилині навантаження ізопропілнорадреналіном абсолютний приріст склав близько 32 уд./хв. На тлі високого базового рівня ЧСС тварин другої групи стрес-обумовлений приріст склав 11 уд./хв. У тварин третьої групи аналогічний показник склав 22 уд./хв. (табл. 3.12, рис. 3.18).

Таблиця 3.12

Показники хронотропної функції серця при стрес-імітуючому навантаженні

Група	Вихідна ЧСС	Мах ЧСС	Приріст ЧСС	Остаточна ЧСС
Норма	485±43	517±35	32	490±23
1(n= 10)	503±23*	525±15*	22*	495±12
2(n= 10)	507±18 _α	522±11 **	24 **	510±13**
3(n= 10)	489±11*	526±8 **	38* **	494±10**
4(n= 10)	482±14	528±9 **	39* **	499±15 **
5(n= 10)	501±16 **	527±7 **	28**	503±11**

Примітки: * – достовірність відмінностей між досліджуваним показником і попередніми даними ($p < 0,05$); ** – достовірність відмінностей між досліджуваним показником і нормою ($p < 0,05$).

Вже до третьої хвилині експерименту спостерігалось зниження ЧСС у всіх груп тварин зі стабілізацією на рівні 490–495 уд./хв.

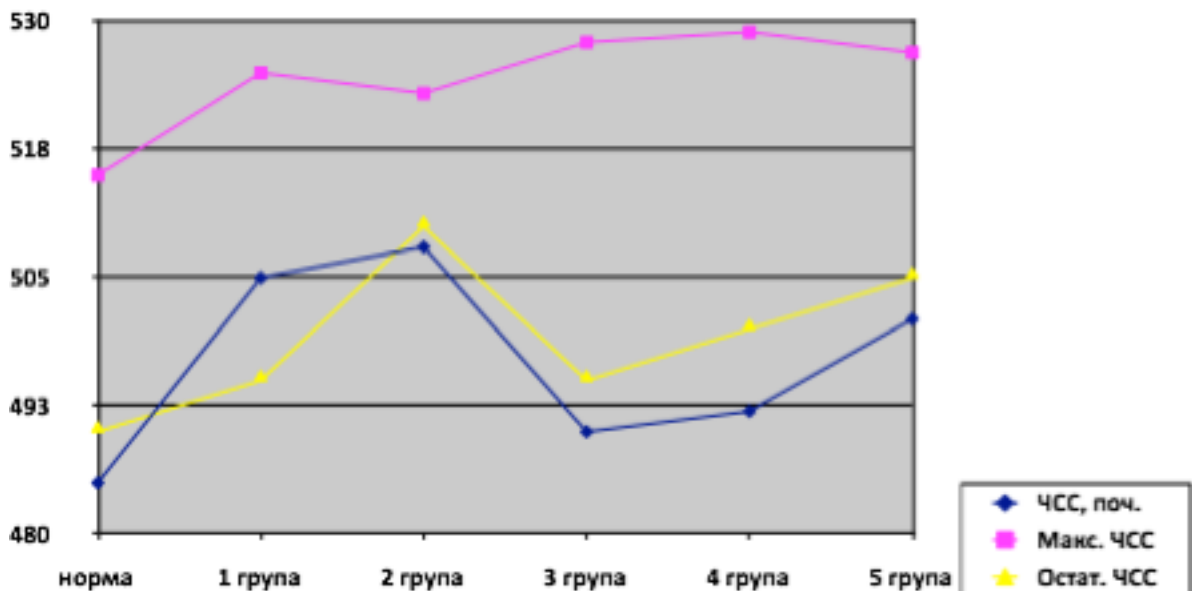


Рис. 3.18. Динаміка показників ЧСС в різних групах під час проведення тест-навантаження.

Як свідчать дані, наведені на рисунку 3.18, якісна реакція серця на стрес-імітуюче навантаження в різних групах тварин була однаковою, проте, при нормі +32 уд./хв. дані максимального приросту були найбільш наближені до норми в групах 3, 4 і 5, і складали +38, 39 і 28 відповідно. У групах 1 та 2 приріст склав лише +22 і +24. Таким чином, в групах крис з ІМ без лікування і «порожніми» ін'єкціями в міокард компенсація необхідного кровообігу неможлива, не зважаючи на стрес, що і проявляється клінікою серцевої недостатності.

3.6. Результати гістологічного дослідження

3.6.1. Морфологічні зміни в осередку інфаркта міокарда у тварин без лікування в різні терміни експерименту

Експериментальне моделювання гострого ІМ в поєднанні з сучасними і класичними методами дослідження незамінне у рішенні проблеми для розуміння патоморфологічних механізмів розвитку даного захворювання у людей і розробки нових способів його лікування. Лігування передньої міжшлуночкової артерії у лабораторних тварин призводило до утворення послідовних змін, які нагадують картину гострого ІМ у людини. До кінця 1-ї доби після моделювання гострого ІМ в зоні ішемії спостерігалися всі ознаки, характерні для стадії альтерації при запальній реакції, яка супроводжується набуханням і набряком кардіоміоцитів, при цьому з'являлися перші ознаки дистрофії і початкові дегенеративні ознаки. Кардіоміоцити починали втрачати свою поперечну очерченість, в інтерстиціальній тканині і між м'язовими волокнами з'являлися клітинні інфільтрати, які містили нейтрофіли, моноцити і лімфоцити. В судинах мікроциркуляторного русла спостерігався стаз клітин крові, крововиливи і лейкоцитарна інфільтрація. Чітких меж некрозу в даний період не спостерігалось.

До 3–4 доби захворювання відзначалося продовження класичної запальної реакції у вигляді інфільтрації зони пошкодження тканинними

макрофагами, лейкоцитами і лімфоцитами, також виявлялося утворення грануляційної тканини у вигляді бар'єру навколо зони пошкодження, де відзначалися явища міоцитоліза. На рисунку 3.19 продемонстрований свіжий коагуляційний некроз міокарда з вираженим перифокальним запаленням на 3 добу експерименту.

Одночасно з цим спостерігалася підвищена активність стромального компонента у вигляді проліферації клітин строми і активації ендотеліоцитів. З'являлися явища формування рубця у вигляді синтезу колагену без утворення колагенових волокон. Короткі товсті колагенові структури були орієнтовані правильно. ІМ прогресував в результаті периферичного міоцитоліза, що значно розширювало зону ураження. У позаінфарктній зоні спостерігався набряк кардіоміоцитів і формування складжу еритроцитів в капілярах.

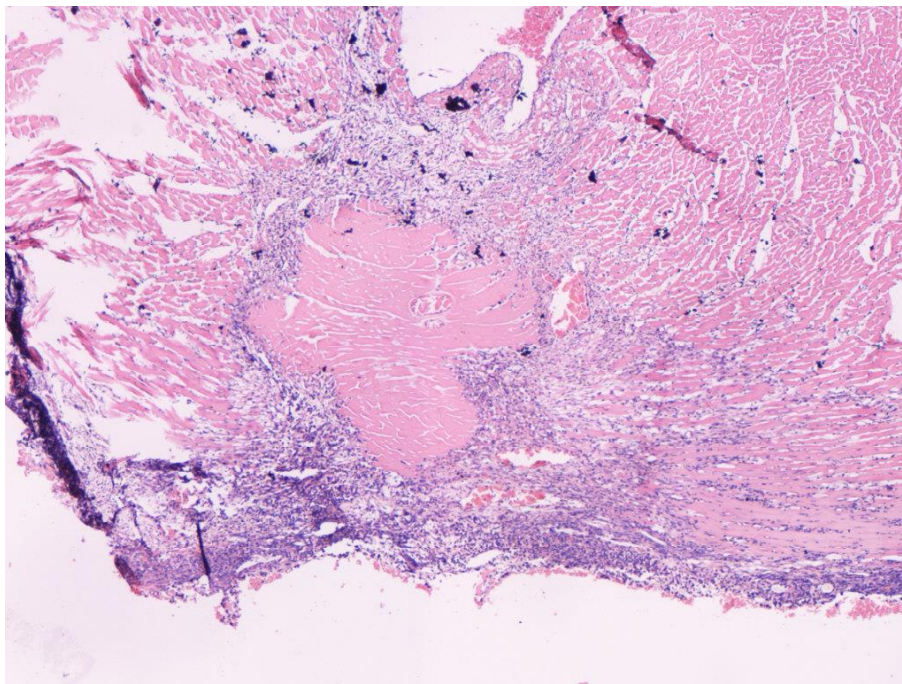


Рис. 3.19. Коагуляційний некроз міокарда у криси без лікування на 3 добу після перев'язки передньої міжшлуночкової артерії. Зabarвлення гематоксиліном і еозином, x10.

До 7 діб перебігу патологічного стану визначалася організація інфаркта. У зоні пошкодження спостерігалися окремі острівці

кардіоміоцитів, які зазнали міоцітолізу. Процес інфільтрації зменшувався, в зоні пошкодження було набагато менше макрофагів, лейкоцитів, лімфоцитів, ніж на 3–4 добу. М'язові клітини починали піддаватися резорбції, очевидно, за рахунок фагоцитозу і виділення лізосомальних ферментів. Спостерігалися початкові етапи формування сполучної тканини в зоні пошкодження. У товщі формувалася сполучна тканина, виявлялися множинні молоді тонкостінні судини і фібробласти. Слід підкреслити, що проліферативна реакція з боку сполучної тканини виникала саме в той період, коли замість гранулоцитів в міокарді починали переважати мононуклеарні клітини (моноцити, макрофаги і лімфоцити). У центральних ділянках некротичної області відбувалася побудова колагенових волокон. Поза зоною ушкодження спостерігалось функціональне навантаження і інтрацелюлярний набряк кардіоміоцитів.

До 21-ї доби процес інфільтрації закінчувався і тканинні макрофаги, лейкоцити і лімфоцити визначалися тільки в периваскулярному просторі. У зоні пошкодження відбувалося активне формування і структуризація рубцевої сполучної тканини, колагенових волокон і невеликої кількості окремих еластичних волокон. У сполучній тканині відзначали велику кількість судин синусоїдного типу з тонкою, легко розтягуємою стінкою. Патологічні процеси захоплювали не тільки зону некрозу, а й кардіоміоцити в прикордонній області, де відзначався інтерцелюлярний набряк. Набряк провокувався ситуацією «no reflow», коли в зоні, яка знаходилася поза перев'язки, порушувався кровотік, оскільки судини здавлювалися кардіоміоцитами. В такому випадку існувала висока ймовірність повторного інфаркту в інтактній зоні.

До 30–35 доби в зоні некрозу формувалася рубцева тканина. Сполучна тканина містила судини синусоїдного типу. У прикордонній зоні спостерігалися ознаки прогресуючого периферичного пошкодження міокарда: інфільтрація, активація стромального компонента, формування грануляційної тканини. У позаінфарктній зоні відбувалося функціональне навантаження і набряк кардіоміоцитів. У деяких випадках спостерігали периваскулярно розташовані острівці м'язових волокон.

Таким чином, у тварин з модельованим ІМ без лікування формувалася великий рубець, який поширювався на всі пласти міокарда і за своїми властивостями нагадував картину трансмурального ІМ у людини (рис. 3.20).

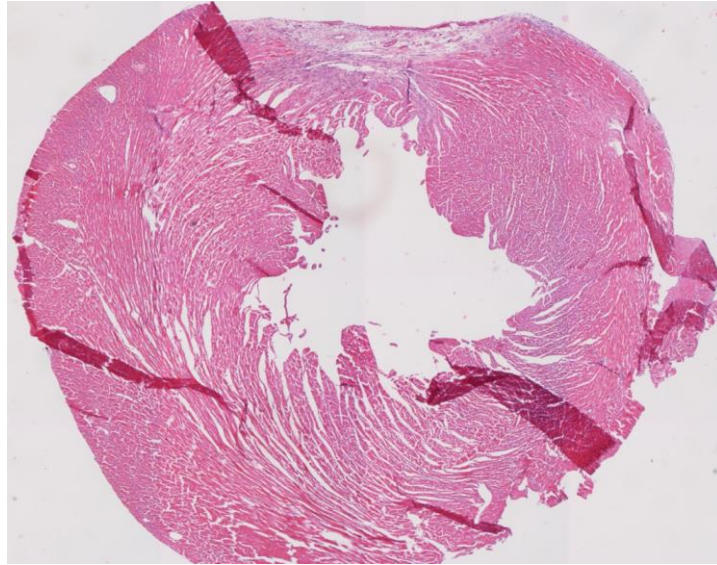


Рис. 3.20. Ділянка міокарда, яка рубцюється, на верхівці лівого шлуночка на 30 добу експерименту у криси без лікування. Визначається великий рубець з формуванням аневризми. Забарвлення гематоксиліном і еозином, х5.

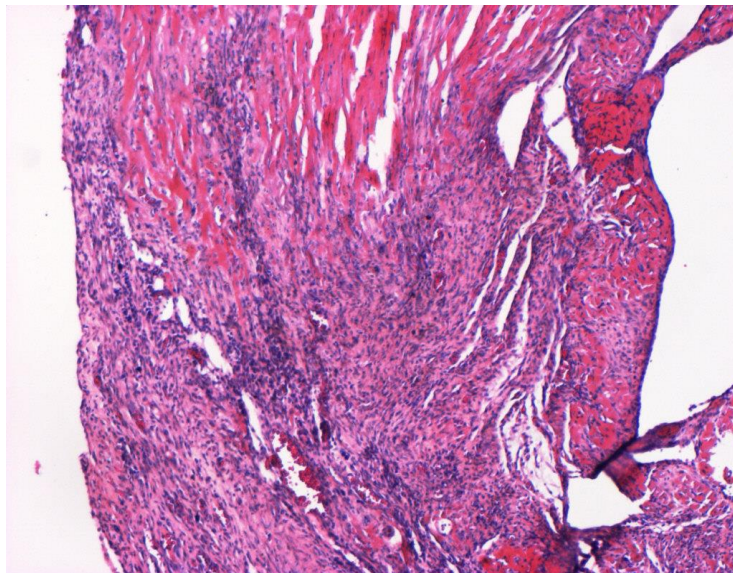


Рис. 3.21. Ділянка міокарда, який рубцюється, на 30 добу експерименту у криси без лікування. Визначається великий рубець на місці трансмурального інфаркту з формуванням аневризми. Забарвлення гематоксиліном і еозином, х30.

З огляду на те, що експериментальний ІМ у крис супроводжувався хірургічним втручанням у вигляді прошивання і перев'язки коронарної судини, у деяких тварин спостерігався перикардит як наслідок розрізу перикарда і асептичне запалення як реакція на стерильний шовний матеріал в місці перев'язки (рис. 3.21). Відповідно, якщо в зону прошивання потрапляв епікардіальний шар міоцитів, спостерігався коагуляційний некроз в зоні лігатури.

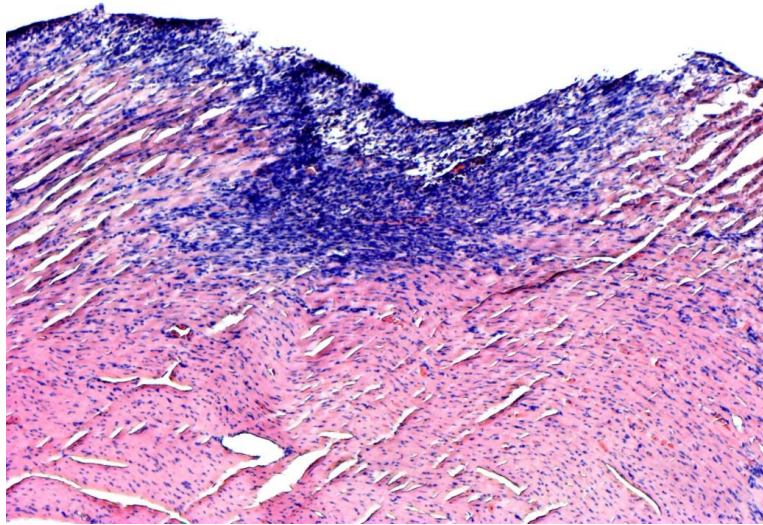


Рис. 3.22. Осередок коагуляційного некрозу в місці накладення лігатури. Відсутність смугастості м'язових волокон, гемоліз еритроцитів в капілярах. Забарвлення гематоксилін і еозин. х40.

При імуногістохімічному фарбуванні на актин і тропонін Т найбільш яскраво візуалізувалася тотальна загибель м'язових волокон в зоні рубцювання. На 30 день захворювання стінка ділянки, яка рубцювалася, була повністю представлена сполучною тканиною. При цьому в усі терміни знаходили проліферуючі клітини сполучної тканини і судинної стінки, що свідчило про те, що на даний термін ще тривають процеси неповної регенерації і ремоделювання (рис. 3.23–3.25). Також звертало на себе увагу безліч судин синусоїдного типу в ранні терміни після інфаркту, які пізніше набували стінку, але їх просвіт залишався широким.

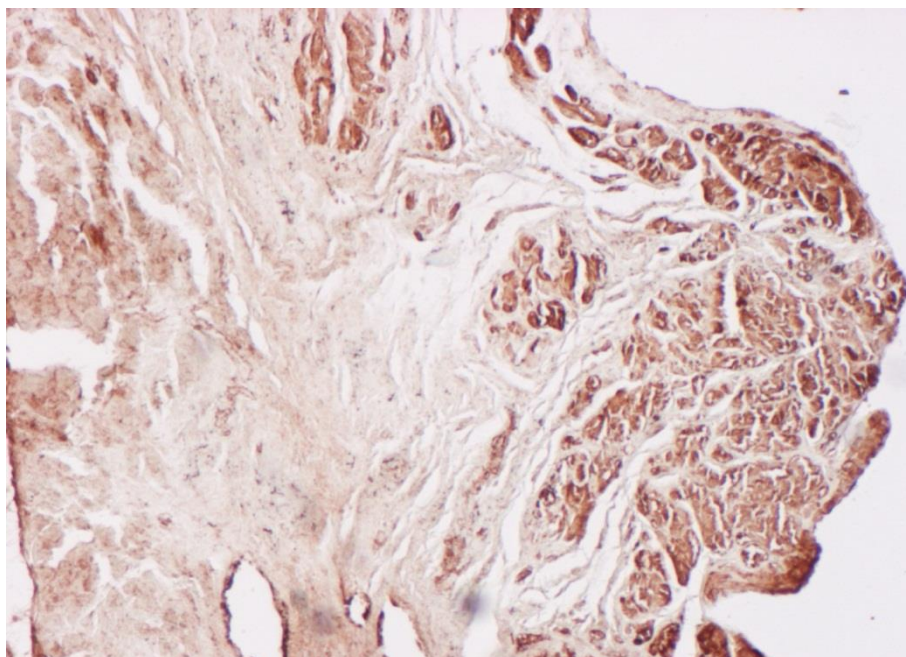


Рис. 3.23. Ділянка міокарда, який рубцюється, на 30 добу експерименту у криси без лікування. Великий рубець зі збереженням одиночних пучків м'язових волокон в субепікардіальних відділах. ІГХ-Забарвлення з антитілами до тропонину Т, х30.

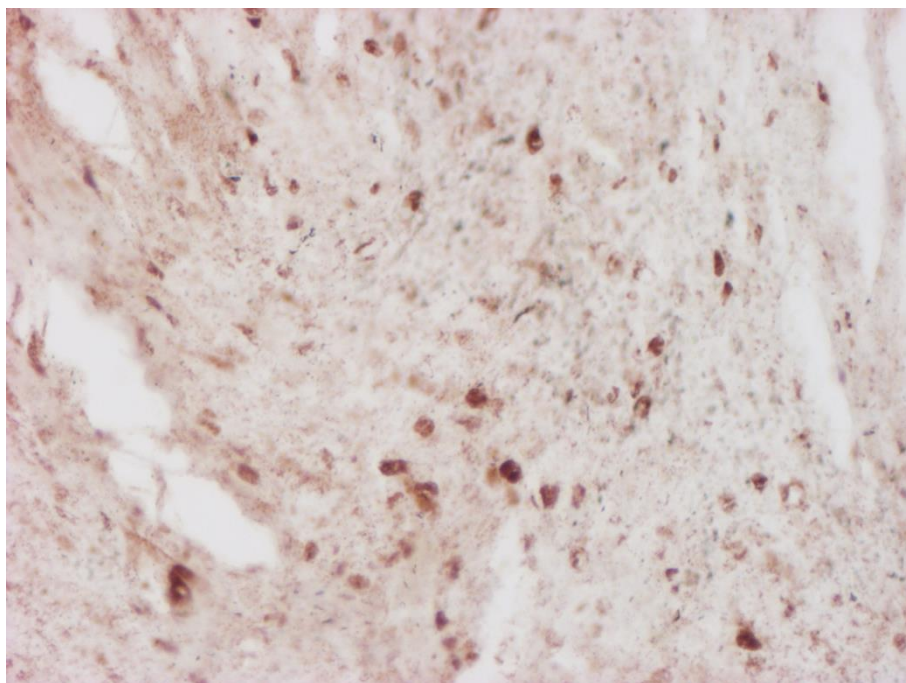


Рис. 3.24. Ділянка міокарда, який рубцюється, на 30 добу експерименту у криси без лікування. Великий рубець з великою кількістю клітин сполучної тканини, яка проліферує. ІГХ-Забарвлення з антитілами до PCNA, х150.

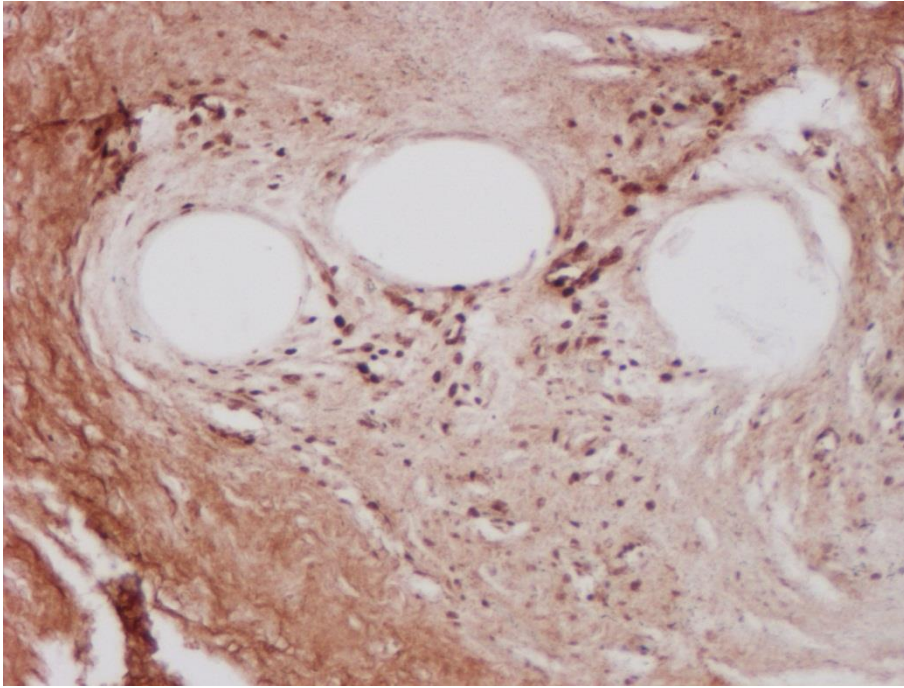


Рис.3.25. Ділянка міокарда, який рубцюється, на 30 добу експерименту у криси без лікування. Активна проліферація клітин сполучної тканини навколо судин. ІГХ-забарвлення з антитілами до PCNA, x75.

3.6.2. Морфологічні зміни в ділянці інфаркту міокарда у тварин з різними видами кардіоміопластики в різні терміни експерименту

Під час гістологічного дослідження вивчалася кількість сполучної тканини, судин і їх якісна характеристика, а також відсоток збереженої маси міокарда і хоумінг МСК.

Слід зазначити, що вже при якісному морфологічному дослідженні після трансплантації аутологічних МСК визначалася істотна відмінність морфологічної картини в пошкодженій ділянці. Перш за все, в ділянці інфаркту спостерігали чередування ділянок м'язів, які збереглися, і полів рубцевої тканини. Дані зміни підтверджувалися тим, що в жодному випадку після трансплантації МСК ми не спостерігали формування аневризм (рис. 3.26). При імуногістохімічному забарвленні на актин і тропонін Т найбільш чітко визначалося чередування ділянок м'язів, які збереглися, і полів рубцевої тканини (рис. 3.26, 3.27).

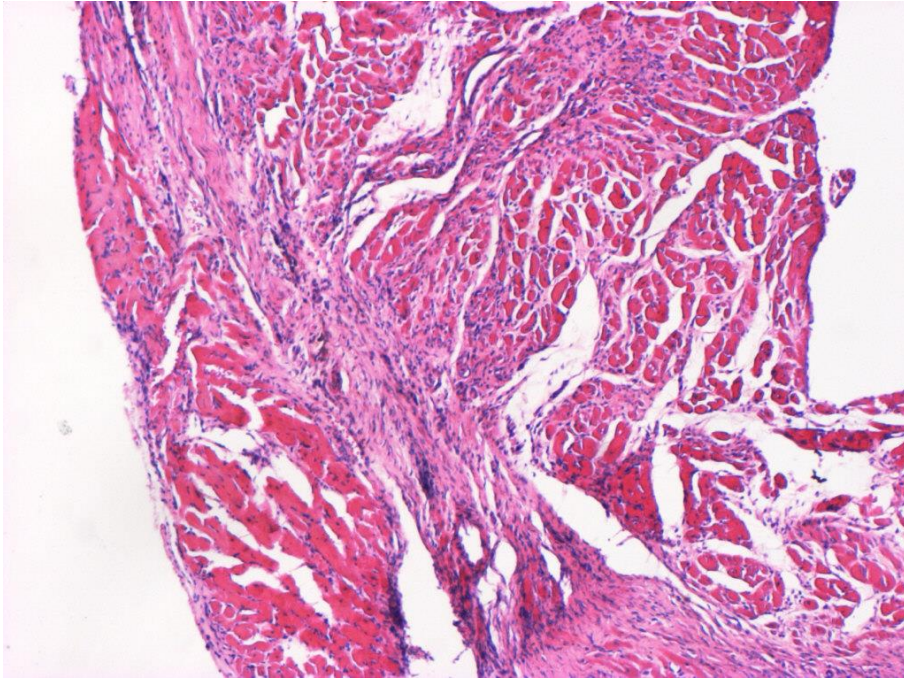


Рис. 3.26. Ділянка міокарда, який рубцюється на 30 добу експерименту у криси після трансплантації «потенційованих» МСК на 7 добу після моделювання ІМ. Рубець на місці інтрамурального інфаркту. Забарвлення гематоксиліном і еозіном, x10.

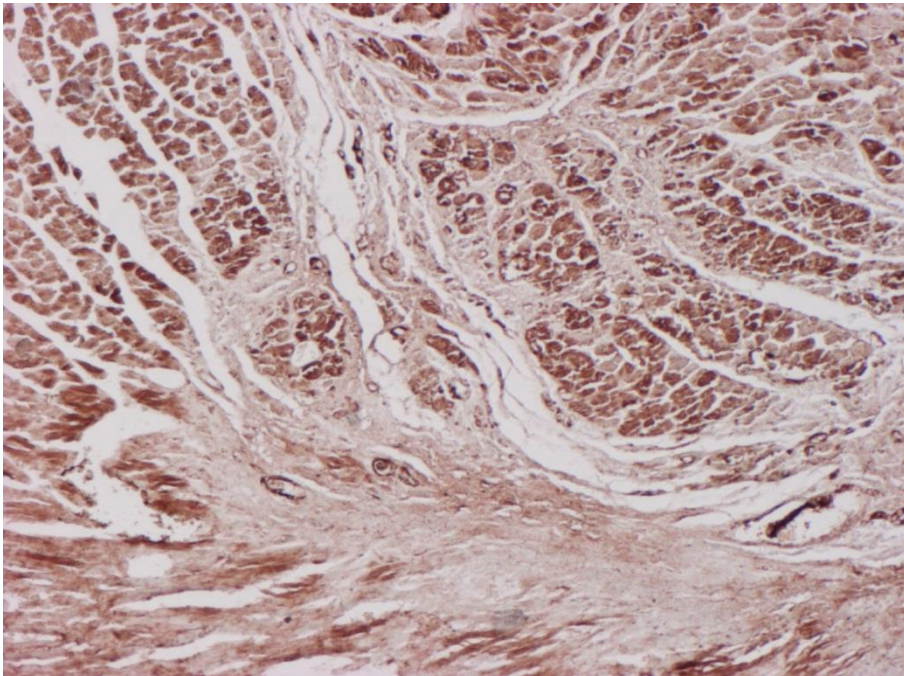


Рис. 3.27. Ділянка міокарда, який рубцюється на 30 добу експерименту у криси після трансплантації МСК. Рубець на місці інтрамурального інфаркту. ІГХ-забарвлення з первинними антитілами до тропонину Т, x30.

Крім того, починаючи з 21 доби ми візуалізували тільки поодинокі проліферуючі клітини в рубці, що свідчило про завершеність процесу рубцювання на даний термін. Крім того, привертав увагу різний стан судин у тварин, які отримували і не отримували лікування (рис. 3.28). У тварин після трансплантації МСК судин було більше на одиницю площі, їх просвіт був менше, вони мали добре сформовану стінку.

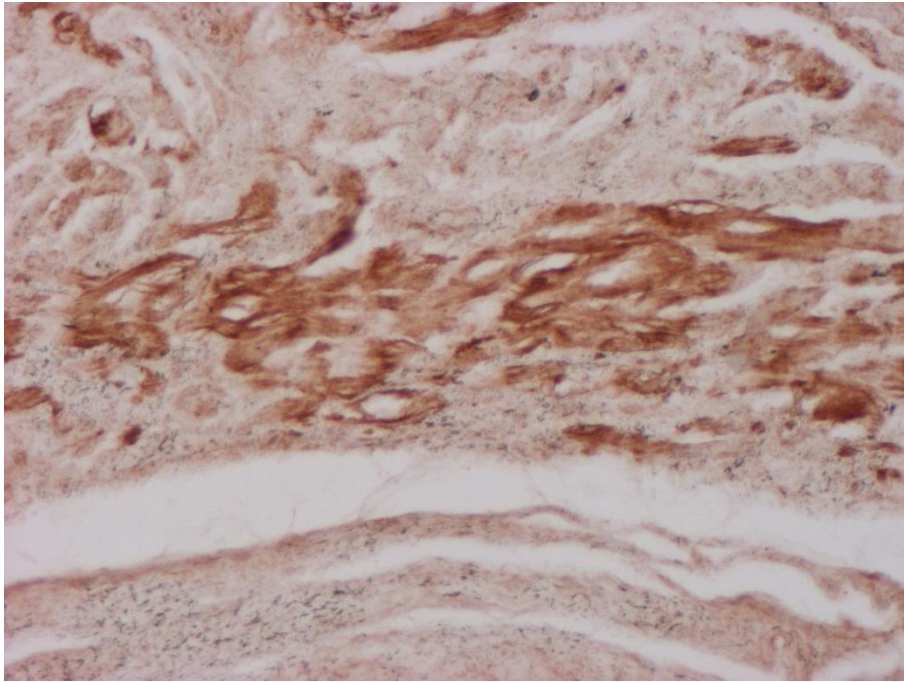
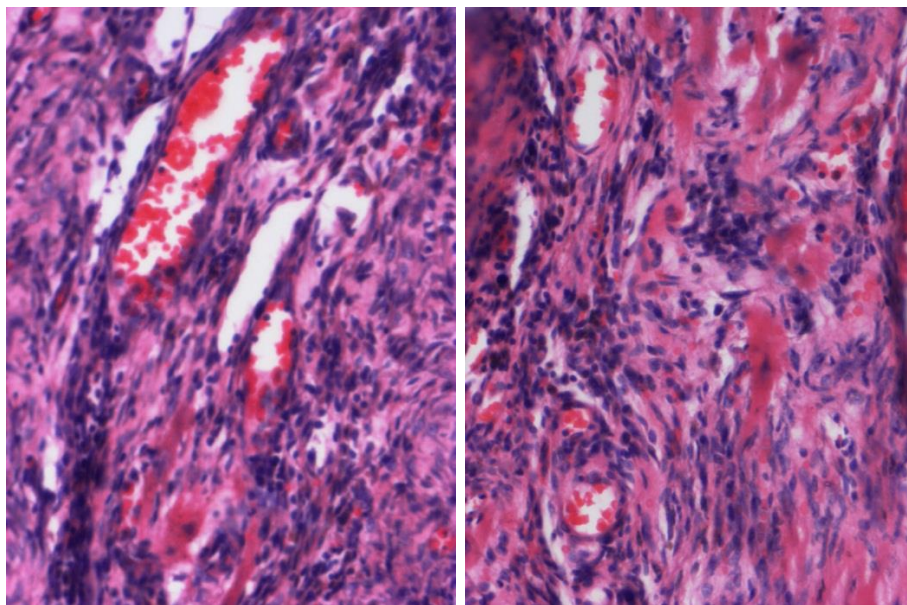


Рис. 3.28. Ділянка міокарда, який рубцюється, на 30 добу експерименту у криси після трансплантації МСК. Чергування збережених пучків кардіоміоцитів і рубцевої тканини. ІГХ-зabarвлення з первинними антитілами до актину, x150.

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 МСК. При фарбуванні тканин самок, яким трансплантацію не виконували, ми не спостерігали ніякого забарвлення при використанні проб до Y-хромосоми (рис. 3.29, 3.30), але контрольне забарвлення 12 хромосоми було позитивним як у самок, так і у самців (рис. 3.31–3.33). Клітини з Y-хромосомою ми виявляли серед ендотеліальних клітин, в стінці судин, які формуються, і серед фібробластів рубця

(рис. 3.34–3.40). У сусідніх з рубцем пучках міокарда не виявлялися позитивні клітини.



Без лікування

Трансплантація МСК

Рис. 3.29. Порівняння судин у тварин без трансплантації і після трансплантації. Забарвлення гематоксиліном і еозином, x300.

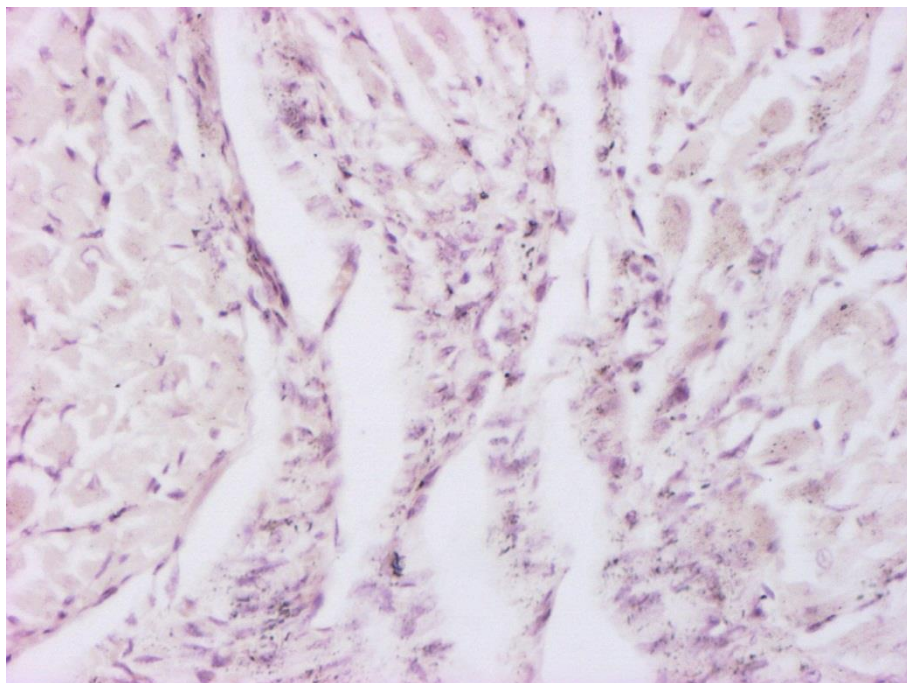


Рис. 3.30. Препарат ЛШ криси без трансплантації. Клітини в рубці не містять Y-хромосому. Гібридизація *in situ* з маркером до Y- хромосоми, x150.

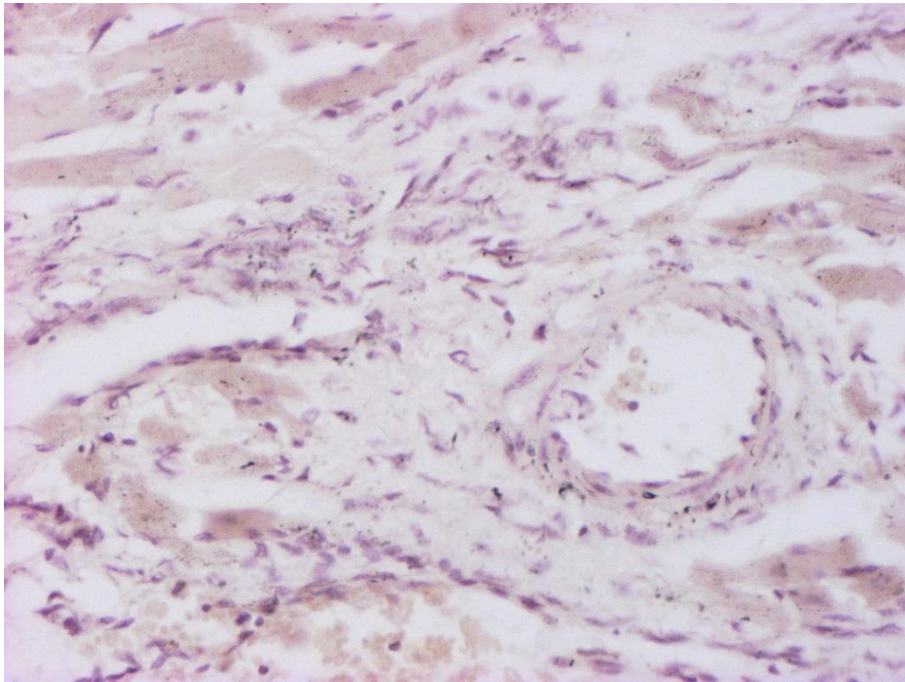


Рис. 3.31. Препарат ЛШ криси без трансплантації. Клітини в рубці і стінках судин не містять Y-хромосоми. Гібридизація *in situ* з маркером до Y-хромосоми, x150.

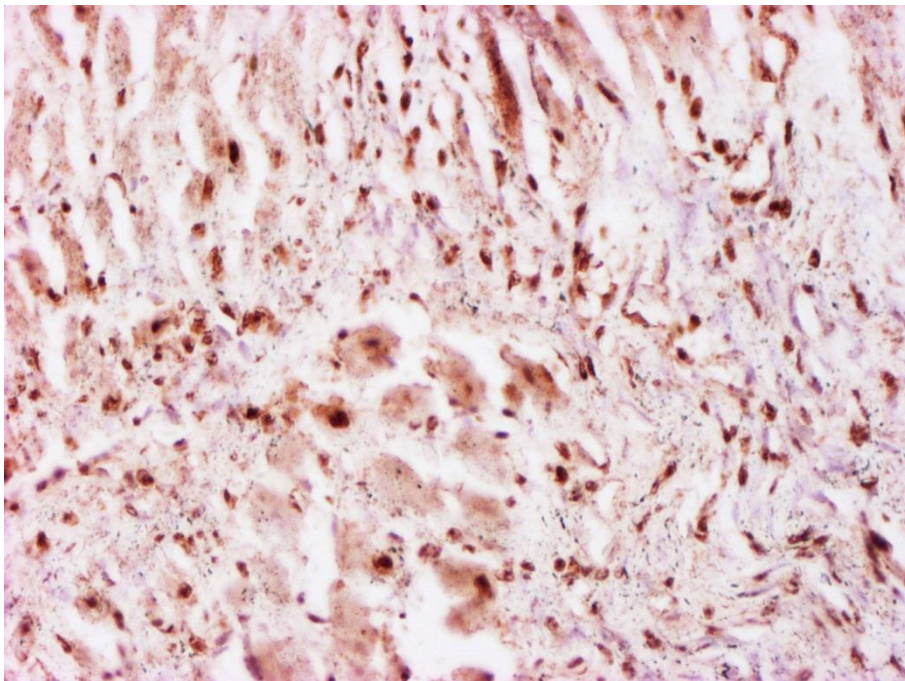


Рис. 3.32. Позитивний контроль (12 хромосома) в міокарді криси після трансплантації МСК на 30 добу. Гібридизація *in situ* з маркером до 12 хромосоми, x150.

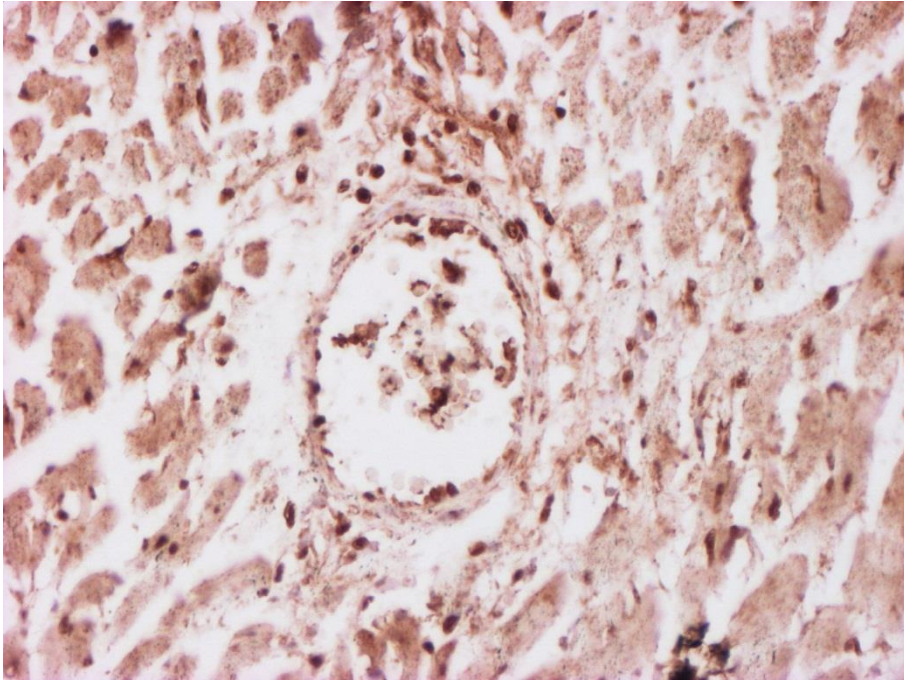


Рис. 3.33. Позитивний контроль (12 хромосома) в міокарді криси після трансплантації КМСК на 30 добу. Гібридизація *in situ* з маркером до 12 хромосоми, x150.

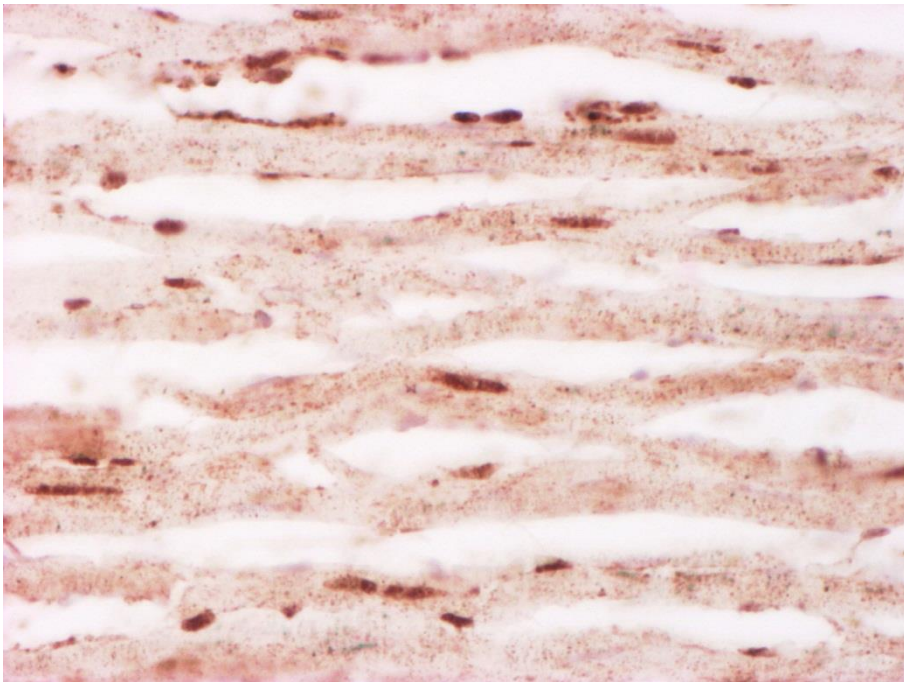


Рис. 3.34. Позитивний контроль (12 хромосома) в міокарді криси після трансплантації МСК на 30 добу. Гібридизація *in situ* з маркером до 12 хромосоми, x270.

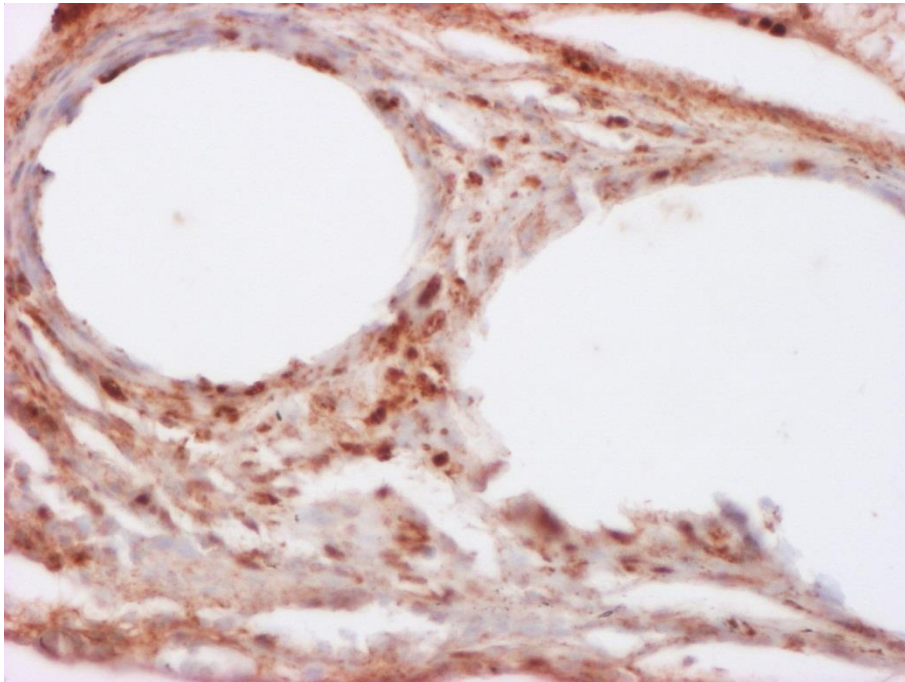


Рис. 3.35. Клітини, які містять Y-хромосому, в стінках судин і сполучної тканини навколо них у криси-самки на 30 день після трансплантації МСК. Гібридизація *in situ* з маркером до Y-хромосоми, x180.

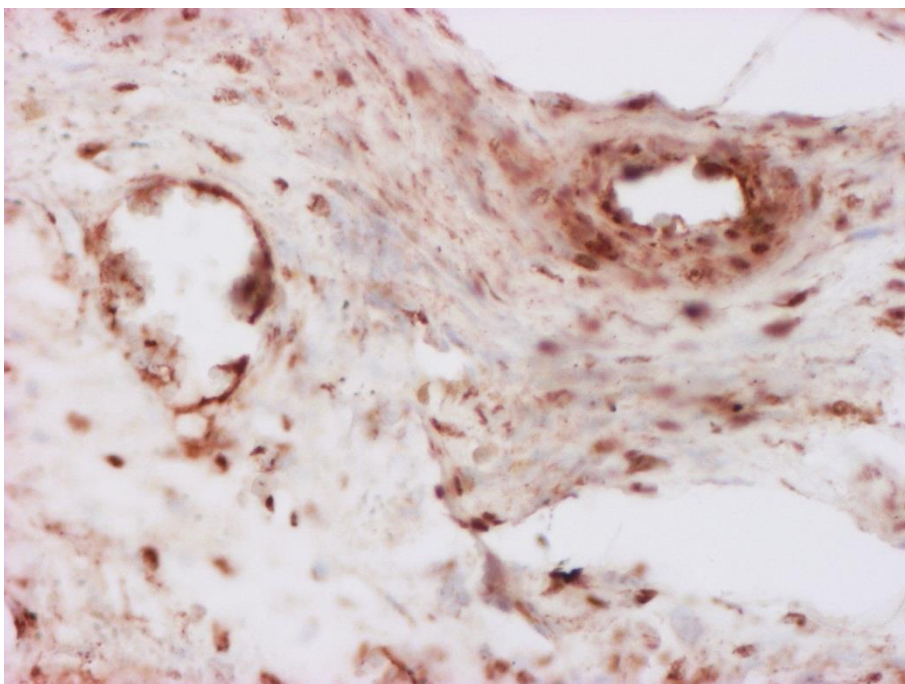


Рис. 3.36. Клітини, які містять Y-хромосому, в стінках судин і сполучної тканини навколо них у криси-самки на 30 день після трансплантації МСК. Гібридизація *in situ* з маркером до Y-хромосоми, x300.

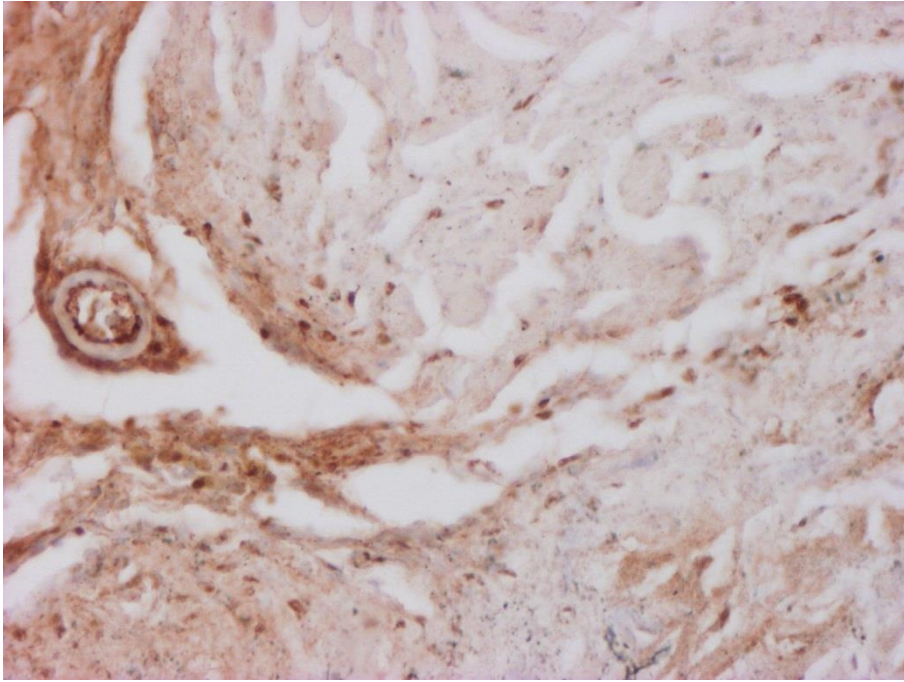


Рис. 3.37. Клітини, які містять Y-хромосому, в стінках судин і сполучної тканини між м'язами у криси-самки на 30 добу після трансплантації МСК. Гібридизація *in situ* з маркером до Y- хромосоми, x150.

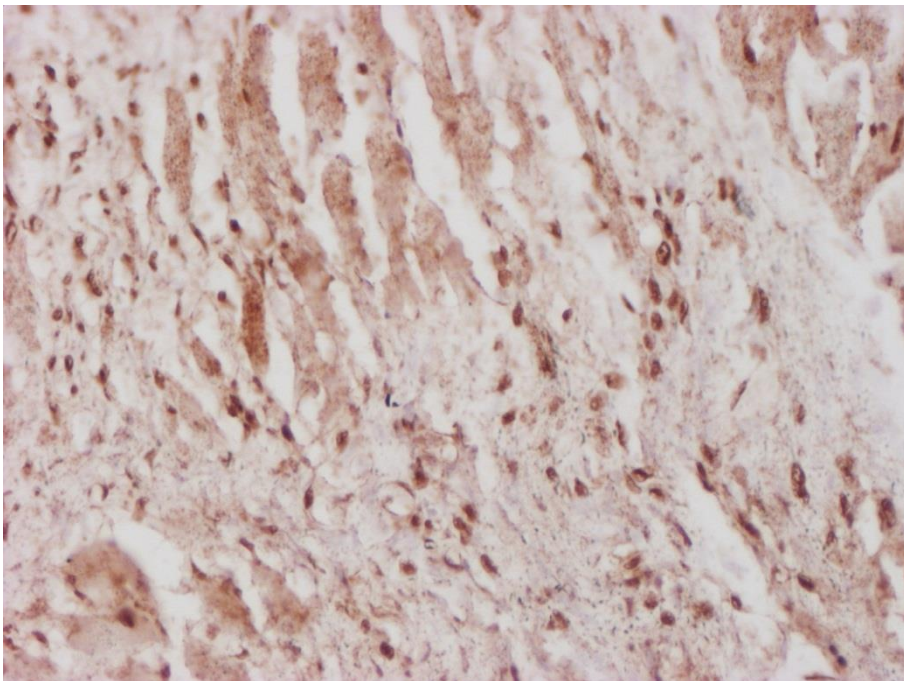


Рис. 3.38. Клітини, які містять Y-хромосому, в сполучної тканини у криси-самки на 30 добу після трансплантації МСК (Таке ж поле зору, яке на малюнку 5.13). Гібридизація *in situ* з маркером до Y- хромосоми, x150.

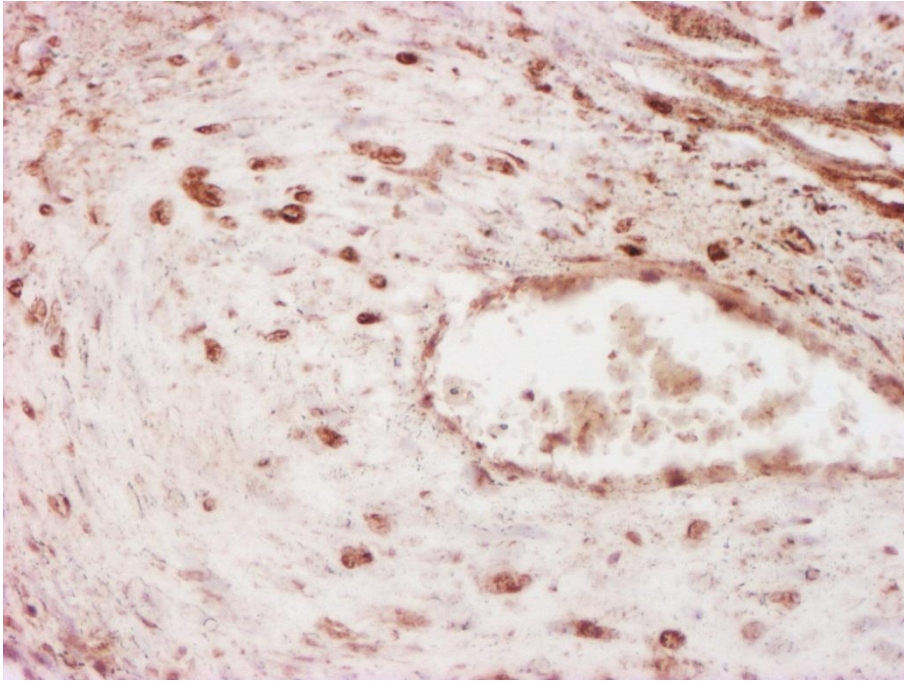


Рис. 3.39. Клітини, які містять Y-хромосому, в сполучній тканині у криси-самки на 30 добу після трансплантації МСК. Гібридизація *in situ* з маркером до Y-хромосоми, x150.

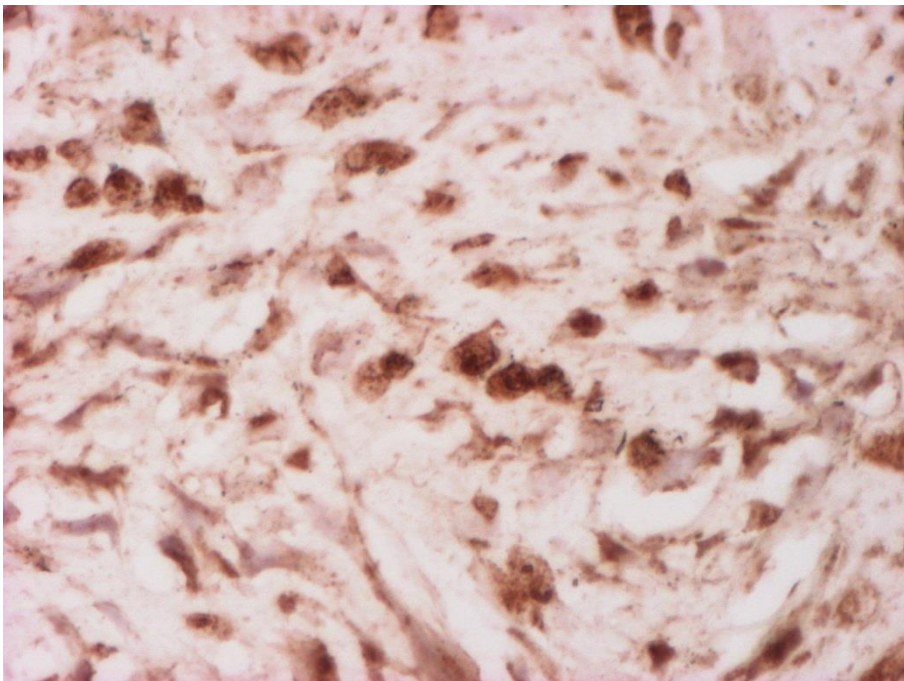


Рис. 3.40. Клітини, які містять Y-хромосому, в сполучній тканині у криси-самки на 30 добу після трансплантації МСК. Гібридизація *in situ* з маркером до Y- хромосоми, x300.

3.6.3. Морфометричні дослідження інфаркту міокарда у тварин після різних видів клітинної кардіоміопластики

Для кількісного аналізу стану рубця було виконане морфометричне дослідження. Оскільки ділянка інфаркту захоплювала певний сектор цього кільця, то теоретичну первісну площу ділянки інфаркту визначали шляхом ділення площі всього кільця на питомий об'єм інфарцированої ділянки по відношенню до всієї площі кільця. Після цього обчислювали питомий обсяг рубця шляхом ділення його площі в зрізі на теоретичну первісну площу. Також морфометрично обчислювали питомий об'єм сполучної тканини і судин в рубці.

Обчислювали площу ділянки інфаркту (шляхом ділення площі всього кільця на питомий об'єм інфарцированої ділянки по відношенню до всієї площі кільця), питомий об'єм рубця шляхом ділення його площі в зрізі на теоретичну первісну площу, питомий об'єм сполучної тканини і судин в рубці (рис. 3.41–3.43).

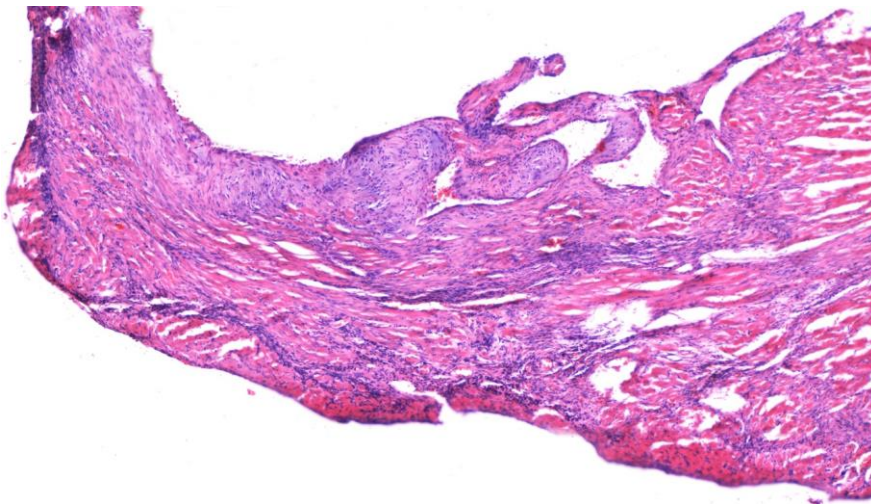


Рис. 3.41. Інфаркт міокарда. 30 доба після введення потенційованих стовбурових клітин.

Як свідчать наведені в таблиці 3.13 дані, в 3-й, 4-й і 5-й групах крис після трансплантації МСК практично за усіма вивчаємими показниками було досягнуто істотно кращі результати в порівнянні з тваринами групи 1, при цьому рівень достовірності відмінностей був, як правило, менше 0,01.

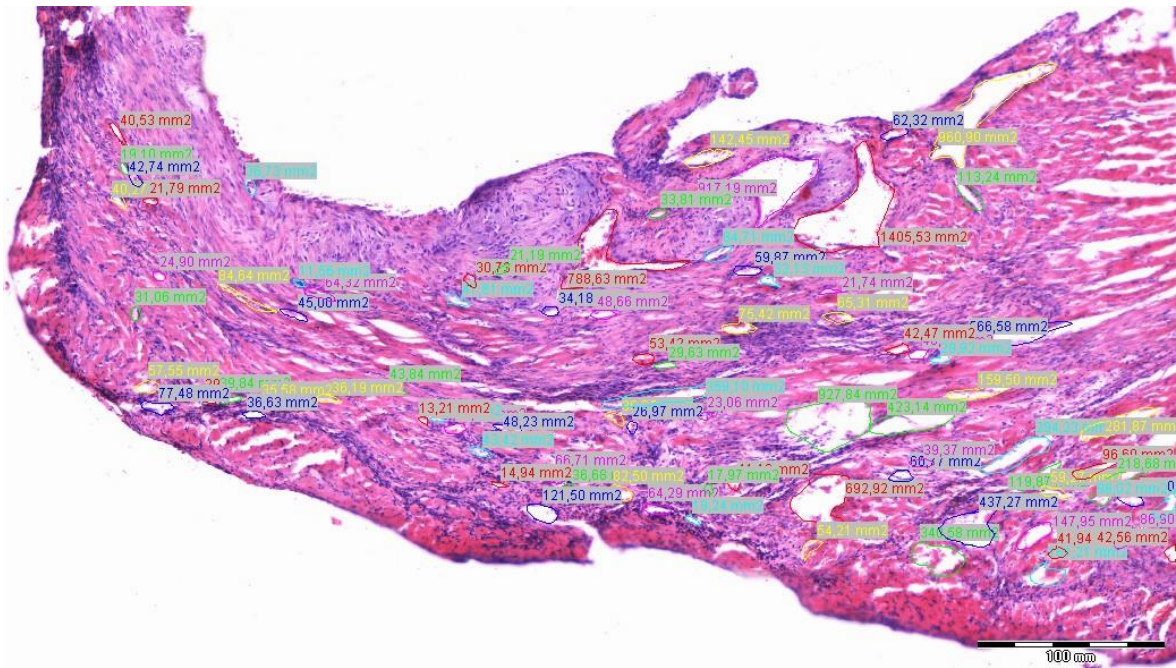


Рис. 3.42. Інфаркт міокарда з формуванням рубця. Морфометрія судин.

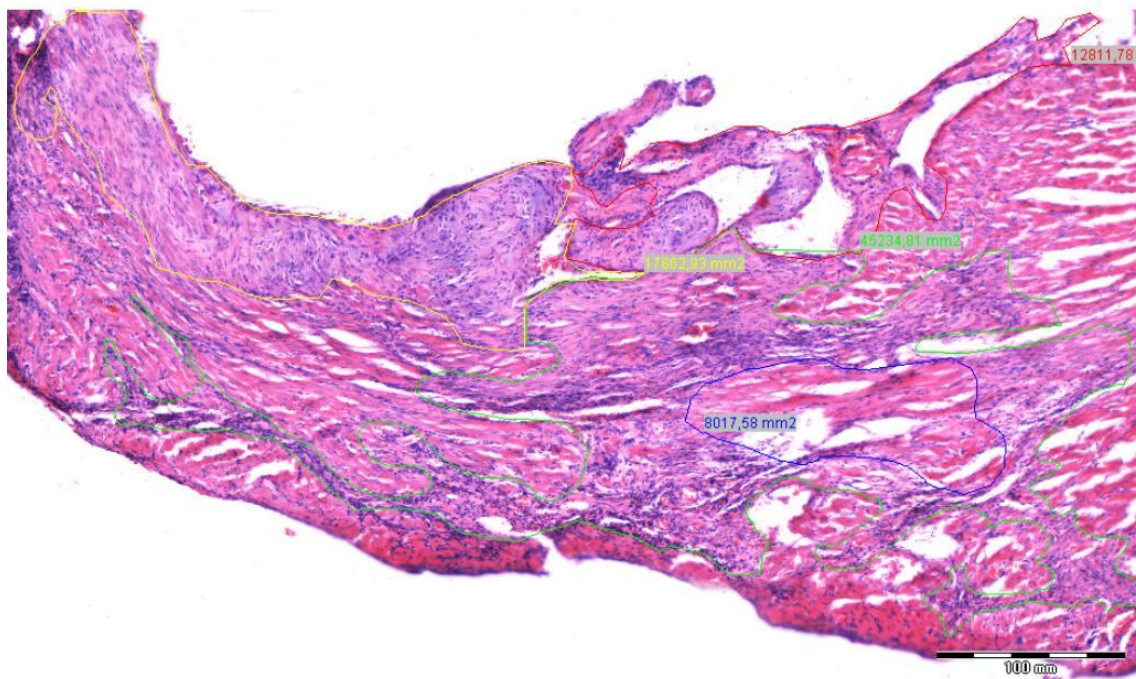


Рис. 3.43. Інфаркт міокарда. Морфометрія сполучної тканини.

Таблиця 3.13

**Морфометричний аналіз результатів експериментальної частини
дослідження**

Показник	Групи тварин				
	1	2	3	4	5
Питомий обсяг ділянки інфаркту від вихідної тканини,%	65,83	61,21	19,05 ***	24,02 ***	32,03 **
SD	8,21	3,45	2,29	1,04	4,6
Питомий обсяг сполучної тканини, включаючи судини,%	33,78	30,12*	15,21***	17,73**	23,4*
SD	1,72	2,21	1,8	5,69	4,2
Питомий об'єм судин, %	6,32	6,78	10,1**	9,42*	8,1*
SD	0,16	1,1	2,4	3,33	2,3
Середня кількість судин на 100000 мкм ²	10,21	13,12*	72,99***	68,20***	44,9**
SD	1,26	1,51	3,1	4,64	5,3
% збережених м'язових волокон (від вихідного)	15,90	20,2*	49,2***	45,04**	37,8**
SD	0,28	1,2	3,2	9,81	6,1

Примітка. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ – між вивчаємою групою і 1 групою.

Особливо вражаючі результати отримані при дослідженні середньої кількості судин на 100 тис. мкм² ($10,21 \pm 1,26$ без лікування в порівнянні з $68,2 \pm 4,64$ у крис з моделлю гострого ІМ після введення МСК – 4-а група). У тварин без лікування визначалися широкі судини з великим просвітом, тоді як у нелікованих тварин це були судини невеликого діаметру. Тому ми також

вираховували питому кількість судин на 100 000 мкм² тканини рубця. Таким чином, при підрахунку кількості судин на 100 тис. мкм² в групі тварин з трансплантацією МСК останніх стало в 6 разів більше. Слід враховувати, що питомий обсяг ділянки ІМ в 1-й групі склав (65,89±8,21) %, а в 3 групі – (24,02±1,04) %, тобто площа інфаркту міокарда зменшилася майже в 3 рази. Сприятлива динаміка з боку судин супроводжувалася істотним поліпшенням показників: зменшенням об'єму сполучної тканини в зоні ІМ з 33,78 до 17,73 % (в 1,9 рази), збільшенням відсотка збережених м'язових волокон з 15,9 до 45,04 % (в 2,8 разів).

Отже, трансплантація МКС при експериментальному ІМ у крис призводила до зменшення зони ІМ 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 більше, ніж у тварин 1-ї групи.

У 2-й групі тварин в порівнянні з показниками, отриманими в 1-й групі, фактично залишилися незмінними досліджувані показники, за винятком питомих обсягу сполучної тканини, включаючи судини, який в 1-й групі дорівнював (33,78±1,72) %, в 2-й групі показник був меншим – (30,12±2,21) %. Так само збільшилася середня кількість судин на 100000 мкм² в порівнянні з 1-ю групою з (10,21±1,26) до (13,12±1,51), до того ж, відсоток збережених м'язових волокон був в 4,3 рази вище у тварин 2-ї групи. Таким чином, можна припустити, що пошкодження міокардиоцитів все ж таки підсилює ангіогенез та призводить до поліпшення перфузії серця і збереження повноцінної м'язової тканини.

У тварин 3-ї групи були досягнуті максимально кращі показники, що виражалось як в збільшенні або зменшенні досліджуваних параметрів при морфометрії. Так, питомий обсяг ділянки інфаркту від вихідної тканини дорівнював (19,05±2,29) проти (65,83±2,29) % в 1-й групі. Питомий обсяг сполучної тканини, включаючи судини, який в 3-й групі дорівнював (15,21±1,8) %, в 1-й групі був значно більше – (33,78±1,72) %. Збільшилася

середня кількість судин на 100000 мкм² в порівнянні з 1-ю групою з (10,21±1,26) до (72,99±3,1), до того ж, відсоток збережених м'язових волокон у крис 3-ї групи був на 33,3 % вище.

У тварин 5-ї групи питомий обсяг ділянки інфаркту від вихідної тканини дорівнював (32,03±4,6) проти (65,83±2,29) % в 1-й групі. Питомий обсяг сполучної тканини, включаючи судини, який в 5-й групі дорівнював (23,4±4,2) %, в 1-й групі був значно більшим – (33,78±1,72) %. Збільшилася середня кількість судин на 100000 мкм² в порівнянні з 1-ю групою з (10,21±1,26) до (44,9±5,3), до того ж, відсоток збережених м'язових волокон був на 21,9 % вище, ніж у тварин 3-ї групи.

Отже, нами проаналізовано основні параметри морфометричного аналізу сердець крис в різних досліджуваних групах (рис. 3.44).

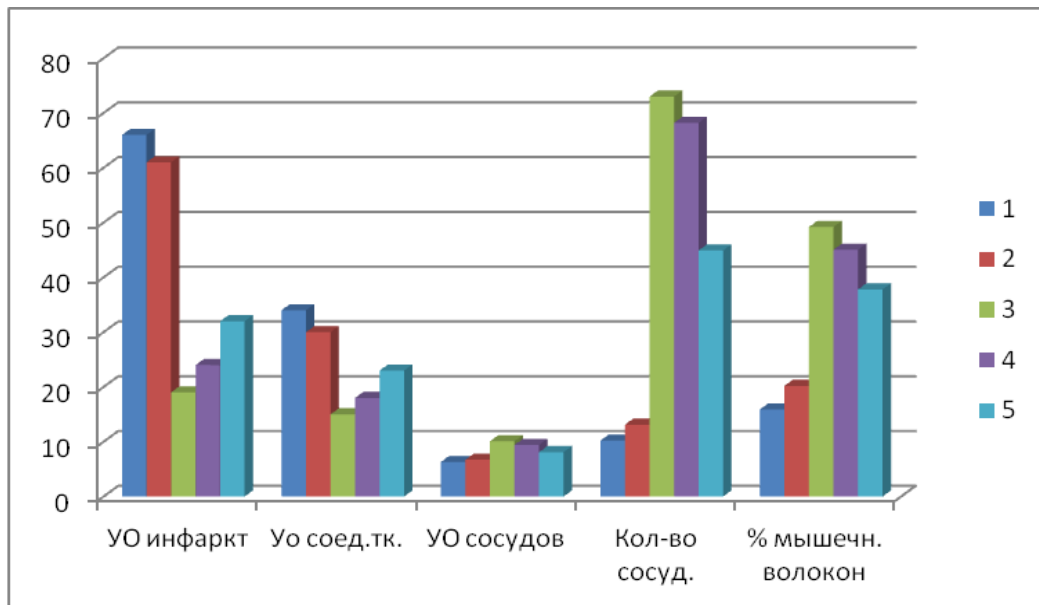


Рис. 3.44. Динаміка основних морфометричних показників сердець крис після різних видів кардіоміопластики.

При вивченні даних показників в різних групах нами було виявлено, що питомий обсяг інфаркту (ПОІ) був найменший в 3-й групі тварин, при цьому були досягнуті наступні дані: ПОІ 3-ї групи менше 2-ї групи, при $t=1,98$; 1,9 і 2,5 відповідно ($p<0,05$). В даних питомого обсягу сполучної

тканини в 3-й і 4-й групах різниці не було, так само не було її і між 4-ю і 5-ю групами, але показники 5-ї групи були меншими за показники, отримані в 3-й групі при $t=1,99$ і $p<0,05$. 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 при $t=3,3$ і $p<0,01$ і, відповідно, в 3-й групі їх було більше в порівнянні з 5-ю групою при $t=4,6$ і $p<0,001$. 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 при $t=3,3$ і $4,6$ відповідно і $p<0,001$. 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 при $t=1,96$ і $p<0,05$.

Нами в експерименті був запропонований новий підхід для посилення регенерації міокарда, заснований на трансплантації стовбурових / прогеніторних клітин, який при модельованому ІМ показав свою ефективність і перспективність для лікування наслідків ішемії міокарда.

У сучасній літературі залишається відкритим головне питання – яким є механізм протекторної дії стовбурових/прогеніторних клітин. Важливо відзначити, що існує досить велика кількість типів стовбурових/прогеніторних клітин, які можна охарактеризувати за потентністю, джерелом походження та ін. [34].

Мультипотентні мезенхімальні стромальні клітини є одними з найбільш привабливих типів клітин для клітинної терапії в зв'язку з їх доведеними кардіопротекторними властивостями і низькою імуногенністю [70].

На сьогоднішній день дослідники стовбурових/прогеніторних клітин розділилися на два табори - ти, хто вважає, що після введення в організм стовбурові клітини і клітини-попередники диференціюються і заміщають загиблі або пошкоджені клітини і тих, хто вважає головною паракринну активність СК і клітин-попередників, тобто синтез і секрецію певних сигнальних молекул, які є ключовими в реалізації терапевтичного ефекту цих

клітин [175]. Обидві групи вчених визнають позитивний терапевтичний ефект від введення стовбурових або прогеніторних клітин при лікуванні патологічних станів різних органів. Вивчення протекторних ефектів в декількох дослідженнях, проведених на крисах, показало, що введення МСК після експериментального інфаркту призводить до зменшення його обсягу і поліпшенню функціонального відновлення міокарда [47].

У нашій роботі трансплантація аутологічних МСК, виділених з кісткового мозку, через 24 годин після моделювання патологічного стану також приводила до зниження об'єму пошкодження серцевого м'яза [68, 69].

Слід зазначити, що досить часто позитивні ефекти від МСК спостерігаються достатньо швидко після їх трансплантації. Протягом такого короткого періоду малоімовірно, що МСК встигають диференціюватися в функціональні кардіоміоцити і інтегруватися в м'язову тканину.

На сьогоднішній день визнаний той факт, що МСК можуть сприяти регенерації тканини, секретуючі фактори росту та інші цитокіни (включаючи BDNF, NGF, VEGF та інші) [68]. Крім того, вони можуть регулювати запальну реакцію, яка відіграє важливу роль в постішемичному пошкодженні міокарда, оскільки СК секретують ряд імуномодуючих факторів, таких як простагландин E₂, TNF- α , TGF- β , IL6 і інші [323]. Однак, механізми, що лежать в основі регенеративного потенціалу МСК, до кінця не ясні і вимагають подальшого вивчення.

Один із способів дослідження механізмів впливу СК на функцію органу полягає в безпосередньому вивченні взаємодії між клітинами організму і трансплантуємими клітинами, в пошуку хімічних сполук, які стовбурові клітини можуть секретувати в міжклітинний простір після їх співкультивування з диференційованими клітинами. Те ж саме стосується і клітин реципієнта, оскільки вони можуть реагувати на присутність трансплантованих клітин синтезом і секрецією різних біологічних сполук. Таке "спілкування" між сусідніми клітинами, або навіть віддаленими органами всередині одного організму з великою ймовірністю має місце.

Отримана досить велика кількість даних, що підтверджують існування даного феномена [256]. Однак, міжклітинна комунікація в результаті секреції біологічно активних сполук і їх "уловлювання" сусідніми клітинами обмежена дифузією. Це обмеження може бути зведене до мінімуму в разі спрямованої передачі клітинних компонентів від клітини до клітини в результаті формування міжклітинних контактів. Серед прикладів таких контактів – щілинний контакт, що формується за участю білка коннексін 43, який забезпечує міжклітинну взаємодію, електричне сполучення сусідніх клітин і передачу сигналів деполяризації [326]. Серед міжклітинних взаємодій заслуговує на особливу увагу міграція компонентів цитоплазми між контактуючими клітинами вздовж клітинних відростків, зокрема, тунелюючих нанотрубок [291]. Для ряду диференційованих клітин, що знаходяться в прямому контакті з прогеніторними клітинами, показаний обмін компонентами цитозолу [164], а також міжклітинний транспорт мітохондрій [355]. Прямий міжклітинний контакт, ймовірно, забезпечує найменш витратний спосіб обміну хімічною / біологічною інформацією між клітинами; проте ефективність такого обміну обмежена дуже низьким співвідношенням числа стовбурових клітин до числа диференційованих клітин і, як наслідок, низьким числом міжклітинних контактів. Більш витратний для клітин метод обміну інформацією полягає в секреції біологічно активних молекул [353] в міжклітинний простір (в культуральне середовище *in vitro* і в позаклітинний простір / інтерстиціальну рідину *in vivo*). На більш високому рівні може відбуватися комунікація між клітинами в складі різних органів. При цьому відбувається секреція в кровотік певних факторів, які потім по кровотоку потрапляють у віддалені органи.

Як відомо, NO відповідає за ефект релаксуючого фактора, що виділяється ендотелієм. У відповідь на ішемічне ушкодження ендотелій судин виробляє амінопептиди, до яких відноситься ендотелін-1. Вважається, що вазодилататорну дію NO направлено проти вазоконстрикторного ефекту

ендотеліну. Отримані нами результати дозволяють зробити висновок про зниження ступеня ішемії у тварин після трансплантації МСК.

Високий рівень VEGF у тварин після перенесеного ІМ на тлі трансплантації МСК є сприятливою прогностичною ознакою. Трансплантація МСК дозволяє цілеспрямовано змінити процеси ремоделювання міокарда, вплинути на його регенерацію і, в кінцевому рахунку, поліпшити функцію серцевого м'яза [69].

Розвиток ІМ супроводжувалося підвищенням ангіогенних факторів, таких як оксид азоту і VEGF. Це супроводжувалося підвищенням вмісту вазоконстриктора ендотеліну-1, який грає важливу роль в патогенезі ІМ. Слід зазначити, що підвищення ангіогенних і судинорелаксуючих факторів є компенсаторною реакцією організму на ішемічне ушкодження. Було виявлено, що трансплантація МСК, не залежно від способу введення, сприяла підвищенню вмісту ангіогенних факторів і нормалізації рівня ендотеліну - 1. Наслідком цього було нівелювання ішемії, поліпшення перфузії міокарда і, таким чином, ліквідація порочного кола при ІМ, тому що концентрація ангіогенних і судинозвужувальних факторів грає чільну роль в розповсюдженні ІМ і ремоделюванні ЛШ [69, 153].

Встановлено, що кардіоміопластика МСК викликає позитивний метаболічний ефект. Трансплантація МСК супроводжується зниженням активності ферментів АДА, ЛДГ в пошкодженому міокарді, що побічно свідчить про підвищення енергетичного балансу енергоутворюючих субстратів і зниження ступеня ішемії міокарда. Зменшення накопичення продуктів ПОЛ і напруга неферментативної ланки антиоксидантного захисту є хорошим прогностичним критерієм відновлення функціональної активності пошкодженої міокарда [153, 156].

Виходячи з аналізу отриманих експериментальних даних, можна припустити два основних напрямки метаболічної терапії МСК при ІМ: оптимізація процесів утворення і витрати енергії, нормалізація балансу між

інтенсивністю вільно-радикального окислення і антиоксидантного захисту [156].

Таким чином, клітинна кардіоміопластика, крім поліпшення морфологічної структури і функціонального резерву, також покращує метаболізм клітин, що підтверджує теорію неоангіогенезу і паракринного ефекту клітинної трансплантації. Отже, трансплантація МСК дозволяє оптимізувати обмін кисню кардіомиоцитами і стабілізувати аеробний і анаеробний гліколіз [206].

У наших дослідженнях моделювання ІМ було пов'язане з вираженим зниженням скорочувальної функції серця. Тенденція до відновлення, втім, намітилася вже в перші години після моделювання патологічного стану, що дозволяє припустити наявність потужних компенсаторних механізмів, як в самому міокарді, так і в серцево - судинній системі в цілому. Це положення підтверджується, на наш погляд, реакцією серця на стресове навантаження.

У тварин, обстежених через тиждень після моделювання ІМ, відзначався високий вихідний рівень ЧСС, який значно перевищував такий інтактних тварин. Стресове навантаження не виявило якісних відмінностей в динаміці змін ЧСС, але кількісні відмінності в реакціях існують. Можна припустити, що саме зазначені кількісні відмінності в реакціях міокарда на стрес і є проявом тих деструктивних процесів, що сприяють розвитку вторинних порушень, які супроводжуються збільшенням летальних випадків при інтенсивному стресовому навантаженні.

Нівелювання відмінностей в реакціях на стрес між інтактними тваринами і крисами через два тижні після моделювання ІМ показує активацію компенсаторних механізмів серцево-судинної системи, спрямованих на нормалізацію реакції міокарда на стрес, що, в кінцевому рахунку, повинно проявитися в відносному відновленні життєстійкості організму.

Трансплантація МСК сприяє значному поліпшенню васкуляризації в зоні інфаркту, яке, можливо, призводить до зменшення ішемії в

прикордонних з інфарктом зонах, зниження ішемічного ушкодження кардіоміоцитів в цих зонах, та в результаті сприяє зменшенню площі рубця і попередження формування аневризми серця. Доведено, що трансплантовані клітини активно беруть участь у формуванні судин і сполучної тканини в зоні рубцювання, яке завершується на 21 добу після моделювання ІМ. При звичайному морфологічному дослідженні ми не визначили значущих відмінностей між групами тварин після трансплантації МСК. При дослідженні міокарда тварин після внутрішньовенного введення культури МСК і гранулоцитарного фактора росту ми візуалізували зміни, аналогічні таким у тварин без трансплантації. Тому для об'єктивізації відмінності між групами тварин ми провели морфометричні дослідження.

Встановлено, що клітинна кардіоміопластика значно покращує структуру постінфарктного серця, що виявляється 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.

За нашими припущенням, такий ефект пов'язаний з тим, що при інтракоронарному введенні МСК, які володіють високими адгезивними властивостями, відбувається часткове тромбування судин мікроциркуляторного русла, що призводить до розширення зони ішемії. Інтраміокардіальне введення супроводжується максимальною концентрацією клітинного трансплантата локально в зоні ішемії і гібернуючого міокарда, що підсилює лікувальний ефект. Внутрішньовенне введення трансплантата продемонструвало середні показники між двома вищезгаданими методами введення клітинного трансплантата.

Таким чином, клітинна кардіоміопластика при будь-якому способі введення клітинного трансплантата позитивно впливає як на морфологічний субстрат серця у вигляді зменшення розмірів рубця при постінфарктному ремоделюванні, збільшення кількості новостворених судин і збільшення

відсотка збережених міоцитів. Це відбувається за рахунок хоумінга МСК в зону ішемії та спільності двох механізмів – безпосереднього диференціювання в клітини ендотелію судин серця, а також за рахунок паракринного ефекту.

Саме транспортом мітохондрій, а не приживлення алогенних МСК в тканини можна частково пояснити позитивний терапевтичний ефект МСК при експериментальному інфаркті [218]. Відомо, що цитопротекторний ефект стовбурових клітин, що знаходяться поруч з пошкодженими клітинами, обумовлений їх паракринною і ендокринною активністю [86]. Наприклад, були детально описані всі паракринні фактори, які секретуються СК в пошкоджений міокарда. Подібні приклади також існують і для лімфоїдних стовбурових клітин (Т- і В-клітин), які виділяють паракринні фактори, які сприяють відновленню пошкодженого скелетного м'яза [160], а також для інших типів стовбурових клітин, які секретують нейротрофічні фактори у відповідь на пошкодження клітин головного мозку [165] або фактори, що стимулюють відновлення пошкоджених нирок.

Якщо підсумувати все вищевикладене, можна припустити наступну ланцюг подій: при міжклітинних контактах цитоплазма нейтральної клітин потрапляє в МСК, індукуючи в них підвищення продукції міотрофічних чинників. Далі відбувається більш ефективно відновлення пошкодженої тканини внаслідок посиленої паракринної активності МСК, паралельно відбувається передача мітохондрій з МСК в нейтральні клітини, які пошкоджені в результаті ішемії.

Основні положення розділу 3 опубліковані в роботах автора:

1. **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.

2. **Естрін С. І.**, Кравченко Т. В., Ковальчук А. О., Акобїров Є. С. Вплив мезенхімальних стовбурових клітин на ефективність ангиогенезу, стан судинного тонусу, інтенсивність перекисного окислення ліпідів і метаболічну активність кардіоміоцитів при експериментальному інфаркті міокарда. Міжнародний медичний журнал. 2021. Т. 27. №1(105). С. 35–42.

3. **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.

4. **Estrin S.**, Kravchenko T., Pechenko 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.

РОЗДІЛ 4
БЕЗПОСЕРЕДНІ РЕЗУЛЬТАТИ ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА
РЕФРАКТЕРНУ СТНЕОКАРДІЮ НА ПЕРШОМУ ЕТАПІ
ДОСЛІДЖЕННЯ

4.1. Функціональні результати клітинної кардіоміопластики

Слід зазначити, що всі пацієнти (на обох етапах дослідження) отримували необхідну медикаментозну терапію (табл. 4.1). До надходження в стаціонар вони в середньому отримували 4–6 препаратів, а під час госпіталізації в середньому 6-9 препаратів ($p = 0,03$).

Таблиця 4.1

Консервативна терапія у пацієнтів на РС

Лікарський засіб	Абс.	%
Інгібітори АПФ	231	100
Серцеві глікозиди	127	54,9
Інотропні препарати	16	6,9
Аміодарон (кордарон)	117	50,6
Бета-адреноблокатори селективні	229	99,1
Соталол	18	7,8
Діуретики	231	100
Нітрати	224	96,7
Варфарин	129	55,8
Ацетилсаліцилова кислота	231	100
Клопідогрель	99	42,9
Статини	231	100

З медикаментозних препаратів, в 100 % випадках пацієнти застосовували статини, ацетилсаліцилову кислоту, діуретики та інгібітори

АПФ. Бета-адреноблокатори отримували 99,1 % пацієнтів, нітрати – 96,7 %, варфарин – 55,8 %, серцеві глікозиди – 54,9 %, аміодарон – 50,6 %, клопідогрель – 42,9 %, інотропні препарати – 6,9 %, соталол – 7,8 %. Всі пацієнти, включені в дослідження, приймали препарати статин з метою корекції гіперхолестеринемії.

На першому етапі дисертаційного дослідження проведена порівняльна оцінка безпосередніх результатів лікування пацієнтів групи порівняння (у яких застосовувалася тільки традиційна медикаментозна терапія), і основної групи, у яких в застосовували внутрішньовенне введення МСК.

Пацієнтам основної групи після проведення клініко-лабораторних та інструментальних методів обстеження встановлювали показання до проведення клітинної терапії.

МСК отримували з КМ грудини або гребеня клубової кістки. Отриману моонуклеарну суспензію клітин КМ засівали на колаген і проводили культивування в CO₂-інкубаторі при 37 °C і 5 % атмосфері CO₂. Культури досягали первинного моношару на 8–11 добу культивування, коефіцієнт пасирування становив 1:2 або 1:3. Після цього клітини повторно культивували в CO₂-інкубаторі.

Всім пацієнтам основної групи проводили інфузії аутологічних МСК (50 000 000 клітин) на 100 мл розчину NaCl 0,9 % крапельно повільно.

До початку лікування усі хворі скаржилися на болі за грудиною, 109 (69,9 %) мали задишку і 13 (8,3 %) – периферичні набряки.

Для оцінки ефективності застосування трансплантації аутологічних МСК мибула простежена динаміка стану пацієнтів. При цьому у пацієнтів основної групи 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 явну перевагу перед медикаментозним лікуванні стенокардії.

Через 3 місяці після лікування у хворих групи порівняння залишалися болі за грудиною 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.

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 %) хворих основної групи. 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.

У досліджуваних групах пацієнтів проведено порівняння якості життя по Міннесотського опитувальником (MLHFQ) (табл. 4.2).

Таблиця 4.2

Динаміка якості життя пацієнтів досліджуваних груп по MLHFQ (M±m)

Групи пацієнтів	Терміни дослідження		
	До лікування	Через 3 міс.	Через 6 міс.
Основна (n=76)	40,8±12,6	56,6±18,7*	73,2±6,9*
Порівняння (n=80)	68,3±9,5	77,1±5,4*	71,3±5,8

Примітка. * – достовірність $p \leq 0,005$

Як свідчать наведені в таблиці 4.2 дані, в групі порівняння після проведення курсу консервативної терапії через 3 місяці відзначалося поліпшення якості життя з (68,3±9,5) до (77,1±5,4) балів, проте вже через 6 місяців пацієнти відзначали його деяке зниження в середньому до (71,3±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 ФК в групі порівняння (рис. 4.1) отримані наступні дані: через 3 місяці після проведення курсу медикаментозної терапії зросла кількість пацієнтів з ФК 3 (з 61,25 до 77,5 %) за рахунок зменшення пацієнтів з ФК 2 (18,75 до 10 %), число хворих з ФК 4 зменшилася з 20 до 12,5 %. Однак, через 6 місяців після його проведення кількість хворих з ФК 2 зменшилася до 0, а число хворих з ФК 4 зросло до 21,25 %. Таким чином, стандартно призначене медикаментозне лікування стенокардії призводило до погіршення загального стану хворих і підвищення функціонального класу стенокардії.

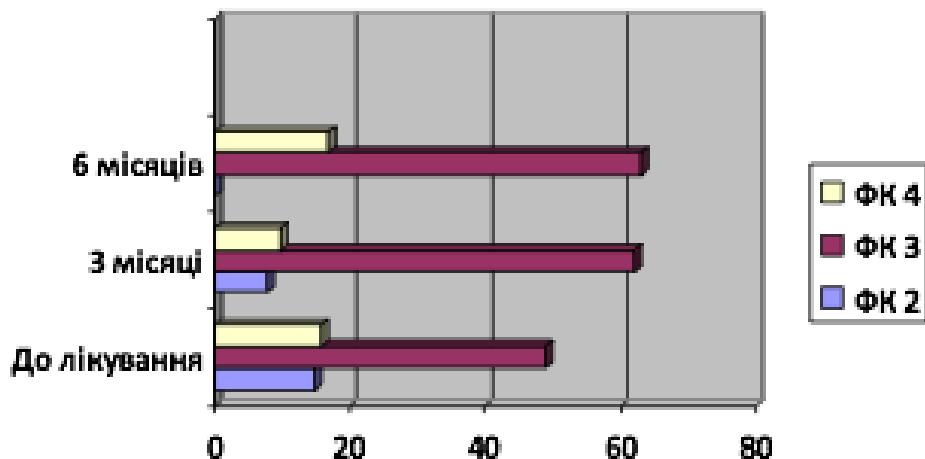


Рис. 4.1. Динаміка ФК стенокардії у хворих групи порівняння.

Доповнення консервативної терапії внутрішньовенним введенням МСК привело до наступних результатів: через 3 місяці після проведення курсу терапії в групі хворих з ФК 3 істотних розбіжностей виявлено не було, при цьому зменшилась кількість пацієнтів з ФК 4 (з 21,0 до 7,9 %) і зросла кількість хворих з ФК 2 (з 22,4 до 32,9 %). Через 6 місяців кількість пацієнтів з ФК 4 істотно не змінилося в порівнянні з вихідними даними, з ФК 3 зменшилось до 31,6 %, з ФК 2 – зросло до 50 % (рис. 4.2). Таким чином, слід відзначити позитивний вплив внутрішньовенної клітинної кардіоміопластики на перебіг РС.

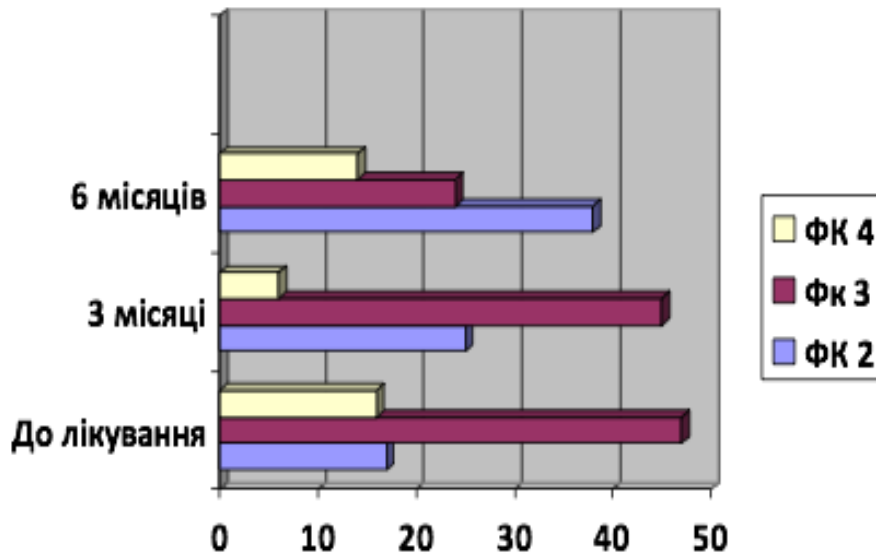


Рис. 4.2. Динаміка ФК стенокардії у пацієнтів основної групи.

Зменшення проявів серцевої недостатності і зниження ФК по NYHA (табл. 4.4) виявлено у пацієнтів основної групи, при цьому ефект утримувався протягом 2–4 місяців ($p < 0,05$).

Таблиця 4.4

Динаміка розподілу хворих з ІХС по ФК за NYHA через 3 і 6 місяців після лікування

ФК		Групи		Терміни дослідження				p		
				До лікування		Через 3 міс.			Через 6 міс.	
				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			

При вивченні динаміки ФК по NYHA в основній групі (рис. 4.3) відзначалася позитивна динаміка до 3 місячного терміну у вигляді вірогідного підвищення кількості пацієнтів з ФК 2 і зменшення з ФК 4 і ФК 3. Проте, через 6 місяців незначно зросла числа пацієнтів з ФК 4 і ФК 3, але при порівнянні з вихідними значеннями явно визначався позитивний ефект в перебігу захворювання.

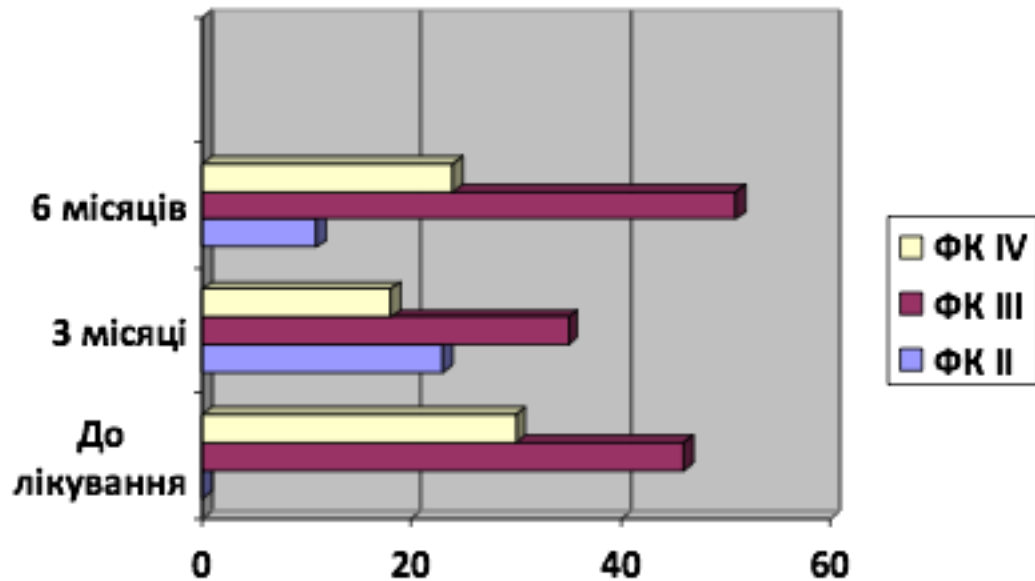


Рис. 4.3 Динаміка ФК по NYHA пацієнтів основної групи.

При медикаментозному лікуванні (рис. 4.4) спочатку відзначалася хибнопозитивна динаміка перебігу стенокардії (починаючи з терміну 3 місяці) у вигляді підвищення числа пацієнтів з ФК 2 і 3, а також зменшення числа хворих з ФК 4. Але через 6 місяців кількість хворих з ФК 2 нівелювалося і значно зростала кількість хворих з ФК 4 і 3. Отже, ми ще раз підтвердили негативний перебіг стенокардії при медикаментозному лікуванні в динаміці.

При вивченні динаміки толерантності до фізичного навантаження отримані наступні дані (табл. 4.5).

В основній групі відзначено достовірне підвищення переносимості фізичного навантаження під час тредміл-теста з $(2,8 \pm 0,46)$ до $(3,8 \pm 0,417)$

($p < 0,05$), при цьому в групі порівняння відбувалося показника з ($3,2 \pm 0,47$) до ($2,3 \pm 0,48$), $p < 0,05$.

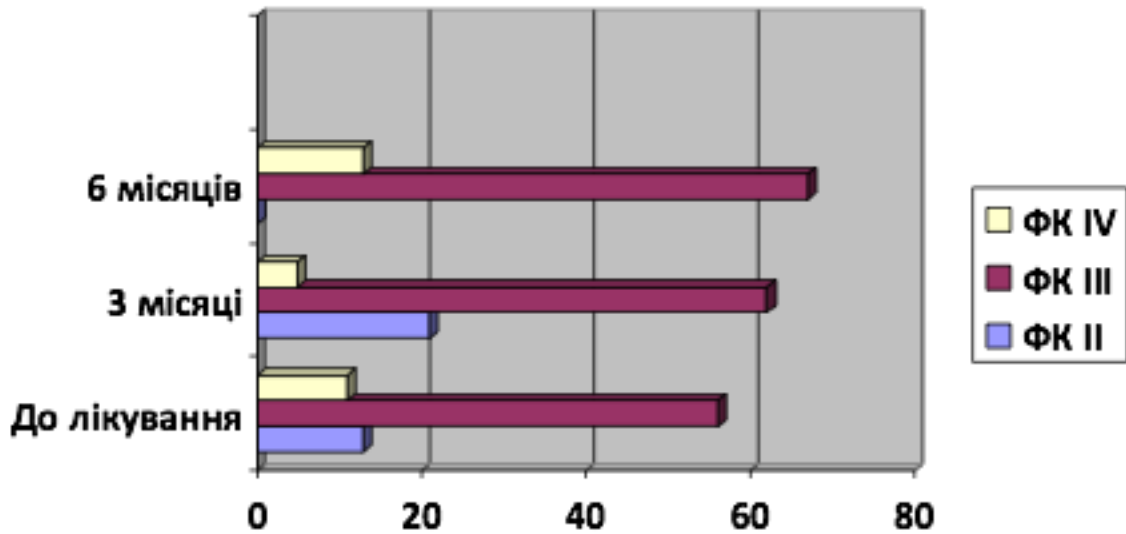


Рис. 4.4. Динаміка ФК по NYHA пацієнтів групи порівняння.

Таблиця 4.5

Динаміка толерантності до фізичних навантажень (тредміл) ($M \pm m$)

Групи	Висхідний показник	Через 6 місяців	P
Основна (n=76)	$2,8 \pm 0,46$	$3,8 \pm 0,47$	$< 0,05$
Порівняння (n=80)	$3,2 \pm 0,47$	$2,3 \pm 0,48$	$< 0,05$

Примітка. p – достовірність між початковими показниками і через 6 місяців.

При аналізі глобальної скоротливості ЛШ по ЕхоКГ в основній групі пацієнтів спостерігалось достовірне зменшення об'єму ЛШ у порівнянні з хворими, які отримували традиційне консервативне лікування, при цьому відмічено помірне збільшенням ФВ ЛШ в порівнянні з висхідними значеннями.

При вивченні динаміки КДО лівого шлуночка, який є прогностичним ознакою перебігу серцевої недостатності, ми отримали наступні дані (табл. 4.6). В основній групі через 3 місяці відбувалося зниження КДО з

(244,1±24,3) до (193,4±18,9) мл і потім до 6 місяців залишався стабільним і нижче ніж до лікування, але зростав і наближався до початкових даних.

Таблиця 4.6

Динаміка КДО ЛЖ (мл.) (M±m)

Група	Перед введенням	Через 3 місяці	P1	Через 6 місяців	P2	P3
Основна (n=76)	244,1±24,3	193,4±18,9	<0,05	204,3±45,6	>0,05	>0,05
Порівняння(n=80)	251,4±28,1	248,6±42,1	>0,05	268,3±25,6	>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.

Таким чином, зниження КДО ЛШ в посттрансплантаційному періоді є прогностично позитивною ознакою для хворих з СН на тлі стенокардії. У групі порівняння показник КДО був стабільним і не змінювався протягом дослідження.

При вивченні динаміки ФВ ЛШ за даними УЗД (табл. 4.7) в основній групі відзначалося зростання цього показника в термін 3 місяці з (33,8±3,6) до (42,8±4,8 %) з подальшим незначним зниженням. Таким чином, клітинна трансплантація підвищувала ФВ лівого шлуночка. Слід зазначити, що у пацієнтів групи порівняння будь-яка динаміка ФВ ЛШ була відсутня.

Частота денних ангінозних епізодів у хворих основної групи на протязі 6-місячного періода знизилася з (2,8±4,1) до (1,0±1,5) і становила (0,6±1,2) після 12 місяців (p=0,022). Відповідно частота прийняття сублінгвальних нітратів знизилась з (1,8±2,8) таблетки до процедури імплантації ауто-МСК до (0,5±1,2) таблетки на добу через 6 місяців і до (0,5±1,3) таблетки через рік (p=0,043). На відміну від цього у хворих групи порівняння через 3 місяці відзначалася хибнопозитивна динаміка, яка нівелювала через 6 місяців.

Таблиця 4.7

Динаміка ФВ ЛЖ (%) (M±m)

Групи	Перед введенням	Через 3 місяці	P1	Через 6 місяців	P2	P3
Основна (n=76)	33,8±3,6	42,8±4,8	<0,05	40,3±5,1	>0,05	>0,05
Порівняння (n=80)	42,4±4,2	40,3±3,8	>0,05	36,5±3,8	>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.

Слід зазначити, що ускладнень внутрішньовенної трансплантації ауто-МСК нами відмічено не було. В терміни до 6 місяців летальних випадків в основній групі відзначено не було. В групі порівняння за піврічний період померло 3 (3,75 %) пацієнтів.

У 9 (11,8 %) хворих основної групи внутрішньовенну трансплантацію ауто-МСК використовували в якості першого етапу лікування ІХС для підвищення скоротливої функції ЛШ. У цих хворих протипоказанням до виконання АКШ було зниження ФВ ЛШ, яке в середньому складало (30,6±2,3) %.

Через 3 місяці після проведеного лікування нами було відмічено підвищення ФВ в середньому до (46,8±3,8) %.

На фоні стабілізації скоротливої функції ЛШ хворі були оперовані в терміни 4–6 місяців після трансплантації ауто-МСК. В 3 випадках виконували КШ-1, в 4 – КШ-2 і у 4 хворих – КШ-3.

Перебіг післяопераційного періода в усіх випадках був гладким, без ускладнень. Середні терміни перебування в стаціонарі становили (10,3±2,2) ліжко діб.

4.2. Результати катетерного електромеханічного картування лівого шлуночка за допомогою системи Noga XP

15 пацієнтам групи порівняння і 15 пацієнтам основної групи виконували катетерне електромеханічне картування ЛШ за допомогою системи Noga XP (Jonson and Jonson, США) після письмового отримання згоди на дослідження. Всі процедури виконували з використанням електрофізіологічне лабораторії Prucka Engineering (CardioLab 6,5) (GE, США).

Навігаційна система Noga XP дозволяє виконати об'ємну реконструкцію лівого шлуночка і при цьому визначити життєздатність міокарда.

Під місцевою анестезією за методом Сельдінгера пунктували стегнову артерію. Через інтрод'юсер діаметром 8 Fr трансаортального в ЛШ вводили катетер Nogastar (Biosense Webster, США) і досягали контакту з ендокардом в різних локалізаціях. Виконувалася реконструкція камери ЛШ на підставі:

- взяття віртуальних точок, які формують маленькі трикутники для виконання однорідної реконструкції;
- колірної інтерполяції;
- порога заповнення карти кольором.

Алгоритм реконструкції моделював прикордонний еліпсоїд з наявних зразків і потім проектував зразки на цей еліпсоїд. Даний еліпсоїд не залежав від розкиду взятих точок, тобто зона, де точки взяті впритул один до одного, так само важлива, як і зона, де точки розташовані далеко одна від одної.

Для визначення контуру брали не менше 4 точок (які знаходяться в різних площинах). Крім розташування записували локальну активації кожної точки, ці величини визначали колірну інтерполяцію: рання активація позначалася червоним кольором, пізня – фіолетовим. По мірі накопичення нових точок зони ранньої та пізньої активації перебудовувалися (оновлювалися). Простір між взятими точками заповнювався кольором, причому колір інтерполяції відповідав кольоровій шкалі.

Метод відтворення 3D-реконструкції ЛШ і колірні заливки моделі ґрунтувалися на принципі тріангуляції, коли спочатку будується так звана решітка з трикутників. Відстань між вузловими точками грає важливу роль. Достовірність реконструюємої поверхні знижувалася якщо відстань між вузловими точками збільшувалася. Оператор сам вибирав масштаб або поріг заповнення карти кольором – чим нижче поріг, тим більше «пустот», тобто реконструкція виходить найбільш точною і максимально докладною.

Точки брали на синусовому ритмі за умов стабільності позиції катетера, стабільності часу локальної активації (LAT), стабільності довжини циклу (LS не більше 3 мм) і при відсутності елевації сегмента ST на уніполярному каналі картуючого електрода. Таким чином, відтворювали електроанатомічну карту лівого шлуночка. Цей вид карти відображає геометрію і послідовність електричної активації ЛШ. Відображали такі анатомічні орієнтири, як фіброзні кільця аортального і мітрального клапанів. Верхівку лівого шлуночка система визначала автоматично як найвіддаленішу точку від аортального клапана. При необхідності локалізація верхівки змінювалася мануально. Потім електроанатомічну карту переводили в режим уніполярної вольтажної і механічної (LLS). На уніполярній вольтажній мапі сегменти міокарда з амплітудою спайка нижче 7 мВ вважали рубцем. На механічній карті (LLS) зони з амплітудою руху стінки менше 12 % від максимальної вважали рубцем або недостатньо васкуляризованим міокардом. При зіставленні вольтажної уніполярної і механічної карти визначали життєздатні сегменти міокарда, які перебували в стані ішемії і амплітуда скорочення яких була значно знижена – це зони так званого гібернованого міокарда (рис. 4.5). Уніполярна вольтажна карта (А) дозволяла визначити зони з низькоамплітудними потенціалами (рубець, на карті червоного кольору). Фіолетові зони – це зони життєздатного міокарда, в них реєструвалася високоамплітудна електрична активність. Механічна карта (Б) відображала амплітуду руху стінки ЛШ. Червоні зони – погано або нерівномірно скорочуємі сегменти, фіолетові зони – міокард, що добре

скорочується. Червоні зони на 2-х типах карт можуть не збігатися, тому що в ділянках гібернованого міокарда реєструється високоамплітудна електрична активність, але скорочуються вони погано.

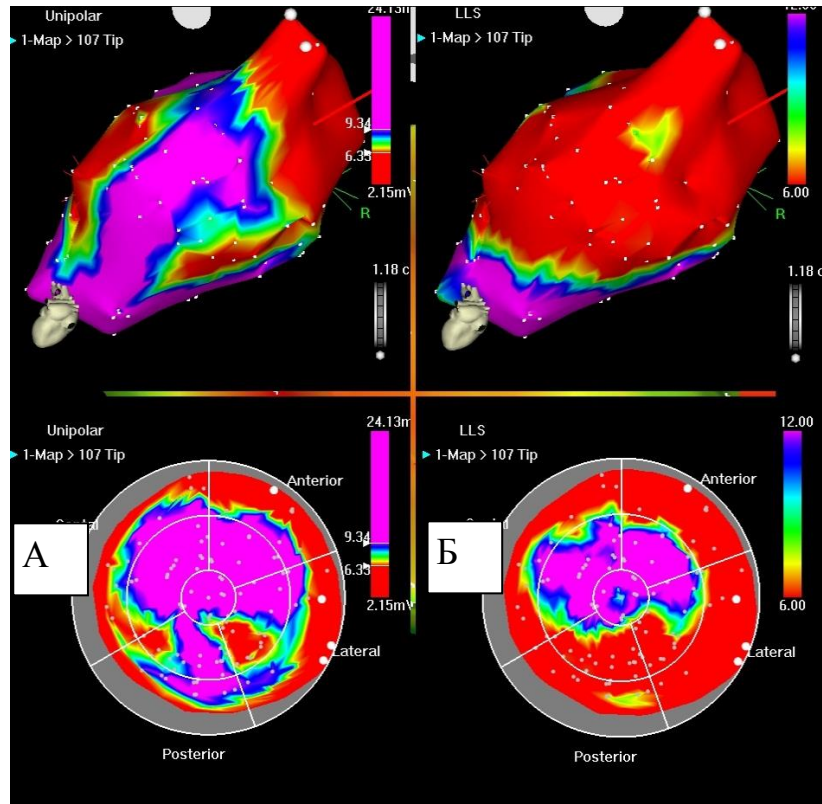


Рис. 4.5. Уніполярна вольтажна (А) і механічна карта лівого шлуночка (Б).

На уніполярній карті в задніх відділах лівого шлуночка визначається зона міокарда з високоамплітудною електрограмою (фіолетовий колір). На механічній карті ця ж зона забарвлена в червоний колір, що свідчить про значно знижену амплітуду руху сегменту (гібернований міокард).

В основній групі за результатами картування ЛШ ми отримали наступні результати: у всіх пацієнтів відзначалася позитивна динаміка, при цьому у 1 (6,7 %) відзначено значне поліпшення. У групі порівняння незначна позитивна динаміка відзначалася у 9 (60 %) пацієнтів, а у 6 пацієнтів (40 %) за результатами картування не відбулося ніяких змін в порівнянні з вихідним картуванням (табл. 4.8).

Ефективність застосування ауто-МСК за даними картування

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

Результати картування ілюстровані такими клінічними прикладами (рис. 4.6–4.8).

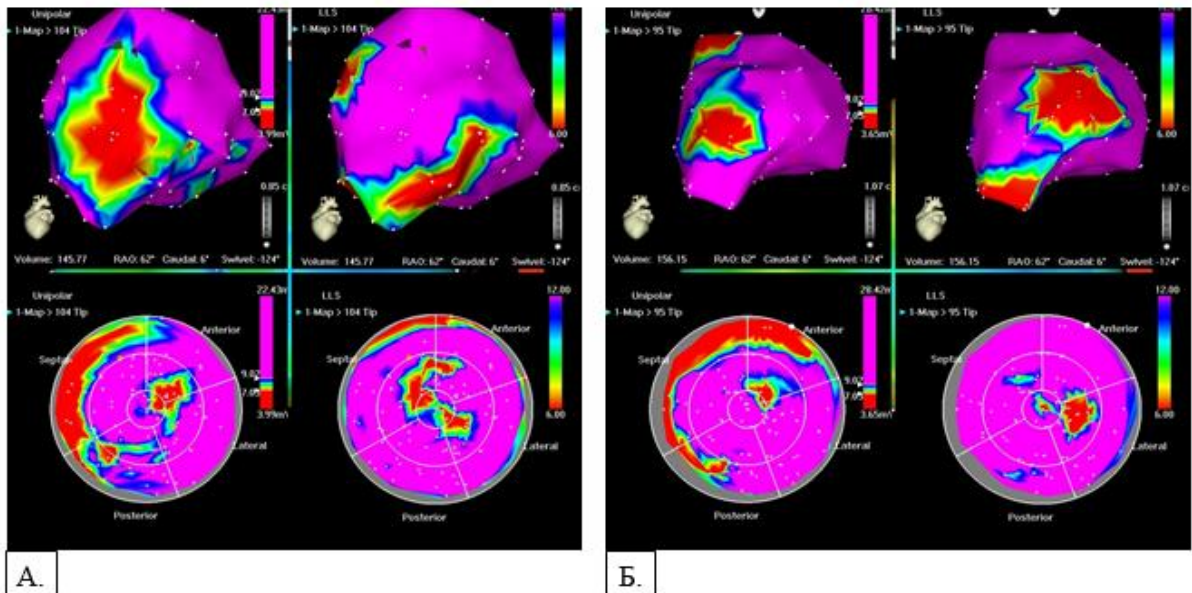


Рис. 4.6. Електромеханічна карта пацієнта К., 60 років (основна група).
 Діагноз: ІХС: стенокардія напруги ФК 3, постінфарктний і атеросклеротичний кардіосклероз. Стан після АКШ-2 і МКШ в 2008р. Оклюзія венозних шунтів. ХСН 1 ст. На панелі А: вихідне картування – продемонстрована велика зона гіпокінеза в базально-латеральному відділі і задньо-базальному відділі (гібернованого міокард, червоний колір). Панель Б: контрольне картування: зона гіпокінеза в базально-латеральному відділі значно зменшилася.

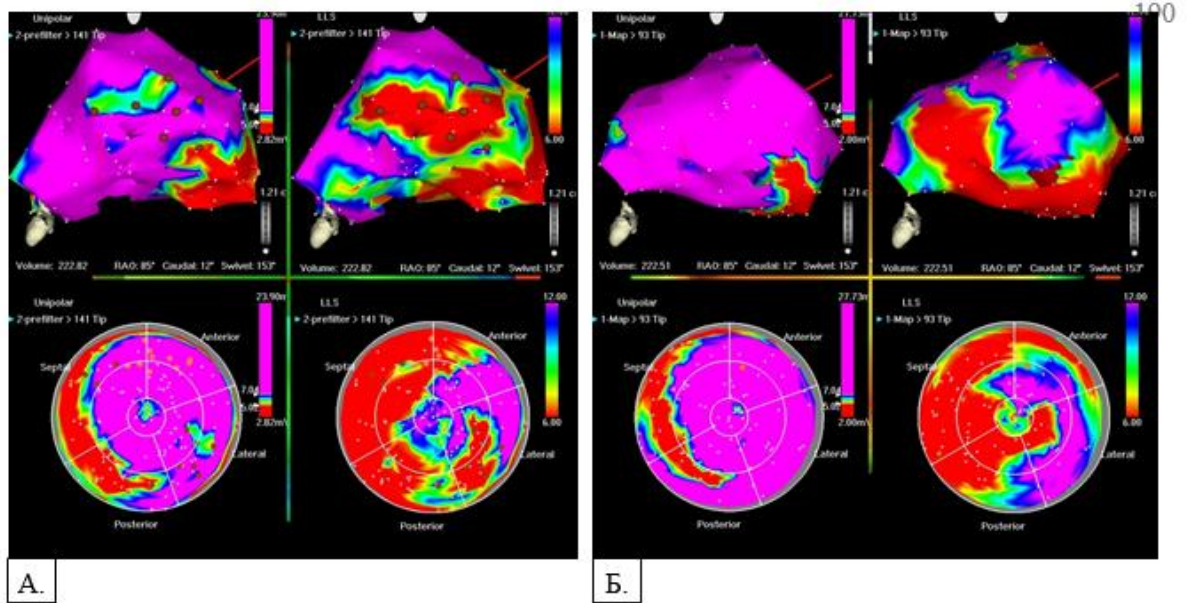


Рис. 4.7. Електромеханічна карта пацієнта Х., 68 років (основна група).
 Діагноз: ІХС: стенокардія напруги ФК 4, постінфарктний (Q-ІМ нижньої стінки лівого шлуночка в 1991р., без Q-ІМ передньої стінки ЛШ в 1995 р.) і атеросклеротичний кардіосклероз. Стан після АКШ-2 і МКШ-1 в 1996 р. Оклюзія шунта до ВТК. Стан після стентування ОВ ЛКА в 2009 р. (А – до трансплантації, Б – після трансплантації ауто-МСК).

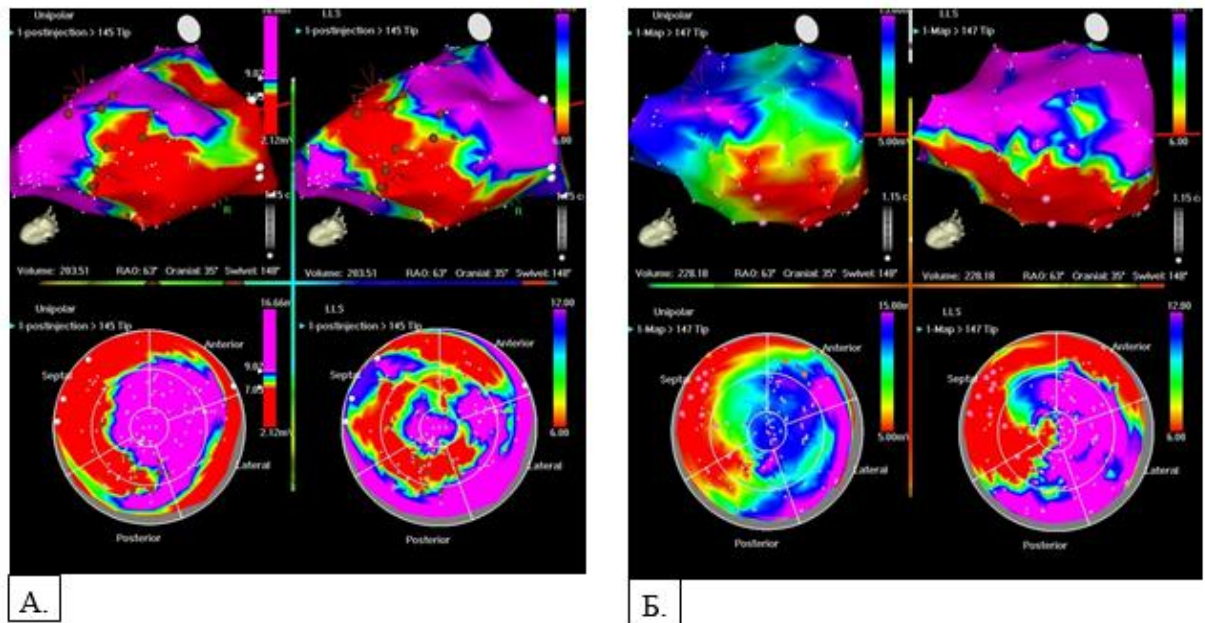


Рис. 4.8. Електромеханічна карта пацієнта М., 58 років (група порівняння). Діагноз: ІХС: стенокардія напруги ФК 2, постінфарктний і атеросклеротичний кардіосклероз. Стан після АКШ-3 в 2007 р. Оклюзія венозних шунтів. ХСН 1 ст. Панель А: вихідне картування – середнього розміру зона гіпокінеза в латеральних відділах (гібернований міокард, червоний колір). Панель Б: контрольне картування: без значної динаміки в порівнянні з вихідною картою.

Таким чином, нами продемонстровано позитивний вплив трансплантації ауто-МСК на механічні властивості гібернованого міокарда лівого щлуночка пацієнта.

4.3. Динаміка лабораторних показників на фоні трансплантації ауто-МСК

Порушення балансу між продукцією вільних радикалів і механізмом антиоксидантної медикаментозної терапії є основним молекулярним механізмом пошкодження серця і судин ішемічної природи.

Однією з цілей першого етапу дослідження було вивчення закономірностей процесів ПОЛ і активності антиоксидантної системи (АС) при ІХС. З цією метою у хворих з РС на фоні лікування аутологічними стовбуровими клітинами вивчали рівні каталази, церулоплазміну, відновленого глутатіону з одного боку і, ТБК-активних продуктів (МДА) – з іншого. Також досліджували лактат, тімідинфосфорилази, аденозіндезамінази, ЛДГ.

До захисних механізмів, що мобілізуються при ішемії, відносять закислення міоплазми і ацидоз. Припинення окислення в мітохондріях при ішемії супроводжується активацією гліколізу, накопиченням лактату і інших недоокислених метаболітів. З метою вивчення «ступеня втоми міокарда» визначали рівень лактату плазми ЛДГ заг. і ЛДГ1.

Ще одним захисним фактором є аденозін, що накопичується в позаклітинному просторі в значній кількості внаслідок некомпенсованого розпаду АТФ. При осередкової ішемії судинорозширювальна дія аденозину надає корисний ефект, з одного боку покращуючи кровопостачання ішемічної зони, з іншого – блокуючи адренорецептори на мембрані кардіоміоцитів, що уповільнює процес зниження запасів макроергічних фосфатів. При тривалій ішемії поглиблення енегродефіцита і посилення ацидозу призводять до деструкції клітинних органел і некрозу клітин (табл. 4.9).

Таблиця 4.9

**Порівняльний аналіз вмісту лактату, ЛДГ, аденозіндезамінази
крові пацієнтів досліджуваних груп (M ± m)**

Показник	До лікування		Через 3 місяці після лікування		Через 6 місяців після лікування	
	Основна (n=76)	Порівняння (n=80)	Основна (n=76)	Порівняння (n=80)	Основна (n=76)	Порівняння (n=80)
Лактат	4,66±0,98	4,65±1,32	4,35±1,07	4,63±1,51	4,85±1,4	4,59±12,36
ЛДГ	201,3± 34,18	198±36,5	197,57± 22,5	200,1±29,3	193,2±32,8	202,5±39,1
ЛДГ в еритроци- тах	915,45± 203,6	952,23± 175,2	944,13± 186,2	946,25±189,3	898,52± 175,9	924,2±123,5
Аденозін дезаміназа	92,07± 30,2	79,56±32,4	87,56± 29,54	89,5±30,5	99,5±30,1	80,54±38,1

Проведені дослідження показали відсутність достовірних змін при співставленні досліджуваних показників у пацієнтів досліджуваних груп.

Особливу увагу в дослідженні ми приділяли вивченню АС. Зниження рівня церулоплазміну є предиктором небажаних подій у хворих на ІХС. Відновлений глутатіон – найважливіший антиоксидант еритроцитів, служить коферментом при відновленні. За допомогою відновленого глутатіону здійснюється детоксикація H_2O_2 , а також гідропероксидів, які виникають при реакції АФК з ненасиченими жирними кислотами в мембранах еритроцитів. У таблиці 4.10 представлені дані, отримані нами у хворих на ІХС, пролікованих з використанням клітинної технології і традиційними методами.

Як свідчать наведені в таблиці 4.10 дані, у пацієнтів основної групи в динаміці відзначено стабілізацію показників АС, яка проявлялася в достовірному підвищенні відновленого глутатіону з (1106,8±566,8) ммоль/л до (1 175±477,7) ммоль/л ($p < 0,05$).

Таблиця 4.10

**Вміст продуктів ПОЛ і активності ферментів АО-системи в крові
хворих на ішемічну хворобу серця на фоні лікування ($M \pm m$)**

Показник	Групи		
	До лікування	Через 3 місяці	Через 6 місяців
Основна група (n=76)			
МДА, нМ/л	1,62±0,36	1,59±0,66	1,54±0,53
Каталаза, мккат/л	83,2±52,4	79,3±51,8	77,8±49,5
Церулоплазмін, мг/дл	27,35±7,95	31,8±8,43	33,35±8,77
Відновлений глутатіон, мкмоль/л	1106,8±566,8	1156,89±568,7	1175±477,7
Група порівняння (n=80)			
МДА, нМ/л	1,86±0,81	1,82±0,68	1,91 4±0,63
Каталаза, мккат/л	85,1±64,2	83,3±61,45	81,8±53,41
Церулоплазмін, мг/дл	29,45±8,4	32,1±6,43	31,8±7,54
Відновлений глутатіон, мкмоль/л	1122,3±486,8	1125,8±596,3	1134±587,6

У всіх пацієнтів обстежували ліпідний спектр до початку лікування, а також через 3 і 6 місяців після проведення терапії.

Таблиця 4.11

**Вихідні показники ліпідного обміну в групах дослідження та
медикаментозної терапії**

Групи	Показник					
	ХС загальний	ЛПВП	ЛПНП	ЛПОНП	Тригліце- риди	КА
Основна	5,2±1,52	1,2±1,05	2,8±0,18	0,79±0,35	1,78±0,91	4,01±1,25
Порівняння	5,08±1,09	1,03±1,06	3,4±0,21	0,72±0,29	2,02±1,12	3,52±1,28

Початково показники ліпідного обміну у досліджуваних пацієнтів були порівняними (табл. 4.12).

Таблиця 4.12

Показники ліпідного обміну в групах дослідження через 3 місяці після клітинної терапії і в групі медикаментозної терапії

Групи	Показник					
	ХС загальний	ЛПВП	ЛПНП	ЛПОНП	Тригліцериди	КА
Основна	4,8±1,41	1,6±1,35*	2,3±0,12*	0,8±0,24	1,35±0,87*	3,68±1,05
Порівняння	5,18±1,29	1,13±0,96	3,2±0,11	0,73±0,16	1,96±1,15	3,39±1,24

Примітка. * – достовірність з групою порівняння $p < 0,05$

Таблиця 4.13

Показники ліпідного обміну в групах дослідження через 6 місяців після клітинної терапії і в групі медикаментозної терапії

Групи	Показник					
	ХС загальний	ЛПВП	ЛПНП	ЛПОНП	Тригліцериди	КА
Основна	4,6±1,12	1,87±1,03*	2,1±0,25*	0,77±0,09	1,30±0,74*	3,60±1,15
Порівняння	5,2±1,30	1,16±1,01	3,29±0,15	0,74±0,12	1,99±1,24	3,41±1,15

Примітка. * – достовірність з групою порівняння $p < 0,05$

Як свідчать наведені в таблицях 4.12 і 4.13 дані, рівні ЛПНЩ, ЛПДНЩ, тригліцеридів в групах клітинної терапії мали статистично достовірне зниження в порівнянні з групою медикаментозної терапії ($p < 0,05$), в групі порівняння достовірних відмінностей між показниками ліпідного обміну в динаміці виявлено не було.

У венозної крові ми визначали вміст NTpro ~ BNP (кінцевого неактивного продукту синтезу мозкового попередника натрійуретичного

пептиду - зріла форма BNP), так як даний маркер має високий кореляційний зв'язок зі ступенем серцевої недостатності.

Таблиця 4.14

**Порівняльний аналіз вмісту NT-proBNP в крові хворих
досліджуваних груп**

Групи	До лікування	Через 3 місяці	Через 6 місяців
Основна (n=76)	514,07±28,1	358,4±56,9*	285,88±67,42*
Порівняння (n=80)	463,5±54,39	461,9±68,27	474,282±63,05

Примітка. * – достовірність з групою порівняння $p < 0,05$

Як видно з наведених в таблиці 4.14 даних, за вмістом NT-proBNP до початку лікування не було статистичних відмінностей між групами. У пацієнтів основної групи в динаміці відмічено достовірне зниження даного показника, який через 6 місяців після лікування знижувався з (514,07±28,1) до (285,88±67,42), тобто майже в 2 рази.

Метою даного фрагменту дисертаційного дослідження була оцінка впливу внутрішньовенної трансплантації аутологічних МСК КМ на стан пацієнтів з ішемічною серцевою недостатністю. Клінічний стан хворих, яких було включено в дисертаційне дослідження, оцінювався як важкий. Враховуючи дані коронарографії, більшості хворим було відмовлено в прямій реваскуляризації по причині дифузного ураження коронарного русла і загрози фатальних ускладнень. Такі хворі традиційно лікуються медикаментозно. Традиційна медикаментозна терапія, незважаючи на успіхи сучасної фармакології, не корегує міокардіальну дисфункцію і не збільшує тривалість життя. Як наслідок, зростає частота повторних госпиталізацій. Можливості трансплантації серця значно обмежені недостатністю донорів, високим ризиком і вартістю. Клітинна терапія відкриває нові можливості в наданні медичної допомоги таким хворим.

Були отримані наступні результати: внутрішньовенне введення аутологічних клітин КМ пацієнтам з хронічною ІХС з вираженою дисфункцією лівого шлуночка безпечно і може виконуватися в неспеціалізованих відділеннях, добре переноситься хворими і не супроводжується ускладненнями; трансплантація ауто-МСК сприяє підвищенню виживаності, поліпшенню функції ЛЖ, а також зниженню ангінальних симптомів [47, 52, 53].

Значно менша кількість хворих, які отримали клітинну терапію, потребує повторної госпіталізації для лікування декомпенсованої серцевої недостатності у порівнянні з пацієнтами, які лікувалися за традиційними схемами. Крім того, трансплантація ауто-МСК КМ сприяє покращенню міокардіальної перфузії в ішемізованих сегментах і не сприяє збільшенню рубцевої зони. Картування ЛШ в рамках нашого дослідження виявило покращення скоротливості міокарда [54, 57].

Однак, не у всіх пацієнтів спостерігався позитивний ефект після трансплантації МСК КМ. Ми спостерігали випадки, коли функціональний клас стенокардії знижувався, якість життя покращувалась, але збільшення міокардіальної перфузії було недостовірним. Більше того, незважаючи на зниження ФК стенокардії по NYHA, далеко не в усіх випадках спостерігалось підвищення ФВ ЛШ. У деяких пацієнтів покращення якості життя було головним проявом ефекту лікування. Крім того, позитивний ефект клітинної терапії може утримуватися не більше 6 місяців. В нашому дослідженні в 9 випадках клітинна терапія була використана в якості підготовчого етапу до АКШ, яке було виконано саме в ці терміни [71, 155].

В сукупності отримані результати вказують на необхідність більш глибокого вивчення механізму впливу клітинної трансплантації на міокард. Можлива гіпотеза пов'язана з активацією ангіогенеза клітинами КМ завдяки продукції ангіогенних цитокінів та регуляції експресії ендогенних цитокінів, що сприяє збільшенню міокардіальної перфузії і функції [68, 70].

Подібні результати отримали також і інші дослідники [152, 252]. Тим не менш, ці дослідження мають низку недоліків, а саме, мала кількість хворих, короткі терміни дослідження, нестача рандомізації. Ефективність лікування підтверджена нами такими дослідженнями, як картування ЛШ з визначенням рубцевих полів і зон гібернованого міокарда, визначенням функції ЛШ і міокардіальної перфузії. Таким чином, отримані результати потребують підтвердження в великих багатоцентрових рандомізованих, двійних сліпих плацебо-контрольованих дослідженнях, які включають велику когорту пацієнтів з хронічною ІХС і значно зниженою насосною функцією ЛШ. Тем не менш, отримані нами результати свідчать про цінність клітинної терапії як проміжного лікування.

Основні положення розділу 4 опубліковані в роботах автора:

1. 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 аутологичных мезенхимальных стволовых клеток в кардиологии и травматологии. Журнал Національної академії медичних наук України. 2011. №17(1). С. 67–75.

2. 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.

3. 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.

4. 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.

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.

6. **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.

7. 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.

РОЗДІЛ 5**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 ауто-МСК. 15 пацієнтам 2-ї підгрупи виконували трансендокардіальні «порожні» ін'єкції, пацієнтам підгрупи 5 проводили трансендокардіальні ін'єкції ауто-МСК; 15 хворим після виконання коронарографії у гирла коронарних артерій за допомогою катетерів Judkins Left та Judkins Right вводили ауто-МСК (Патент України №56597). Загальна кількість введених клітин – 50 000 000. Всім пацієнтам на даному етапі дослідження виконували катетерне електромеханічне картування лівого шлуночка за допомогою системи Noga XR (Cordis, США). Всі процедури виконували з використанням електрофізіологічне лабораторії Prucka Engineering (CardioLab 6,5) (GE, США) і навігаційної системи Noga XR.

Хворим 5-ї підгрупи після завершення процесу картування ЛШ встановлювали катетер Myostar (Biosense Webster, США), призначений для інтраміокардіального введення активних агентів. Попередньо регулювали довжину висунення голки з використанням імітатора дуги аорти (довжина висунення голки становить $\frac{1}{2}$ товщини міокарда). Виконували ін'єкції 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 зону реєстрації потенціалів пучка Гіса через ризик розвитку блокади лівої ніжки (Патент України №43994).

Для максимальної оптимізації ін'єкцій кінчик катетера встановлювали перпендикулярно стінці міокарда ЛШ під контролем навігаційної системи і флюороскопії. При стабільності положення катетера висували голку і

проводили введення клітин (ін'єкції). Швидкість введення матеріалу не перевищувала 0,1 мл за 15 сек. Зазвичай виконували 8–10 ін'єкцій по 0,2 мл кожна. Загальна кількість клітин, що вводились була 50 000 000.

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 зниженню ФК стенокардії.

При вивченні ефективності застосування різних способів трансплантації аутологічних МСК 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. Ускладнень після процедури трансплантації ауто-МСК не було.

При трансендоміокардіальному введенні ауто-МСК (5-а підгрупа) ускладнень, які описані в літературі, такі як зловкісні аритмії, інфекційні ускладнення і емболії, нами відмічено не було.

При медикаментозному лікуванні (1-а підгрупа) поліпшення стану відзначили лише 4 пацієнтів (26,7 %), без змін – 6 (40 %) і погіршення – 1 (6,7 %). Значного покращення не відмітив не один з пацієнтів. В терміни дослідження 3–6 місяців повторна госпіталізація знадобилась 7 (46,75 %) хворим. В ці терміни летальність склала 6,7 % (один пацієнт помер на фоні прогресування явищ СН).

У 2-й підгрупі ендоміокардіальних порожніх ін'єкцій поліпшення стану відзначило 9 (60 %) досліджуваних, без змін – 5 (33,3 %) і погіршення виявлено у 1 (6,7 %), значного поліпшення стану не відмічав жоден пацієнт. Ускладнень у вигляді зловкісних 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 було 5 (33,3 %) і погіршення виявлено у 1 (6,7 %). У одного хворого (6,7 %) ранній посттрансплантаційний період ускладнився розвитком мікротромбозів судин з розвитком ІМ, який був пролікований консервативно. В одному випадку (6,7 %) післяопераційний період ускладнився формуванням пульсуючої гематоми в зоні доступу на стегні, що потребувало застосування хірургічного посібника – ушивання дефекта стегневої артерії. Таким чином, загальна кількість ускладнень у хворих підгрупи 4 становила 13,3 %. У зв'язку з високою кількістю післяопераційних ускладнень в подальшому ці хворі не піддавалися дослідженню.

Ефективність застосування ауто-МСК КМ в залежності від способу введення наведена в табл. 5.1.

Таблиця 5.1

Ефективність застосування ауто-МСК в залежності від способу введення

Підгрупи		Ефективність лікування				Всього
		Погіршення	Без змін	Покращення	Значне покращення	
3-я		2	3	7	3	15
5-а		1	2	8	4	15
1-а		5	6	4	–	15
2-а		1	5	9	–	15
4-а		1	5	9	–	15
Всього	Дослідні	3	5	15	7	30
	Контроль	6	11	13	–	30

Таким чином, при застосуванні трансплантації ауто-МСК в двох досліджуваних підгрупах (основних) значне поліпшення загального стану відзначили 7 пацієнтів – 23,3 %, поліпшення – 15 (50 %), без змін було 5 (16,7 %) осіб, погіршення – у 3 (10 %). В контрольних групах, як вже

зазначалося вище, значного поліпшення загального стану пацієнтів не було, поліпшення відзначено у 13 (43,3 %), без змін були 11 (36,7 %) хворих, погіршення виявлено у 6 (20 %). Отже, виявлена явна перевага у 60 % пацієнтів з ендокардіальними «порожніми» в порівнянні медикаментозним лікуванням – 26,7 %, можна пояснити ангіогенним фактором механічного пошкодження міокарда.

У досліджуваних підгрупах виявлено статистично достовірне ($p < 0,05$) поліпшення якості життя (рис. 5.1) по Міннесотському опитувальнику (MLHFQ). У підгрупі трансендоміокардіального введення показник покращився на 25 і 16 балів, в підгрупі внутрішньовенного введення - на 33 і 17 балів, в підгрупі з «порожніми» ендоміокардіальний ін'єкціями відзначено поліпшення якості життя на 16 і 10 балів, відповідно через 3 і 6 місяців. В той же час в підгрупі медикаментозної терапії за 3 місяці якість життя практично не змінилося, а через 6 місяців погіршилося на 6 балів.

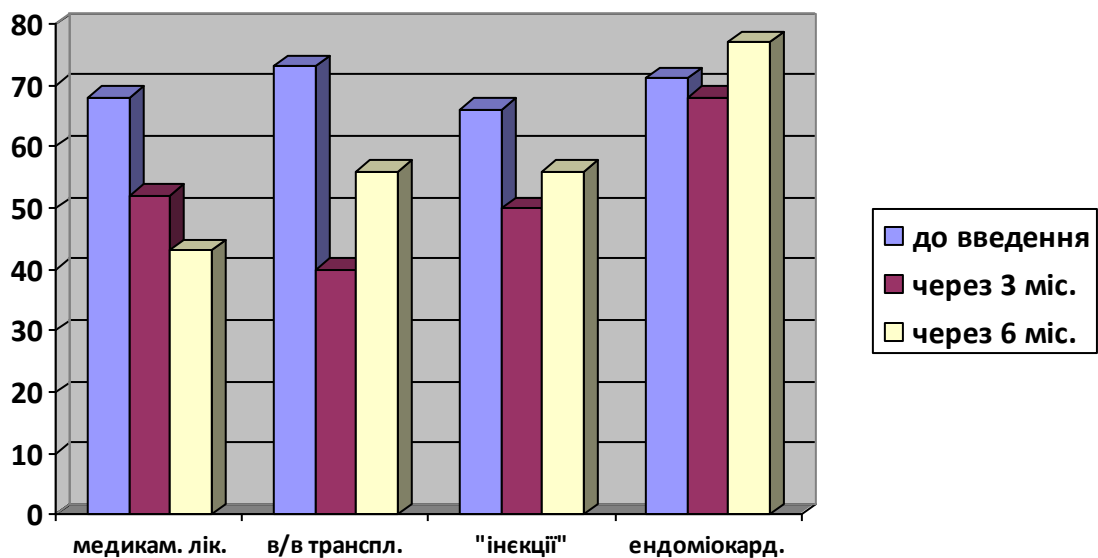


Рис.5.1. Динаміка якості життя (в балах) по MLHF.

При вивченні динаміки ФК стенокардії (табл. 5.2) в підгрупах дослідження і підгрупах контролю ми не отримали статистично достовірних відмінностей ($p > 0,05$).

Таблиця 5.2

Динаміка ФК стенокардії у хворих з ІХС у досліджуваних підгрупах

Підгрупи		До введення		Через 3 місяці		Через 6 місяців		Р
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
ФК II	5-а.	5	8,33	6	10,0	4	6,66	>0,05
	3-я	0	0	1	1,66	1	1,66	>0,05
	2-а	0	0	0	0	1	1,66	>0,05
	1-а	3	5,0	2	3,33	0	0	>0,05
ФК III	5-а	7	11,66	7	11,66	8	13,33	>0,05
	3-я	8	13,33	8	13,33	7	11,66	>0,05
	2-а	11	18,33	11	18,33	11	18,33	>0,05
	1-а	9	15,0	10	16,66	8	13,33	>0,05
ФК IV	5-а.	3	5,0	2	3,33	3	5,0	>0,05
	3-я	7	11,66	6	10,0	7	11,66	>0,05
	2-а	4	6,66	4	6,66	3	5,0	>0,05
	1-а	3	5,0	3	5,0	7	11,66	>0,05
Всього		60	100,0	60	100,0	60	100,0	>0,05

Трансендоміокардіальне введення аутологічних МСК через 3 місяці призводило до збільшення кількості пацієнтів з ФК 2 і зменшення кількості ФК 4, кількість хворих з ФК 3 залишається незмінним (рис. 5.2). Однак, через 6 місяців кількість пацієнтів з ФК4 нічого не змінилось в порівнянні з 3 місячним терміном, однак їх число було менше, ніж до початку лікування. Пацієнтів з ФК 2 ставало через 6 місяців більше, ніж до початку лікування, але менше, ніж в термін 3 місяці. Зростала кількість пацієнтів з ФК3. Таким чином, клітинна кардіоміопластика, виконана шляхом введення ауто-МСК трансендокардіально покращує загальний стан хворих і знижує ФК стенокардії.

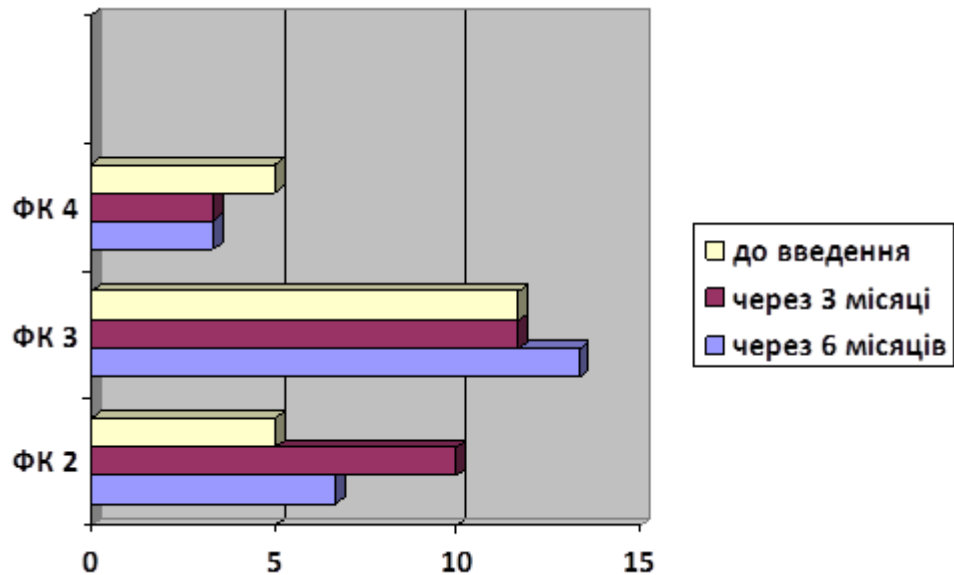


Рис 5.2. Динаміка ФК стенокардії при трансендоміокардіальному введенні ауто-МСК.

При вивченні динаміки ФК в підгрупі з медикаментозним лікуванням (рис. 5.3) зазначено, що вже до 3 місячного терміну зростала кількість пацієнтів з ФК 3 за рахунок зменшення пацієнтів з ФК 2, число хворих з ФК4 залишалось незмінним. Однак, до 6 місячного терміну кількість хворих з ФК 2 значно зменшувалася і зростало число пацієнтів з ФК 4. Таким чином, медикаментозне лікування стенокардії призводить до погіршення загального стану хворих і підвищення функціонального класу стенокардії.

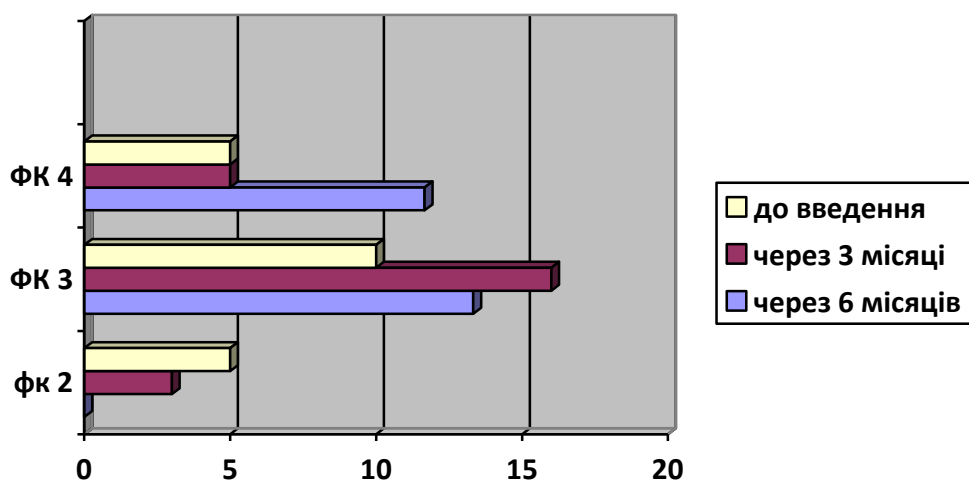


Рис. 5.3. Динаміка ФК стенокардії при медикаментозному лікуванні

При вивченні ФК стенокардії в підгрупі пацієнтів з «порожніми» ендоміокардіальними ін'єкціями в 3-місячний терміні нами не було виявлено будь-яких змін. Однак, через 6 місяців відзначалося зменшення кількості пацієнтів з ФК 4 і поява хворих з ФК 2, число пацієнтів з ФК 3 при цьому не змінювалося. Таким чином, побічно підтверджується наша гіпотеза, що в місці ін'єкцій міокарда з'являються нові судини, які через 6 місяців покращують кровопостачання міокарда, що призводить до поліпшення загального стану хворих і зниження ФК стенокардії (рис. 5.4).

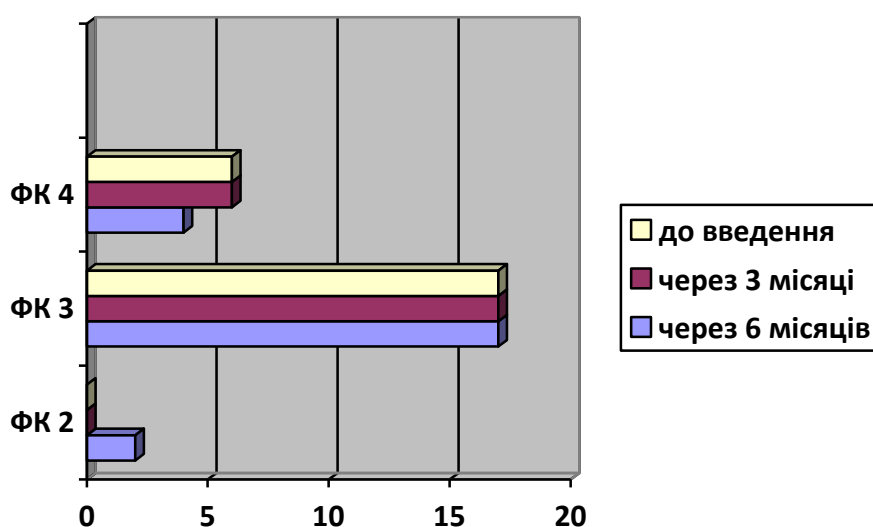


Рис. 5.4. Динаміка ФК стенокардії після виконання «порожніх» ендоміокардіальних ін'єкцій.

Зменшення проявів СН і зниження ФК по NYHA (табл. 5.3) нами було виявлено у пацієнтів підгруп дослідження, при цьому в підгрупі трансендоміокардіального введення ауто-МСК ефект утримувався протягом 3–6 місяців ($p < 0,05$), а при внутрішньосудинному введенні – дещо менше: 2–4 місяці ($p < 0,05$).

Таблиця 5.3

**Динаміка розподілу хворих на ІХС за ФК по НУНА через 3 і 6 місяців
після введення ауто-МСК**

ФК	Шлях введення	До введення		Через 3 місяці		Через 6 місяців		P
		Абс	%	Абс	%	Абс.	%	
ФК II	трансендоміо-кардіальний	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
	медикамент.терапія	1	1,66	2	3,33	0	0	<0,05
ФК III	трансендоміо-кардіальний	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
	медикамент.терапія	8	13,33	9	15,0	8	13,33	<0,05
ФК IV	Трансендоміо-кардіальний	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
	медикамент.терапія	6	10,0	4	6,66	7	11,66	<0,05
Всього		60	100,0	60	100,0	60	100,0	

При вивченні динаміки ФК по НУНА при трансендокардіальному введенні клітинного трансплантата (рис. 5.5) в термін 3 місяці ми відзначали збільшення кількості пацієнтів з ФК 2 і зменшення числа хворих з ФК 3 і ФК 4. У термін 6 місяців кількість пацієнтів з ФК 2 зросла за рахунок зниження кількості пацієнтів з ФК 3 і 4. Таким чином, ще раз підкреслюється

позитивний вплив клітинної кардіоміопластики з трансендокардіальною доставкою трансплантата на перебіг стенокардії.

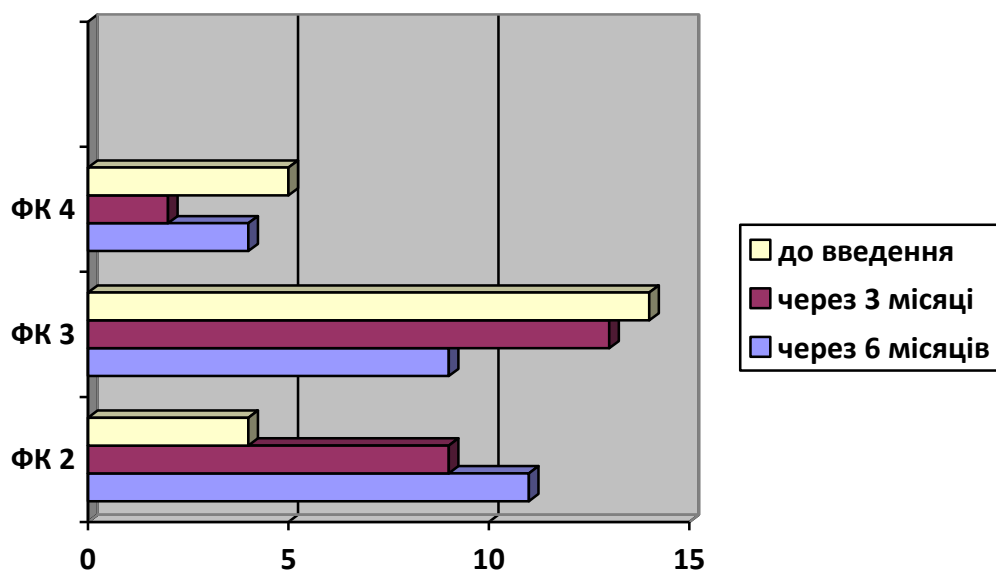


Рис. 5.5. Динаміка ФК по NYHA при трансендоміокардіальному введенні ауто-МСК.

При вивченні динаміки ФК по NYHA в підгрупі з внутрішньовенним введенням трансплантата (рис. 5.6) також відзначена позитивна динаміка до 3 місячного терміну, яка проявлялася в підвищенні кількості пацієнтів з ФК 2 і зменшенні числа хворих з ФК 4 і ФК 3. Проте, до терміну 6 місяців було відзначено невелике зростання числа пацієнтів з ФК 4 і ФК3, проте, при порівнянні з вихідним станом явно визначався позитивний ефект в перебігу захворювання.

При медикаментозному лікуванні (рис. 5.7) відзначена початкова хибнопозитивна динаміка перебігу стенокардії: починаючи з терміну 3 місяці відзначалося збільшення числа пацієнтів з ФК 2 і 3, а також зменшення числа хворих з ФК4. Але до терміну 6 місяців кількість хворих з ФК 2 нівелювалося і значно зростала число з ФК 4 і 3. Отже, ми ще раз підтвердили негативне протягом стенокардії при медикаментозному лікуванні в динаміці.

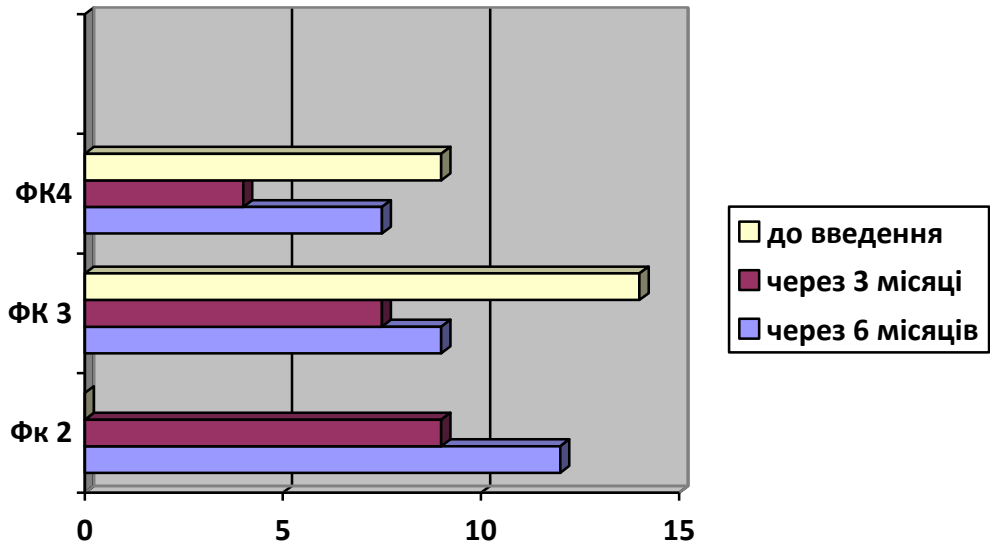


Рис. 5.6. Динаміка ФК по NYHA при внутрішньовенному введенні ауто-МСК.

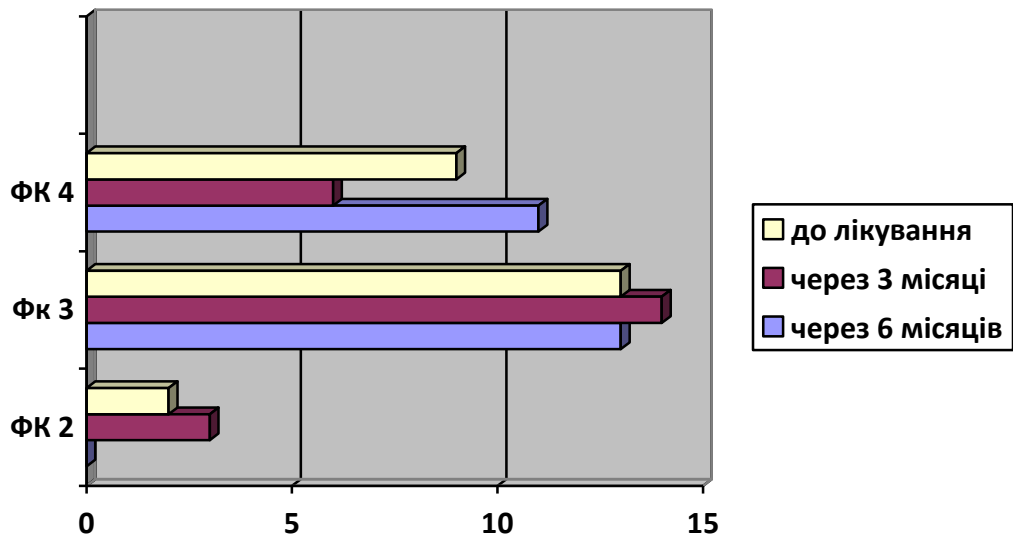


Рис. 5.7. Динаміка ФК по NYHA на фоні медикаментозної терапії.

Для підгрупи з ендокардіальними ін'єкціями було характерним стабільна кількість пацієнтів з ФК 3 (рис. 5.8). В термін 3 місяці зростала кількість хворих з ФК 2 за рахунок зменшення хворих з ФК 4. До кінця 6 місяця після ін'єкцій відзначалося зниження кількості пацієнтів з ФК 2 і зростання числа ФК 4.

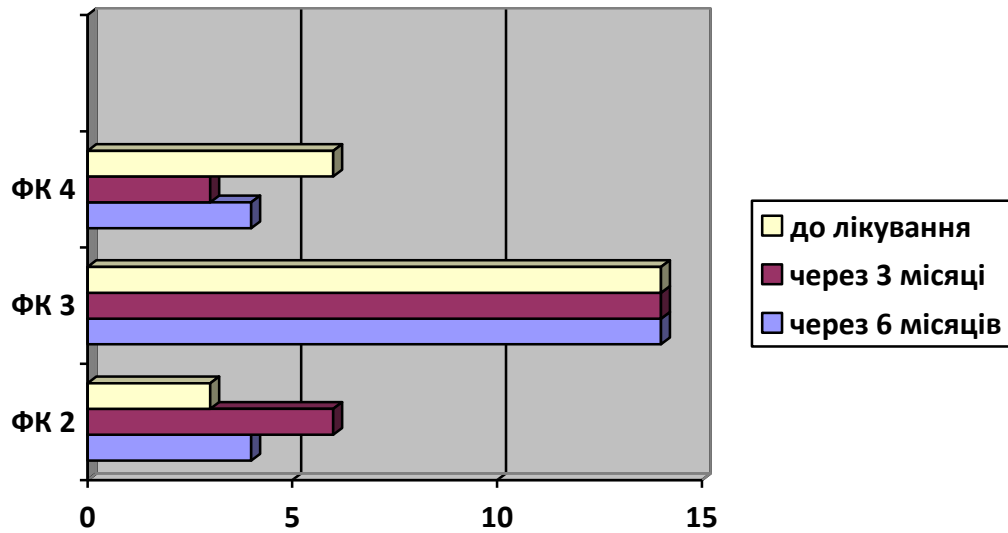


Рис. 5.8. Динаміка ФК по NYHA після «порожніх» ендоміокардіальних ін'єкцій.

Вивчення динаміки толерантності до фізичного навантаження (табл. 5.4), показало, що через 6 місяців при трансендокардіальному введенні клітинного трансплантата відбувалося збільшення тредміл з $2,4 \pm 0,82$ до $4,2 \pm 0,95$ при $p < 0,05$, тобто практично в 2 рази.

Таблиця 5.4

Динаміка толерантності до фізичних навантажень (тредміл) ($M \pm m$)

Підгрупи	Перед введенням	Через 6 місяців	P1
5-а (n=15)	$2,4 \pm 0,82$	$4,2 \pm 0,95^*$	$< 0,05$
3-я (n=15)	$2,8 \pm 0,46$	$3,8 \pm 0,47^*$	$< 0,05$
4-а (n=15)	$2,7 \pm 0,44$	$3,6 \pm 0,45^*$	$< 0,05$
1-а (n=15)	$3,2 \pm 0,47$	$2,3 \pm 0,48$	$< 0,05$
2-а (n=15)	$2,5 \pm 0,86$	$3,1 \pm 0,82$	$> 0,05$

Примітка. * – достовірність між початковими показниками і через 6 місяців.

У підгрупі з внутрішньовенним введенням клітин тредміл підвищувався з $2,8 \pm 0,46$ до $3,8 \pm 0,417$ при $p < 0,05$. Співпоставні дані ми відмітили у 4-й підгрупі хворих. В підгрупі медикаментозного лікування стенокардії відбувалося зниження толерантності до фізичного навантаження з $3,2 \pm 0,47$ до $2,3 \pm 0,48$ при $p < 0,05$. У підгрупі з «порожніми» ендокардіальними ін'єкціями толерантність до фізичного навантаження залишалася без істотної динаміки.

При аналізі глобальної скоротливості ЛШ по даним ЕхоКГ спостерігалось достовірне зменшення обсягів ЛШ у всіх досліджуваних підгрупах порівняно з підгрупами контролю з помірним збільшенням ФВ ЛШ у власне досліджуваних підгрупах порівняно з вихідними значеннями. Відмінність середньої ФВ ЛШ в досліджуваних підгрупах було достовірно значущим через 3 і 6 місяців після введення.

При вивченні динаміки КДО лівого шлуночка (табл. 5.5) ми отримали наступні дані. У групі з ендокардіальним введенням через 3 місяці відбувалося зниження КДО з $(248,5 \pm 22,3)$ до $(194,3 \pm 26,4)$ мл, далі через 6 місяців даний показник був стабільний, але знижувався в порівнянні з вихідними показниками ($p > 0,05$). У підгрупах з внутрішньовенним та інтракоронарним введенням спостерігалася подібна тенденція: КДО 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.

Таким чином, зниження КДО ЛШ в ранньому посттрансплантаційному періоді є прогностично позитивною ознакою для хворих з СН на тлі стенокардії. У підгрупі з медикаментозною терапією і «порожніми» ін'єкціями в ендокард показник КДО істотно не змінювався протягом ранніх термінів дослідження.

При вивченні динаміки ФВ ЛШ за даними УЗД (табл. 5.5) в підгрупі з трансендокардіальним введенням клітинного трансплантата відзначалося зростання досліджуваного показника в термін 3 місяці з $(41,3 \pm 3,2)$ до

(49,3±4,6) %, до терміну 6 місяців посттрансплантаційного періоду він залишався стабільним.

Таблиця 5.5

Динаміка КДО ЛШ (мл.) (M±m)

Вид терапії	Перед введенням	Через 3 місяці	P1	Через 6 місяців	P2	P3
Трансендоміо-кардіальне 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.

У підгрупі з внутрішньовенним введенням трансплантата також зазначалося зростання ФВ ЛШ з (33,8±3,6) до (42,8±4,8) % в термін 3 місяці і далі поступово знижувалася і до 6 місяців наближалася до показників.

Подібну тенденцію ми спостерігали у хворих підгрупи 4. Таким чином, клітинна трансплантація незалежно від способу введення підвищує ФВ лівого шлуночка, більш істотно в підгрупі з трансендокардіальним способом введення. У підгрупах медикаментозного лікування і «порожніх» ін'єкцій відсутня будь-яка динаміка ФВ ЛШ.

Таблиця 5.6

Динаміка ФВ ЛЖ (%) (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
Внутривенне 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.

Через 6 місяців після проведеної терапії при контрольному картуванні отримані наступні результати: в підгрупі трансендоміокардіальних введень ауто-МСК у 13 пацієнтів (86,7 %) відзначена позитивна динаміка: зона гібернованого міокарда значно зменшувалася або зовсім зникла. На вольтажній уніполярній мапі збільшилася амплітуда електрограми, що є свідченням збільшення маси живого міокарда, на механічній мапі збільшилася амплітуда руху сегмента. При цьому у 8 пацієнтів (53,4 %)

відзначалося значне поліпшення, у 2 пацієнтів (13,3 %) дані залишилися без змін. Слід зазначити, що у 2 (13,3 %) випадках у хворих цієї підгрупи в терміни 3–6 місяців після стабілізації скоротливої функції ЛШ бідо виконано АКШ. Під час операції 50000000 клітин були безпосередньо введені по краю зони ІМ. Таким чином, трансендоміокардіальний шлях введення ауто-МСК з використанням електромеханічної навігації дозволяє чітко контролювати топографію і потребує відносно невеликої кількості клітин. Тим не менш, це інвазивна кардіохірургічна процедура, яка супроводжується операційним ризиком, у зв'язку з чим вона повинна виконуватися тільки в спеціалізованих відділеннях. Значним недоліком цієї процедури є можливість формування у пошкодженому міокарді «острівків» клітин внаслідок їх нерівномірного розподілення, що може порушувати електромеханічні сполучення між кардіоміоцитами і стати причиною аритмій.

Таблиця 5.7

Ефективність використання ауто-МСК за даними картування в залежності від способу введення

Метод лікування	Ефективність лікування			Всього
	Без змін	Покращення	Значне покращення	
Трансендоміокардіальне введення ауто-МСК	2	5	8	15
Ендоміокардіальні ін'єкції	–	14	1	15
Внутрішньовенне/інтракоронарне введення ауто-МСК	17	13	–	30
Всього	10	32	12	60

У підгрупі ендоміокардіальних «порожніх» ін'єкцій по результатам картування ЛШ ми отримали наступні результати: у всіх пацієнтів відзначалася позитивна динаміка, при цьому у 1 (2,22 %) відзначено значне поліпшення, що також є підтвердженням висунутої нами гіпотези.

У підгрупі внутрішньовенного/інтракоронарного введення ауто-МСК незначна позитивна динаміка відзначалася у 7 пацієнтів (46,7 %), а у 8 пацієнтів (53,3 %) за результатами картування не відбулося ніяких змін в порівнянні з вихідним картуванням.

Ефективність проведеного лікування ілюстрована наступними клінічними прикладами (рис. 5.9–5.13).

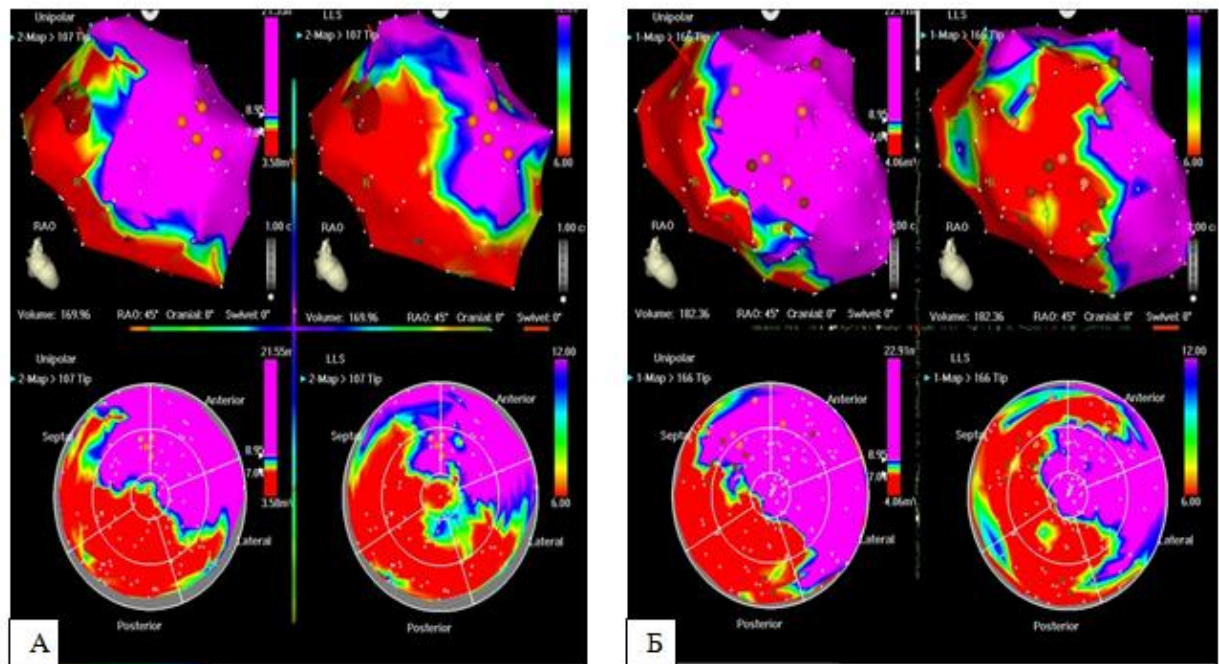


Рис. 5.9. Електромеханічна карта у пацієнта К., 61 рік (підгрупа 2).
 діагноз: ІХС: стенокардія напруги ФК 2, постінфарктний (Q-ІМ ЛШ в 1993, 1996, 1999, 2006 р.р.) і атеросклеротичний кардіосклероз. Пароксизмальна шлуночкова тахікардія. Пароксизмальна форма атопічного тріпотіння передсердь. Стан після Мірча каво-трикуспідального перешийка і ІКД в 2006 р.

Панель А: вихідне картування – велика зона гіпокінеза в передньо-перегородковій-базальному відділі і задньо-базальному відділі (гібернованого міокард). Червоні точки – місця ін'єкцій. Панель Б: контрольне картування: значно покращилася механічна функція в передній зоні (зона ін'єкції), в області середнього передньо-латерального сегмента і не змінилася задньо-базальному.

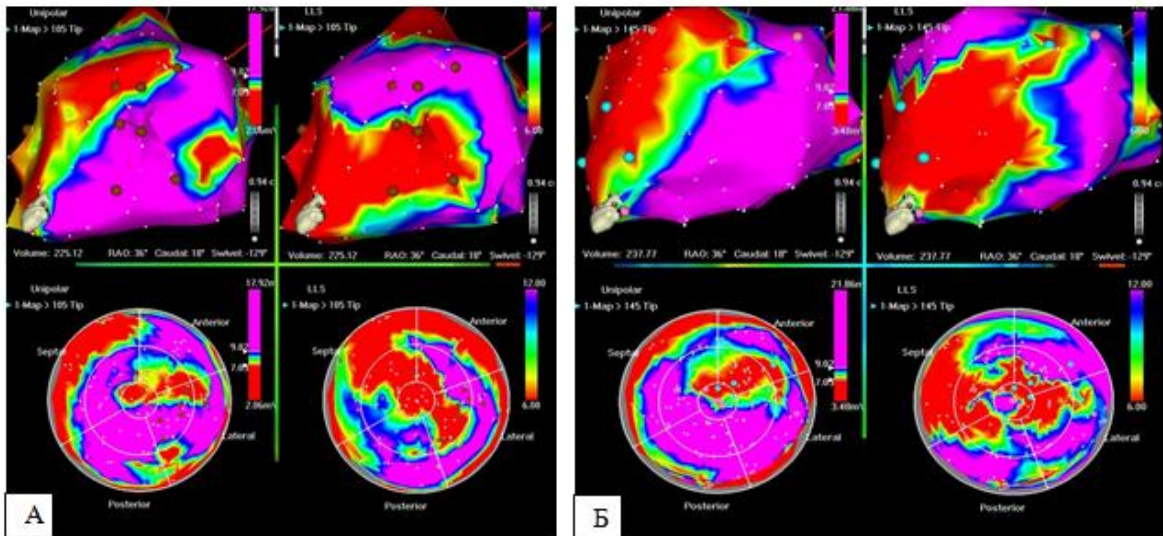


Рис. 5.10. Електромеханічна карта у пацієнтки М., 61 рік (підгрупа 5). Діагноз: ІХС: стенокардія напруги ФК 2, постінфарктний і атеросклеротичний кардіосклероз. Стан після стентування ПМЖВ і ПКА в 2008 р. Хронічна аневризма лівого шлуночка. ХСН 1 ст.

Панель А: вихідне картування – велика зона гіпокінеза в передньо-перегородковій-верхівкової-бічній області (гібернованого міокард). Червоні точки – місця ін'єкцій. Панель Б: контрольне картування: значно зменшилася зона гіпокінеза в області перегородки і практично не змінилася в латеральних відділах.

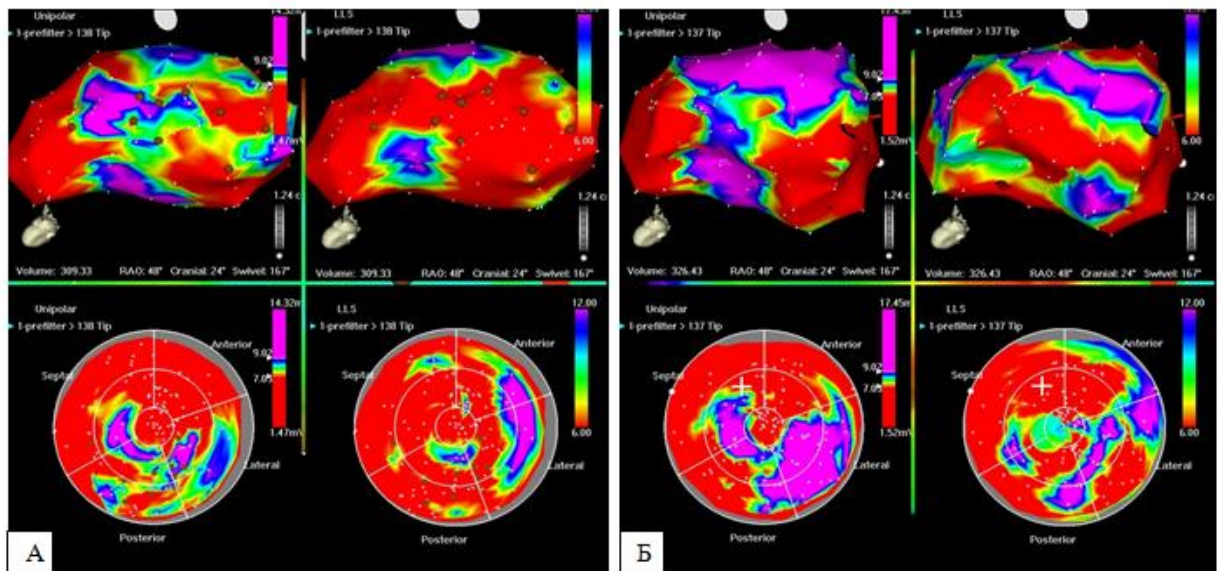


Рис. 5.11. Електромеханічна карта у пацієнта Ш., 57 років (підгрупа 5). Діагноз: ІХС: стенокардія напруги ФК 2, постінфарктний (Q-передньо-перегородковій області ЛШ в 2008 р.) І атеросклеротичний кардіосклероз. ХСН 1 ст. Панель А: вихідне картування – на уніполярній мапі вольтаж вище 7 мВ тільки в області високих передніх відділів – велике рубцеве поле. Червоні точки – місця уколів. Панель Б: контрольне картування: збільшилася зона з амплітудою більше 7 мВ в базально-латеральному відділі і базально-септальний відділі.

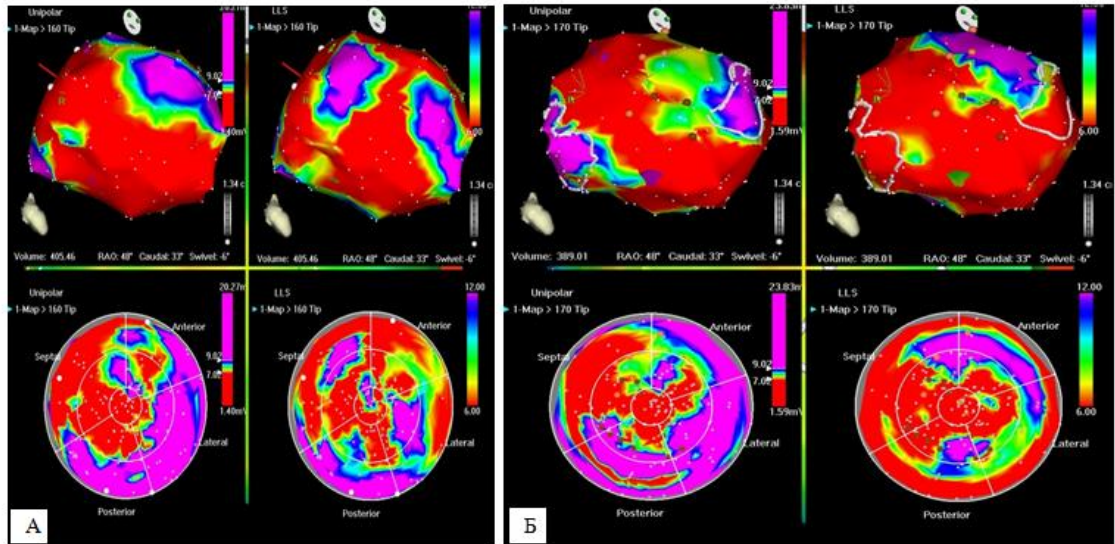


Рис. 5.12. Електромеханічна карта у пацієнта К., 56 років (підгрупа 2).
 діагноз: ІХС: стенокардія напруги ФК 3, постінфарктний (1999, 2002, 2005 рр.) І атеросклеротичний кардіосклероз. Стан після АКШ-4, аневризмектомії в 2006 р. ХСН 1 ст. Панель А: вихідне картування - середнього розміру зона гіпокінеза задньо-базальних відділів і по периферії рубця (гібернованого міокард). Панель Б: контрольне картування: незначна позитивна динаміка. Виконано уколи в зону гібернованого міокарда. Червоні точки - місця уколів.

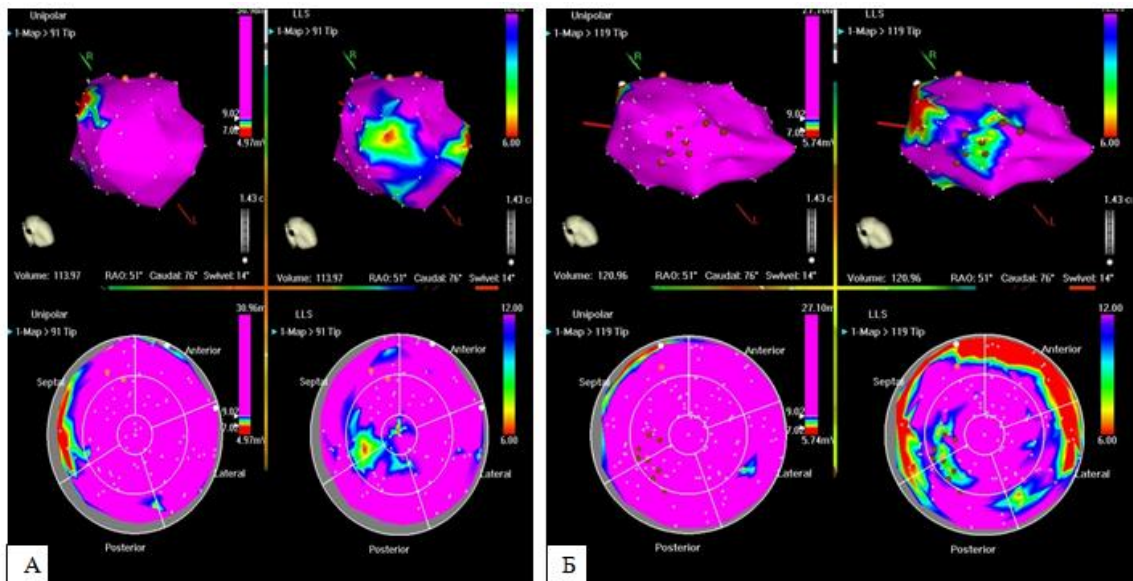


Рис. 5.13. Електромеханічна карта у пацієнта С., 56 років (підгрупа 2).
 діагноз ІХС: стенокардія напруги ФК 2-3, атеросклеротичний кардіосклероз. Стан після МКШ-1 і АКШ-3 25.03.09 р. Оклюзія мамарного шунта. ХСН 1 ст.
 Панель А: вихідне картування – невеликого розміру зона гіпокінеза в задньо-нижньому відділі і в області верхівки (гібернованого міокард). Панель Б: контрольне картування: середнього розміру зона гіпокінеза в базальних відділах: без динаміки в порівнянні з вихідними даними (можливо, деяке погіршення). Виконано уколи в зону гібернованого міокарда Червоні точки – місця уколів.

Одним із завдань другого етапу дослідження було вивчення закономірностей процесів ПОЛ і активності АС при ІХС на фоні трансплантації МСК КМ (табл. 5.8–5.9).

Таблиця 5.8

Порівняльний аналіз вмісту лактата, ЛДГ, аденозіндезамінази в групі медикаментозної терапії і групі трансендоміокардіального введення ауто-МСК (M±m)

Показники	До лікування		Через 3 місяці після лікування		Через 6 місяців після лікування	
	т/е введ. (n=15)	Конт- роль (n=15)	т/е введ. (n=15)	Конт- роль (n=15)	т/е введ. (n=15)	Конт- роль (n=15)
Лактат	4,75± 1,32	4,65± 1,32	4,31± 1,05	4,63± 1,51	4,5± 1,01	4,59± 12,36
ЛДГ	189,3± 34,08	198± 36,5	190,5±3 6,5	200,1± 29,3	183,2± 15,8	202,5± 39,1
ЛДГ в еритроцитах	815,73± 176,6	952,23± 175,2	799,23± 177,2	946,25± 189,3	824,04± 159,048	924,2± 123,5
Аденозін-дезаміназа	89,17± 29,2	79,56± 32,4	74,77± 32,54	89,5± 30,5	81,5± 34,15	80,54± 38,1

Як свідчать наведені в таблицях 5.8 і 5.9 дані, ін'єкції в міокард з введенням ауто-МСК суттєво не впливали на динаміку показників ПОЛ ($p > 0,05$).

У таблиці 5.10 представлені дані про динаміку стану АС, отримані нами у хворих на ІХС, пролікованих з використанням клітинних технологій.

Таблиця 5.9

Порівняльний аналіз вмісту лактата, ЛДГ, аденозіндезамінази в групі медикаментозної терапії і групі «пустих ін'єкцій» (M±m)

Показники	До лікування		Через 3 місяці після лікування		Через 6 місяців після лікування	
	«пусті» ін'єкції (n=15)	Конт- роль (n=15)	«пусті» ін'єкції (n=15)	Конт- роль (n=15)	«пусті» ін'єкції (n=15)	Конт- роль (n=15)
Лактат	4,83± 1,52	4,65± 1,32	4,52± 1,15	4,63± 1,51	4,75± 1,24	4,59± 12,36
ЛДГ	191,33± 35,08	198± 36,5	193,54± 42,5	200,1± 29,3	185,2± 25,8	202,5± 39,1
ЛДГ в еритроцитах	805,75± 186,6	952,23± 175,2	789,23± 156,2	946,25± 189,3	801,89± 189,98	924,2± 123,5
Аденозін-дезаміназа	86,07± 35,2	79,56± 32,4	79,56± 29,54	89,5± 30,5	89,5± 33,1	80,54± 38,1

Таблиця 5.10

Вміст продуктів ПОЛ і активність ферментів АОС в крові хворих на ІХС на фоні лікування ауто-МСК в підгрупах дослідження (M±m)

Показник	Групи/Терміни дослідження		
	До лікування	Через 3 місяці	Через 6 місяців
Підгрупа 5 (n=15)			
МДА, нМ/л	1,76±0,66	1,56±0,75	1,59±0,58
Каталаза, мккат/л	81,0±56,6	75,6±42,3	73,85±41,5
Церулоплазмін, мг/дл	29,26±8,66	32,5±7,45	35,29±8,34
Відновлений глутатиін, мкмоль/л	1189,83±698,82	1253±425,2	1287±502,7

Продовження таблиці 5.10			
Підгрупи 2 і 4 (n=30)			
МДА, нМ/л	1,62±0,36	1,59±0,66	1,54±0,53
Каталаза, мккат/л	83,2±52,4	79,3±51,8	77,8±49,5
Церулоплазмін, мг/дл	27,35±7,95	31,8±8,43	33,35±8,77
Відновлений глутатіон, мкмоль/л	1106,8±566,8	1156,89±568,7	1175±477,7
Підгрупа 3 (n=15)			
МДА, нМ/л	1,77±0,56	1,69±0,62	1,71±0,48
Каталаза, мккат/л	86,4±62,41	81,3±53,9	79,72±61,25
Церулоплазмін, мг/дл	31,7±8,73	28,6±6,94	30,05±7,88
Відновлений глутатіон, мкмоль/л	1172,8±663,7	1189,25±663,7	1185,64±673,7
Підгрупа 1 (n=15)			
МДА, нМ/л	1,86±0,81	1,82±0,68	1,91 4±0,63
Каталаза, мккат/л	85,1±64,2	83,3±61,45	81,8±53,41
Церулоплазмін, мг/дл	29,45±8,4	32,1±6,43	31,8±7,54
Відновлений глутатіон, мкмоль/л	1122,3±486,8	1125,8±596,3	1134±587,6

Як свідчать наведені в таблиці 5.10 дані, істотних відмінностей в динаміці досліджуваних показників АС в залежності від метода введення стовбурових клітин нами отримано не було ($p>0,05$).

Нами вивчався також рівень тімідинфосфорілази (ТМФ) (її анаболічного і катаболічного ізомерів), як маркера ангіогенезу початково, а також через 3 і 6 місяців після лікування (рис. 5.14–5.15).

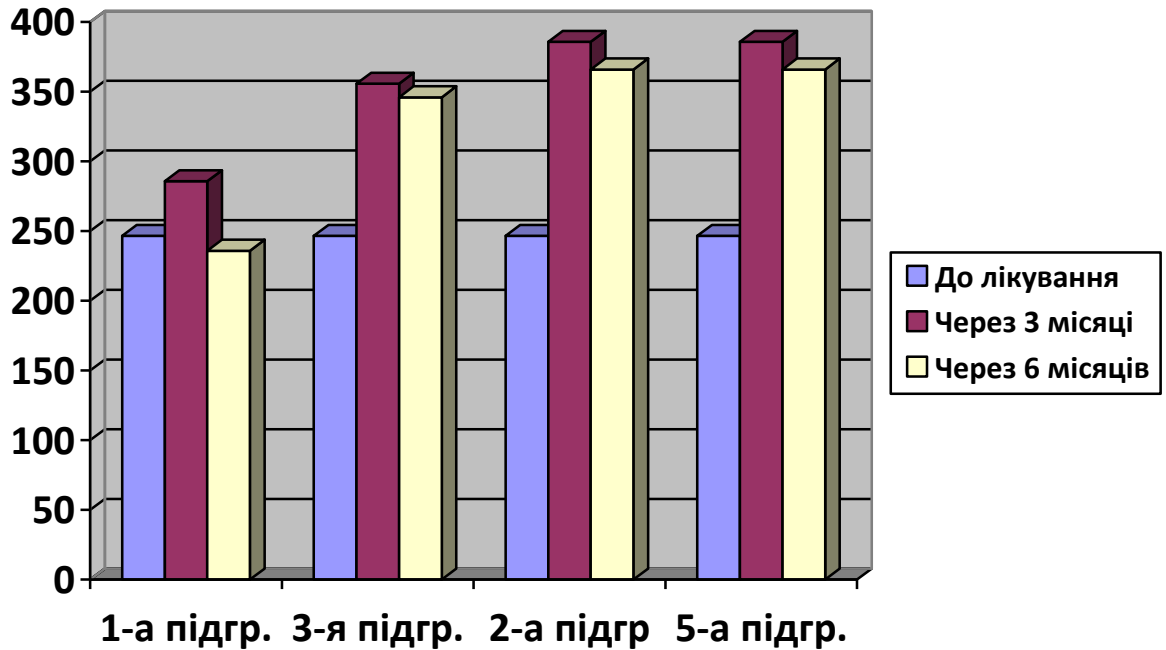


Рис. 5.14. Динаміка показників ТМФ (катабол.) в підгрупах клітинної терапії і контролю.

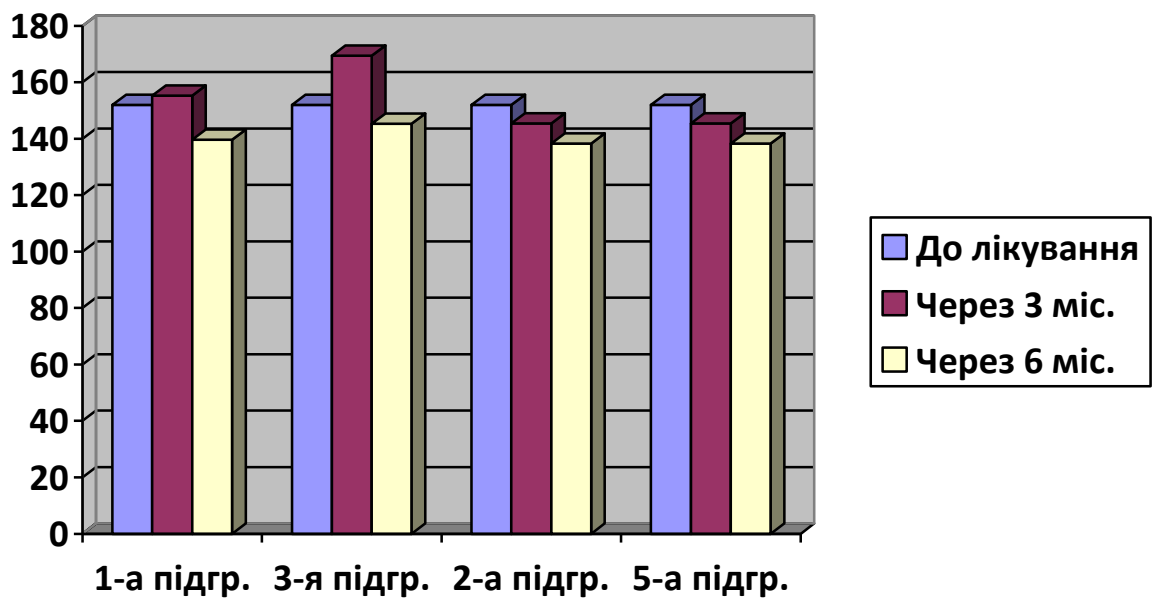


Рис. 5.15. Динаміка показників ТМФ (анабол.) в підгрупах клітинної терапії і контролю.

До початку лікування істотних відмінностей між вмістом ТМФ (катабол.) та ТМФ (анабол.) у хворих досліджуваних підгруп виявлено не було. Через 3 місяці після лікування відмічено підвищення ТМФ (катабол.), найбільш виражене в підгрупах 2 і 5 (тобто після виконання ін'єкцій в міокард) – з $(246,51 \pm 34,54)$ до $(385,7 \pm 32,8)$. В ці терміни дослідження відмічено підвищення рівня ТМФ (анабол.) в підгрупі внутрішньовенного введення до $(169,4 \pm 13,5)$ і деяке зниження в підгрупах 2 і 5 до $(145,4 \pm 9,3)$. В 6-місячний термін дослідження рівень ТМФ (катабол.) в контрольній підгрупі наближався до вихідних даних і дещо знижувався у хворих після внутрішньовенної трансплантації ауто-МСК – до $(345,9 \pm 28,6)$ і в підгрупах хворих з ТМФ ін'єкціями – до $(365,9 \pm 26,4)$. В цей термін дослідження у всіх досліджуваних хворих відмічено зниження рівня тімідінфосфорілази (анабл.), при цьому значення істотно не відрізнялися між групами ($p > 0,05$). Отримані дані підтверджують висунуту нами гіпотезу щодо стимуляції неоангіогенезу шляхом ін'єкцій в міокард в тримісячні терміни дослідження.

У всіх пацієнтів обстежували ліпідний спектр до початку терапії, а також через 3 і 6 місяців після терапії (5.11–5.5.13).

Таблиця 5.11

**Вихідні показники ліпідного обміну в підгрупах дослідження і
медикаментозної терапії (M±m)**

Підгрупи	Показники					
	ХЛ загальний	ЛПВЩ	ЛПНЩ	ЛПДНЩ	Триглі- цериди	КА
5-а (n=15)	4,9±1,43	1,04±1,18	3,1±0,22	0,77±0,33	1,98±1,11	3,84±1,38
3-я, 4-а (n=30)	5,2±1,52	1,2±1,05	2,8±0,18	0,79±0,35	1,78±0,91	4,01±1,25
2-а (n=15)	4,96±1,24	1,07±0,92	3,5±0,28	0,81±0,32	1,69±0,87	2,98±0,87
1-а (n=15)	5,08±1,09	1,03±1,06	3,4±0,21	0,72±0,29	2,02±1,12	3,52±1,28

Як видно з наведених в таблиці 5.11 даних, початково показники ліпідного обміну в досліджуваних підгрупах було порівняними ($p > 0,05$).

Таблиця 5.12

Показники ліпідного обміну в підгрупах дослідження і медикаментозної терапії через 3 місяці після лікування ($M \pm m$)

Підгрупи	Показник					
	ХЛ загальний	ЛПВЩ	ЛПНЩ	ЛПДНЩ	Тригліцериди	КА
5-а (n=15)	4,5±1,29	1,84±1,09	2,9±0,25	0,76±0,31	1,8±1,02	3,51±1,08
3-я, 4-а (n=30)	4,8±1,41	1,6±1,35	2,3±0,12	0,8±0,24	1,35±0,87	3,68±1,05
1-а (n=15)	4,3±1,05	1,37±0,72	3,31±0,33	0,79±0,06	1,7±0,52	2,7±0,85
2-а (n=15)	5,18±1,29	1,13±0,96	3,2±0,11	0,73±0,16	1,96±1,15	3,39±1,24

Таблиця 5.13

Показники ліпідного обміну в підгрупах дослідження і медикаментозної терапії через 6 місяців після лікування ($M \pm m$)

Підгрупи	Показник					
	ХЛ загальний	ЛПВЩ	ЛПНЩ	ЛПДНЩ	Тригліцериди	КА
5-а (n=15)	4,53±1,23	1,89±1,19	2,3±0,21	0,68±0,25	1,98±1,11	3,43±0,87
3-я, 4-а (n=30)	4,6±1,12	1,87±1,03	2,1±0,25	0,77±0,09	1,30±0,74	3,60±1,15
2-а (n=15)	4,32±1,25	1,39±0,54	3,57±0,45	0,66±0,15	1,84±0,64	3,1±0,78
1-а (n=15)	5,2±1,30	1,16±1,01	3,29±0,15	0,74±0,12	1,99±1,24	3,41±1,15

В динаміці дослідження було виявлено, що рівні ЛПВЩ підвищувалися: в підгрупі 5 з $(1,04 \pm 1,18)$ до $(1,84 \pm 1,09)$ через 3 місяці після лікування і до $(1,89 \pm 1,19)$ через 6 місяців спостереження. В підгрупах 3 і 4 цей показник збільшувався з $(1,2 \pm 1,05)$ до $(1,87 \pm 1,0)$ через 6 місяців після лікування. При цьому відмічено зниження рівня ЛПНЩ в підгрупі 5 з $(3,1 \pm 0,22)$ до $(2,9 \pm 0,25)$ і $(2,3 \pm 0,21)$ в досліджувані терміни в підгрупах 3 і 4 – відповідно з $(2,8 \pm 0,18)$ до $(2,1 \pm 0,259)$. Також в підгрупах хворих, яким застосовувалися клітинні технології лікування, визначалося зниження рівня тригліцеридів: в підгрупі 5 з $(1,98 \pm 1,11)$ до $(1,98 \pm 1,11)$ через 6 місяців після лікування, та в підгрупах з внутрішньосудинним введенням СК – з $(1,78 \pm 0,91)$ до $(1,30 \pm 0,74)$ к кінцю спостереження. Однак, достовірних відмінностей при порівнянні показниками ліпідного обміну між підгрупами клітинної терапії (3 і 5) виявлено не було.

Таким чином, МСК КМ можуть бути імплантованими в міокард різними способами. Оптимальний шлях повинен забезпечувати високу концентрацію СК у пошкодженому міокарді і запобігати осіданню клітин в інших органах. Однак, оптимальний спосіб введення досі невідомий і, мабуть, в різних клінічних ситуаціях повинні застосовуватися різні методики трансплантації СК.

Інтракоронарне введення з використанням балонного катетера уявляється відносно безпечним методом доставки клітинного матеріала в міокард [157]. Введення клітин в коронарну артерію, тромбоз якої став причиною ІМ, напевно, дозволяє доставити клітини в максимальній концентрації в зону ІМ та перинфарктну тканину. Ця технологія використовується у хворих на гострий ІМ з елевацією сегмента ST і дисфункцією ЛШ, яким було з успіхом відновлено коронарний кровоток [154]. Однак, можливість диссемінації СК в області ІМ вивчена недостатньо. Показано, що при інтракоронарній доставці трансплантовані клітини мігрують в перинфарктну зону і потім просуваються в зону ІМ (так як і запальні клітини), але в перинфарктній зоні виявляється більше СК, ніж в

області ІМ [68]. Внутрішньокоронарний спосіб введенні клітин для відновлення функції ЛШ після ІМ має декілька суттєвих обмежень. При такому способі введення клітини можуть «застрягти» в дрібних капілярах, не досягнувши міокарда, або «затіратися» в системному кровотоці. Після внутрішньокоронарного введення лише мала частина клітин залишається в серці [157], а більша частина гине у продовж декількох діб або мігрує. Нами отримані дані щодо покращення функції ЛШ через 3 місяці після інтракоронарного введення ауто-МСК КМ, яке починає нівелюватися в 6-місячний термін. Це пояснюється стимуляцією ангіогенезу, паракринному впливу та імуномодуляції.

Внутрішньовенне введення є найбільш привабливим з точки зору клінічної практики, оскільки він не потребує хірургічного втручання або катетеризації. Однак, такий спосіб введення виправданий при використанні СК з високим потенціалом до хоумінгу і значно більшої кількості трансплантуємих клітин в порівнянні з локальним введенням. Хоча в експерименті показано, що клітини-попередники засіляють пошкоджений міокард значно інтенсивніше, ніж здоровий [55, 154], трансплантуємі клітини здатні засіляти також інші органи і тканини. Відсутність знань щодо точного часу, сигналах і механізмах кардіального хоумінга і об'єму транспланта може стати обмеженням застосування такого підходу.

Інтраміокардіальне введення ауто-МСК КМ в нашому дослідженні показало найкращі результати. Насамперед, не було відмічено периопераційних ІМ, шлуночкових аритмій, інфекційних ускладнень в ранньому післяопераційному періоді. За період спостереження 6 місяців не виявлено життєзагрожуючих порушень ритма серця. ФВ ЛШ збільшувалась з $(41,3 \pm 3,2)$ до $(49,3 \pm 4,6)$ % через 3 місяці і до $(48,9 \pm 3,4)$ % через 6 місяців ($p < 0,05$). Відмічено також зниження кінцевого діастолічного об'єму з $(248,5 \pm 22,3)$ мл до $(194,4 \pm 26,4)$ і $(200,8 \pm 22,8)$ мл ($p = 0,05$). Під час виконання процедури, а також в ранньому посттрансплантаційному періоді ускладнень і

критичних змін в основних лабораторних показниках зареєстровано не було [56, 58, 154].

Картування NOGA може використовуватися для оптимізації застосування клітинної терапії. Точне електричне і механічне картування дозволяє обрати найкраще місце для імплантації СК, завдяки чому можливо досягти максимального позитивного ефекта клітинної терапії [72].

Наше дослідження підтвердило відносну безпечність метода, відсутність додаткового пошкодження міокарда, проявів злякисних аритмій [154].

Таким чином, інтраміокардіальна імплантація аутологічних МСК КМ пацієнтам з хронічною ІХС і вираженою дисфункцією ЛШ є безпечним методом і покращує клінічні данні і прогноз. Цей метод може використовуватися як перший етап лікування ІХС в якості підготовки до виконання АКШ. Введення СК КМ в ішімізовані сегменти покращує перфузію без індукції додаткових рубцевих зон. Нажаль в теперішній час не існує альтернативи для адекватної терапії пацієнтів з проявами СН, яка давала б мінімальну кількість негативних ефектів і в той же час надавала б хворим реальний шанс на позитивний ефект терапії.

Основні положення розділу 5 опубліковані в роботах автора:

1. 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.

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

3. 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.

4. 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. С. 118–121.

5. **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.

РОЗДІЛ 6**ВІДДАЛЕНІ РЕЗУЛЬТАТИ КЛІТИННОЇ КАРДІОМІОПЛАСТИКИ ПІСЛЯ ТРАНСЕНДОКАРДІАЛЬНОГО І ВНУТРІШНЬОСУДИННОГО ВВЕДЕННЯ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН**

Віддалені результати лікування в терміни від 6 місяців до 3 років після проведеного лікування були вивчені у 45 пацієнтів. Серед них з основної групи було 30 хворих (15-ти з них ауто-МСК вводили внутрішньовенно, 15-ти застосовували трансендоміокардіальні ін'єкції ауто-МСК), з групи порівняння – 15 хворих. У всіх пацієнтів оцінювали клінічний стан, у тому числі ступінь серцевої недостатності, виконували загальноклінічне лабораторне дослідження. Виконували контрольну трансторакальну ЕхоКГ, та електромеханічне картування лівого шлуночка за допомогою навігаційної системи Noga XR.

Прийом сублінгвальних нітратів у хворих групи контролю за період спостереження залишався стабільним (їх приймали усі хворі). Серед хворих підгрупи внутрішньовенного введення ауто-МСК КМ через 6 місяців після лікування їх приймали 8 (53,3 %) пацієнтів, через 12 місяців після трансплантації МСК їх кількість зменшилась до 6 (40 %), а через 36 місяців збільшилась до 9 (60 %) хворих ($p=0,02$). Серед пацієнтів, яким використовували трансендоміокардіальне введення ауто-МСК, 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 % ($p=0,01$) (табл. 6.1).

Згідно з аналізом проявів хронічної серцевої недостатності, у хворих дослідних груп в терміни 6 і 12 місяців були отримані задовільні віддалені результати (табл. 6.2).

В групі порівняння за період спостереження значно збільшилась кількість хворих с тяжкими проявами СН. Так, на початку дослідження останніх з ХСН IV ст. було 20 %, через 6 місяців – 46,7 %, через 12 місяців –

60 %. При цьому через 12 місяців спостереження пацієнтів з ХСН II ст. не було взагалі, а кількість хворих з ХСН III ступеня складала 40 % (до початку лікування таких хворих було 60 %) ($P \leq 0,05$).

Таблиця 6.1

**Динаміка прийому нітратів пацієнтами протягом
періоду спостереження ($M \pm m$)**

Групи	Терміни дослідження				p
	до лікування	через 6 міс.	через 12 міс.	через 36 міс.	
Медикаментозне лікування	13 (86,7%)	15 (100%)	15 (100%)	15 (100%)	0,945
Внутрішньовенна трансплантація ауто-МСК	12 (80%)	8 (53,3%)	6 (40%)	9 (60%)	0,002
Трансендоміокардіальна трансплантація ауто-МСК	14 (93,3%)	7 (46,6%)	6 (40%)	7 (46,6%)	0,001

В групі хворих, у яких використовували внутрішньовенний спосіб введення ауто-МСК, через 6 місяців ХСН за NYHA II ФК була виявлена у 26,7 %, через 12 місяців – у 20 % випадків. У хворих, яким ауто-МСК вводили трансендоміокардіально, кількість таких хворих через 6 місяців збільшилась з 20 до 46,7 %, але через 12 місяців знизилась до 26,7 % ($p \leq 0,05$). III ФК ХСН у хворих з внутрішньосудинним методом введення МСК 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-МСК вводили трансендоміокардіально, ХСН III ФК до лікування спостерігалася у 60 %, через 6 місяців їх кількість зменшилась до 40 % і через 1 рік спостереження знов збільшилась до початкового рівня (60 %).

Таблиця 6.2

**Динаміка проявів хронічної серцевої недостатності протягом
періоду спостереження**

Показник	Група порівняння			Внутрішньовенне введення ауто-МСК			Трансендоміокардіальне введення ауто-МСК			
	0 міс.	6 міс.	12 міс.	0 міс.	6 міс.	12 міс.	0 міс.	6 міс.	12 міс.	
ФК СН, n (%)	II	3 (20%)	0	0	0	1(6,7%) **	3 (20%) ***, **	5(33,3%)	4(26,7%) *****	4(26,7%) *** ***** *
	III	9 (60%)	8(53,3%)	6 (40%)	8(53,3%)	7(46,7%) **	6 (40%) ***, **	7(46,7%)	8(53,3%) *****	8(53,3%) *** ***** *
	IV	3 (20%)	7(46,7%)	9 (60%)	7(46,7%)	7 (46,7%) **	6 (40%) ***, **	3 (20%)	3 (20%)*** ****	3 (20%)
ХСН за НУНА, n (%)	II	1	0	0	0	4 (26,7%) **	3 (20%) *** ***** *	3 (20%)	7(46,7%) *****	4(26,7%) ***, **
	III	8 (53,3%)	8 (53,3%)	6 (40%)	9 (60%)	6 (40%) **	10 (66,7%) ***	9 (60%)	6 (40%) *****	9 (60%) ***** ***
	IV	6 (40%)	7(46,7%)	9 (60%)	6 (40%)	5 (33,3%) **	2 (13,3%)	3 (20%)	2(13,3%) ***, *****	2(13,3%) ***** ***

Примітки: * – $P \leq 0,05$ в порівнянні з даними, отриманими до лікування відповідної групи (0 міс.); ** – $P \leq 0,05$ в порівнянні з даними, отриманими у хворих групи порівняння в досліджувані терміни; *** – $P \leq 0,05$ в порівнянні з терміном 6 міс. відповідної групи; **** – $P \leq 0,05$ в порівнянні з відповідними термінами дослідної групи.

Кількість хворих з ХСН IV ст. після внутрішньовенного введення МСК зменшилась з 40 до 13,3 % ($p \leq 0,05$), а після трансендоміокардіального – з 20 до 13,3 % через 12 місяців після лікування ($p \leq 0,05$). У групі порівняння ХСН II ФК через рік лікування була у 40 % хворих і IV ступеня – у 60 % пацієнтів.

За даними транстракальної ЕхоКГ у хворих після внутрішньовенного введення ауто-МСК через 6 міс. відзначалося позитивна динаміка показників внутрішньосерцевої гемодинаміки у вигляді підвищення ФВ ЛШ з $(31,3 \pm 3,2)$ до $(39,3 \pm 4,6)$ %, у пацієнтів після трансендоміокардіального введення – з $(31,2 \pm 7,1)$ до $(37,2 \pm 4,2)$ % ($p < 0,05$), яка до строку 12 місяців починала знижуватись.

В даний період часу у пацієнтів зменшувались дози кардіотропних препаратів, відзначалося підвищення толерантності до фізичного навантаження за даним тредміл-теста. Так, у хворих з внутрішньовенним введенням ауто-МСК показник тредміл-теста збільшився з $(2,4 \pm 0,86)$ до $(2,9 \pm 0,74)$ у.од. через 6 місяців, але через рік знов дещо знижувався (до $(2,6 \pm 0,77)$ у.од.) ($p \leq 0,05$). Результат тредміл-теста після трансендоміокардіального введення ауто-МСК КМ через 6 місяців збільшився з $(2,5 \pm 0,75)$ у.од. до $(2,7 \pm 0,81)$ у.од., але через рік після виконання процедури знов знижувався і дорівнював $(2,5 \pm 0,75)$ у.од. ($p \leq 0,05$). Поряд із цим, у хворих групи порівняння, яким не застосовувалась клітинна терапія, ФВ ЛШ і толерантність до фізичних навантажень прогресивно знижувалися в усі терміни дослідження (табл. 6.3).

Амплітуда уніполярного сигналу при картуванні ЛШ після трансендоміокардіального введення ауто-МСК КМ через 6 місяців збільшилась з 7,8–8,7 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. Через 12 місяців визначалася негативна динаміка у порівнянні з вихідними даними. В усіх відділах ЛШ зменшувалась амплітуда аж до формування рубцевої тканини: в передньо-

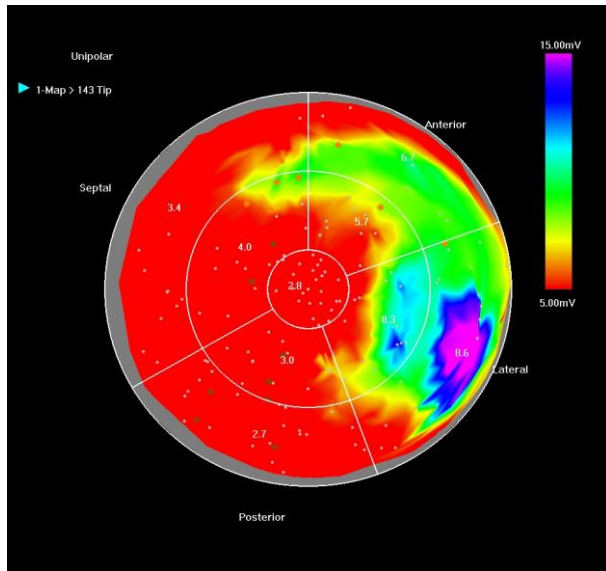
латеральній зоні до 4,2–4,9 мВ, в задньо-септальній – до 7,7–7,9 мВ, в передньо-септальній – до 3,7–5,9 мВ (рис. 6.1).

Таблиця 6.3

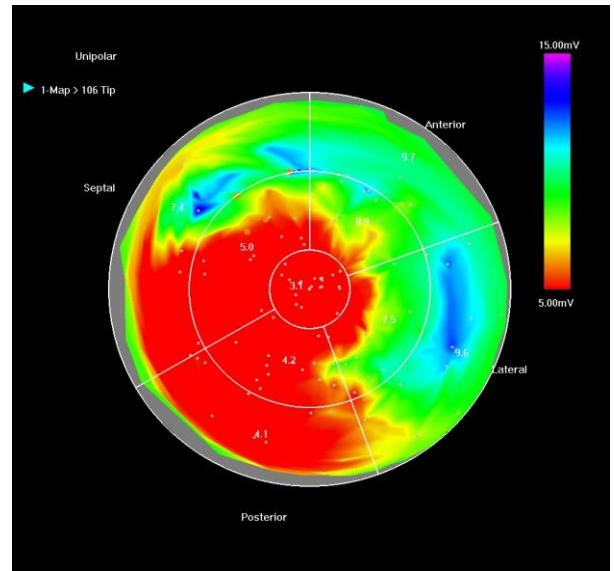
Динаміка основних показників внутрішньосерцевої гемодинаміки у пацієнтів з рефрактерною стенокардією

Показник	Група порівняння			Внутрішньовенне введення			Трансендоміокардіальне введення МСК		
	0 міс.	6 міс.	12 міс.	0 міс.	6 міс.	12 міс.	0 міс.	6 міс.	12 міс.
ФВ ЛШ, %	42,43±4,2	36,53±3,8	32,73±2,9	31,3±3,2	38,9±3,4**	36,2±2,6 ^α	32,5±2,8	37,2±4,2	35,1±2,9***
КДО ЛШ, мл	251,4±28,1	248,63±42,1	245,7±33,6	248,5±22,3	200,8±22,8**	206,4±12,9***	242,6±19,7	212,7±23,1****	221,3±25,1****
КСО ЛШ, мл	49,53±3,8	48,63±4,5	46,83±28,7	47,5±4,7	54,2±6,2**	50,2±3,9 ^α	48,2±3,9	49,3±5,2**	48,2±3,3
КДР ЛШ, см	4,9±0,4	5,0±0,1	4,8±0,1	4,7±0,2	5,2±0,1	5,0±0,1***	4,8±0,1	4,9±0,1	4,8±0,1
УО, мл	68,7±2,9	72,6±3,5	70,6±3,5	67,3±2,4	75,3±4,5	73,6±3,4 ^α	68,6±3,1	73,7±2,5**	71,2±3,1****
Тредмил-тест, у.од.	3,2±0,47	2,3±0,48	2,0±0,87	2,4±0,86	2,9±0,74	2,6±0,77***	2,5±0,75	2,7±0,81**	2,5±0,78 ^α
Вольтаж при картуванні ЛШ, мВ	7,3±1,6	6,8±1,5	6,6±1,3	7,2±1,4	9,6±1,7* [*]	8,2±1,5****, ^{**}	7,3±1,1	8,9±1,8***	8,1±1,3****, ^{**}

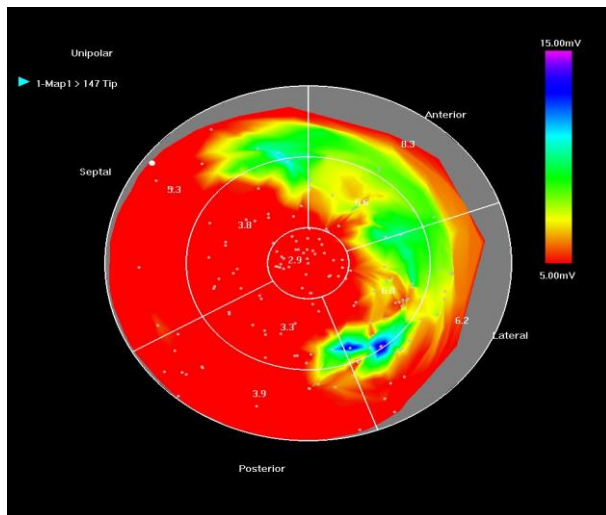
Примітки: * – $P \leq 0,05$ в порівнянні з даними, отриманими до лікування відповідної групи; ** – $P \leq 0,05$ в порівнянні з даними, отриманими у хворих групи порівняння; *** – $P \leq 0,05$ в порівнянні з 6 міс. відповідної групи; **** – $P \leq 0,05$ в порівнянні з відповідними термінами групи з внутрішньовенним введенням МСК.



А



Б



В

Рис. 6.1. Результати картування ЛШ в динаміці. А. Уніполярна карта лівого шлуночка з визначенням амплітуди електричного сигналу в мВ в різних сегментах. В зоні гібернованого міокарда амплітуда електрограми становила 2,7–4,0 мВ, куди були виконані ін'єкції МСК (коричневі крапки). Б. Через 6 місяців при контрольному картуванні в зоні імплантації амплітуда підвищилась до 4,1–5,0 мВ. В. Через 3 роки показник становив 3,1–4,2 мВ.

Слід зазначити, що через 6 місяців відбувалося також зростання КДО та КСО лівого шлуночка, а також УО. Поряд з цим, у хворих групи

порівняння усі досліджувані показники мали тенденцію до поступового зниження.

Таким чином, проведене дослідження свідчить, що трансплантація ауто-МСК є ефективною на протязі перших 12 місяців після проведення процедури. В ці терміни доцільно виконувати повторне введення ауто-МСК, що нами було виконано у 14 (46,7 %) хворих.

Була проведена порівняльна оцінка якості життя хворих на РС через 1 рік після медикаментозного лікування і трансплантації СК.

Консультації кардіолога за місцем проживання 1 раз в місяць проходили 20 % пацієнтів після трансплантації стовбурових клітин, 1 раз в 6 місяців – 20 %, один раз на рік – 23,3 %, один раз на 2–5 років – 6,7 %, за необхідності – 23,3 %. Серед пацієнтів групи порівняння – відповідно 20, 23,3, 23,3, 3,3 і 30 %.

Серед пацієнтів, в комплексі лікування яких застосовували ауто-МСК, в терміни до 1 року стан погіршився у 3(10 %) пацієнтів, в період 1–3 роки у 5 (16,7 %) і пізніше 3 років – у 77,3 % хворих. Серед пацієнтів групи порівняння погіршення стану було визначено вже через 1 рік в усіх випадках, що потребувало повторних госпіталізацій.

При аналізі середніх показників ЯЖ у пацієнтів групи порівняння виявлено, що через 1 рік після медикаментозного лікування в порівнянні з пацієнтами, які лікувалися із застосуванням трансплантації ауто-МСК, показник фізичної активності був знижений на 28,1 %, рольові обмеження внаслідок фізичних проблем загального здоров'я знижені на 3,5 %, всі інші показники були знижені незначно (табл. 6.4).

Загальна летальність на етапі 36-місячного контролю у хворих, яким застосовували трансплантацію ауто-МСК КМ, становила 13,3 % (4 хворих), при цьому в 12-місячний термін летальних випадків не було. Два пацієнта вмерли від «позасерцевих» причин (гостра шлунково-кишкова кровотеча, гостре порушення мозкового кровообігу).

Таблиця 6.4

**Показники якості життя за даними опитувальника у
досліджуваних хворих**

Показник	Групи	
	Група з введенням ауто-МСК (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 %

В зазначені терміни дослідження в групі порівняння померло 7 (46,7 %) хворих. При цьому через 12 місяців від прогресування явищ СН 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 СН (табл. 6.5).

Таблиця 6.5

Причини смерті хворих у віддалені терміни спостереження

Причини смерті	Групи	
	Порівняння (n=15)	Дослідна (n=30)
Раптова смерть, n (%)	0	0
Прогресування СН, n (%)	6 (40 %)	2 (6,7 %)
«Позасерцеві» причини, n (%)	1 (6,7 %)	2 (6,7 %)
Загальна летальність, n (%)	7 (46,7 %)	4 (13,3 %)

Було встановлено, що термін виживаності в групі хворих, які лікувалися із застосуванням клітинних технологій, був більшим і становив 35 (18–61) місяців, у порівнянні з 12 (0,72–50) місяцями у групі медикаментозного лікування ($p=0,033$) (рис. 6.2).

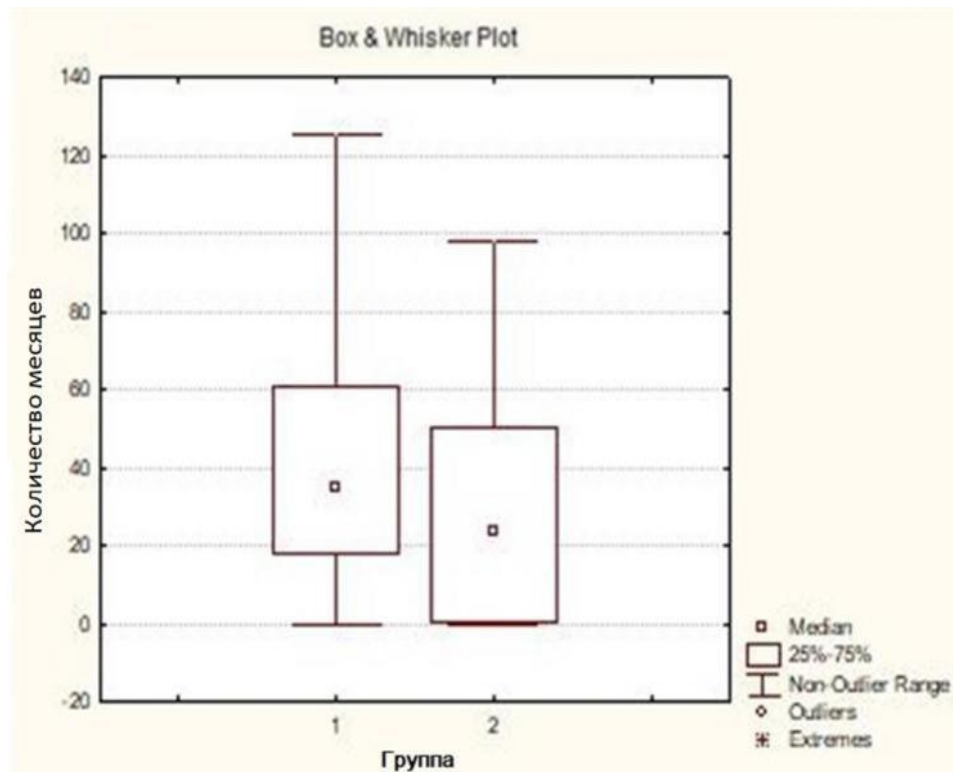


Рис. 6.2. Порівняльна оцінка термінів виживаності пацієнтів досліджуваних груп.

Ефективність трансплантації ауто-МСК у віддаленому періоді ілюструється наступними клінічними прикладами.

Клінічний приклад 1. Хворий А., 64 роки. Діагноз: ІХС: стенокардія напруги ФК 3, атеросклеротичний і постінфарктний кардіосклероз (задньо-септальний ІМ ЛШ в 2006 р.). Екстрасистолічна аритмія III класа за Лауном. ХСН 2Б ст. зі зниженою ФВ ЛШ (31 %), 3 ФК за NYHA. Гіпертонічна хвороба III ступеня, 3-ї стадії, група дуже високого ризику. При картуванні ЛШВ задньо-септальних відділах визначена зона гібернованого міокарда, в яку виконано ін'єкції МСК (коричневі крапки) (рис. 6.3–6.5).

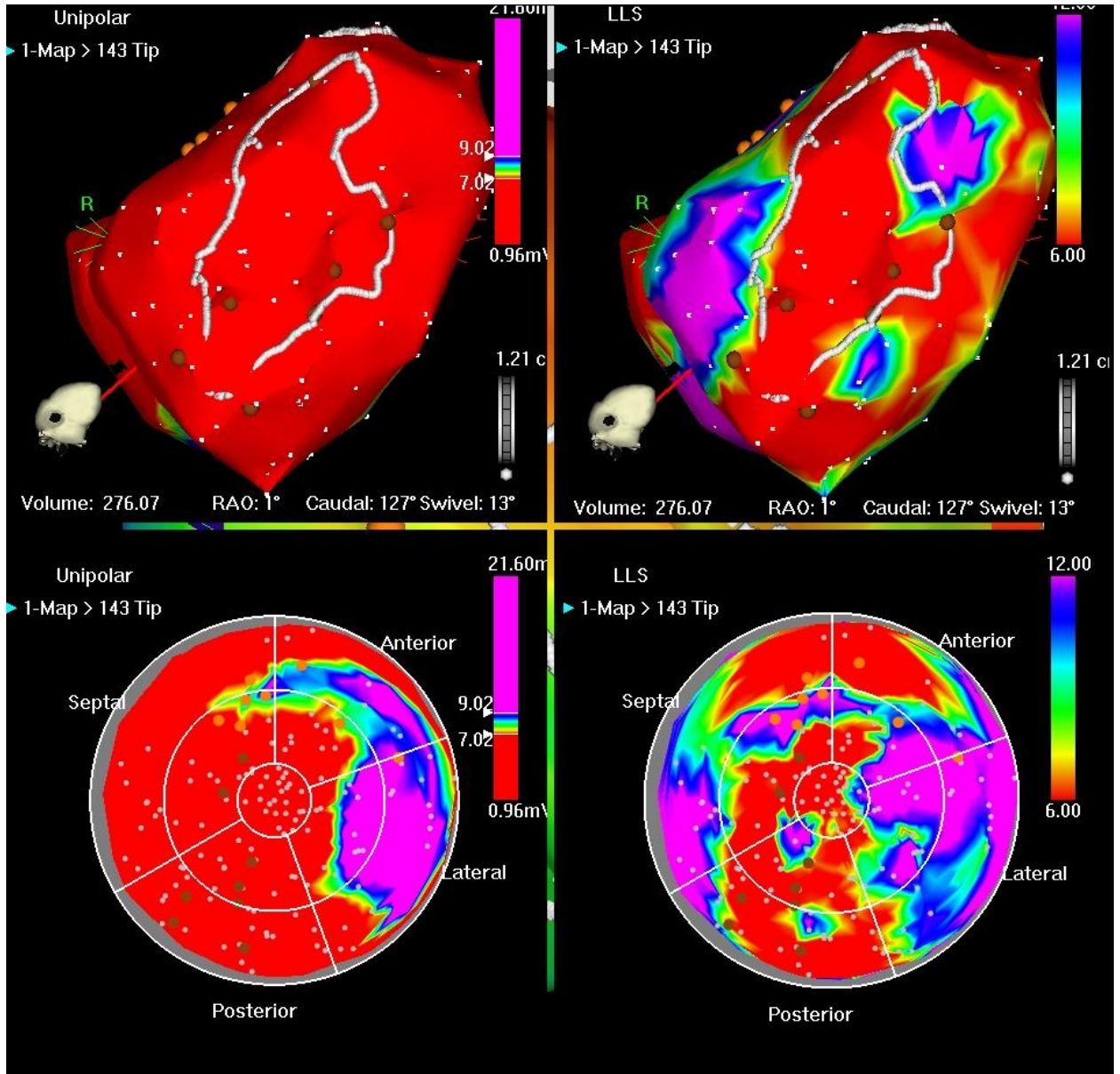


Рис. 6.3. Хворий А., 64 роки. Результати картування ЛШ на початку дослідження. Праворуч зверху і знизу уніполярна вольтажна карта, ліворуч зверху і знизу – механічна карта. Зона гібернованого міокарда обведена білою лінією, в неї виконано ін'єкції ауто-МСК (коричневі точки).

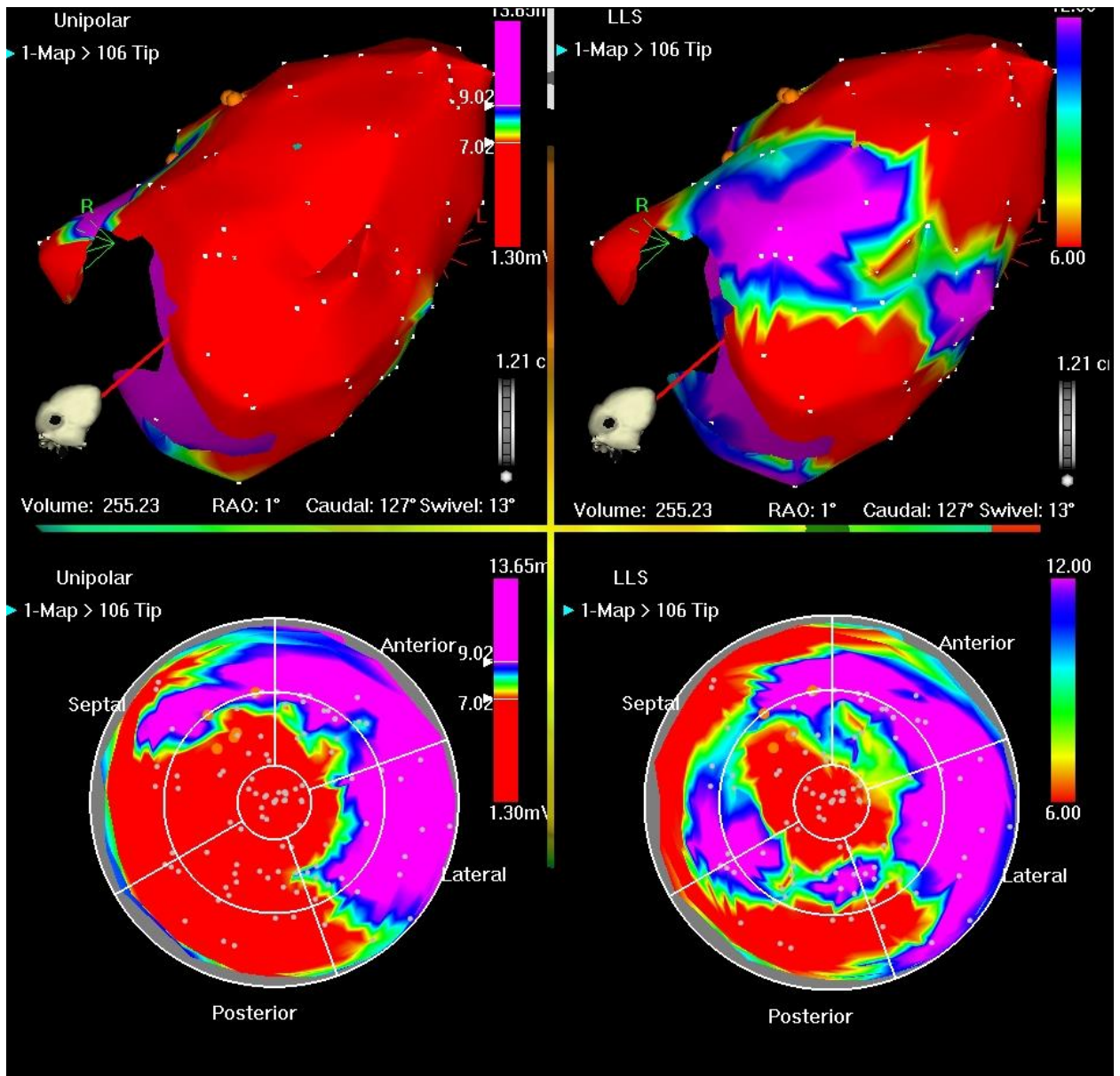


Рис. 6.4. Хворий А., 64 роки. Результати контрольного картування ЛШ через 6 місяців після введення ауто-МСК. Праворуч зверху і знизу уніполярна вольтажна карта, ліворуч зверху і знизу – механічна карта. Визначається позитивна динаміка: збільшилась амплітуда руху стінки ЛШ в зоні ін'єкцій, зменшилась зона гібернації.

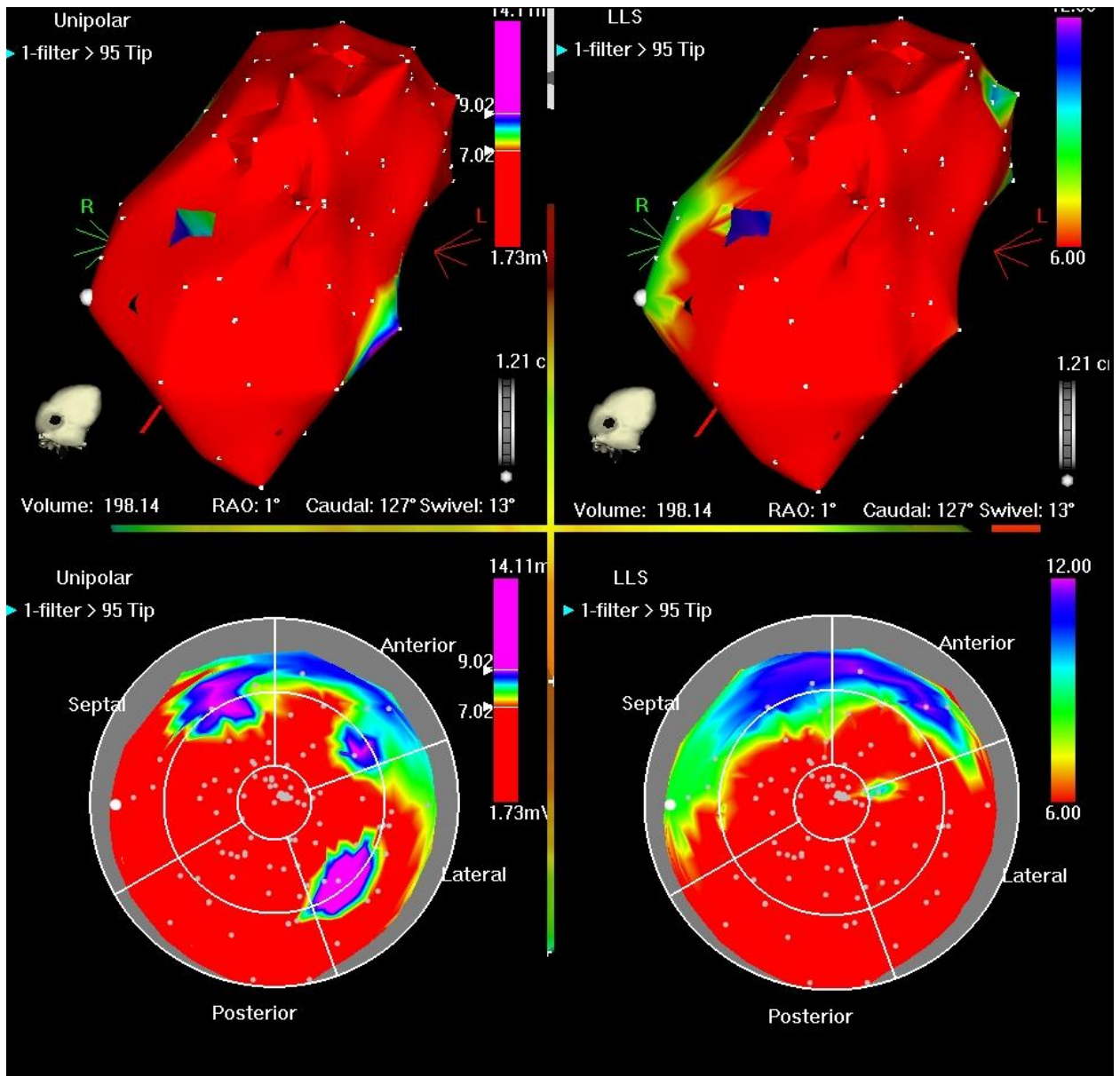


Рис. 6.5. Хворий А., 64 роки. Результати контрольного картування ЛШ через 3 роки після введення ауто-МСК. Праворуч зверху і знизу уніполярна вольтажна карта, ліворуч зверху і знизу – механічна карта. Виявляється значна негативна динаміка при контрольному картуванні: зона гібернованого міокарда трансформувалася в рубець.

Клінічний приклад 2. Хвора Л., 54 роки. Діагноз: ІХС: стенокардія напруги ФК 3, атеросклеротичний кардіосклероз. Стан після КШ-3 (2003 р.), стентування мамарного шунта (2007 р.). ХСН 2А ст. зі зниженою ФВ ЛШ

(35 %), 3 ФК за НУНА. Гіпертонічна хвороба II ступеня, 2-ї стадії, високого ризику (рис. 6.6–6.9).

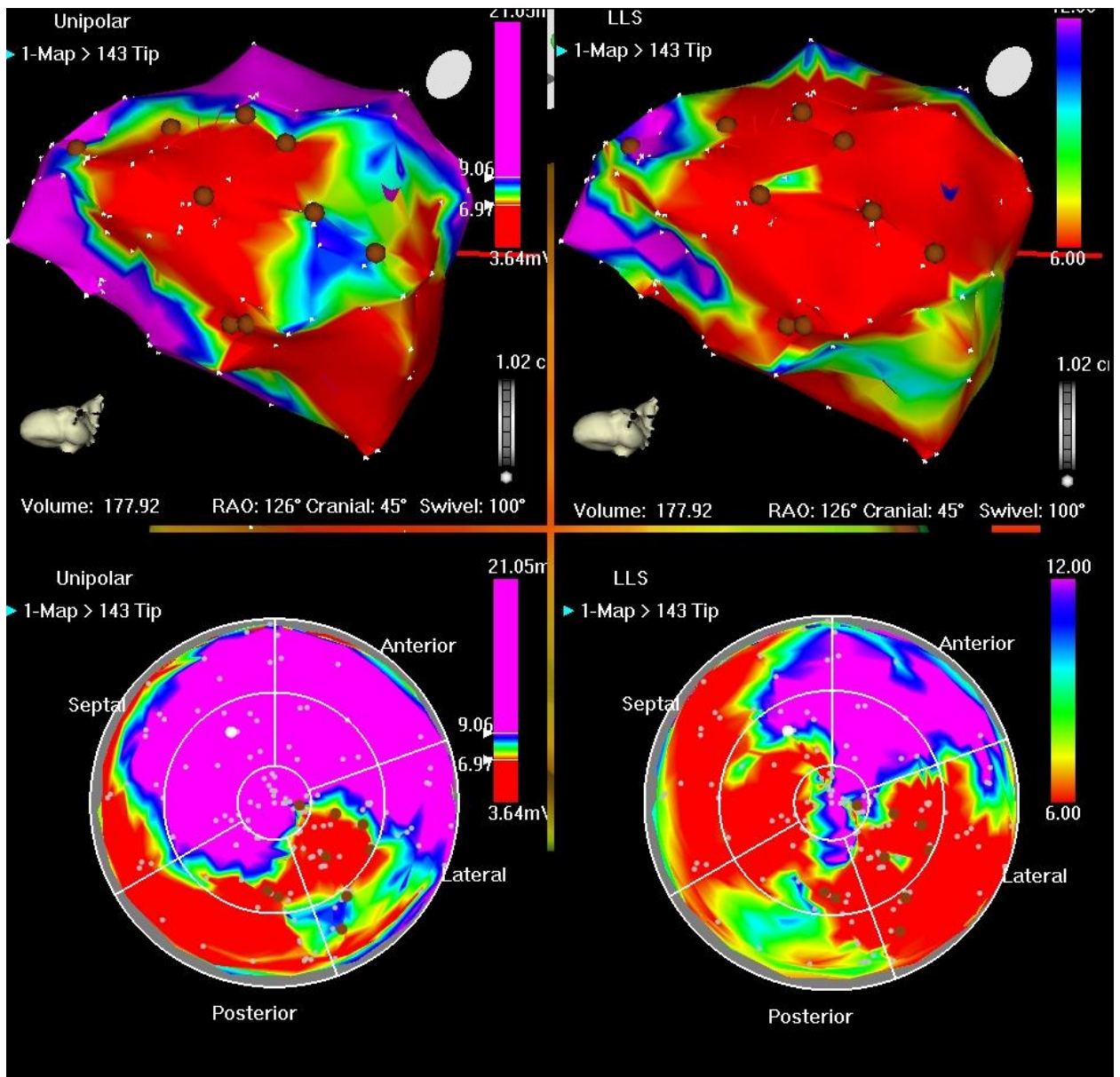


Рис. 6.6. Хвора Л., 54 р. Результати картування ЛШ на початку дослідження. Праворуч зверху і знизу уніполярна вольтажна карта, ліворуч зверху і знизу – механічна карта. В нижньо-латеральних відділах ЛШ навколо рубця визначається зона гібернірованого міокарда, по периферії якої виконані ін'єкції ауто-МСК (коричневі крапки).

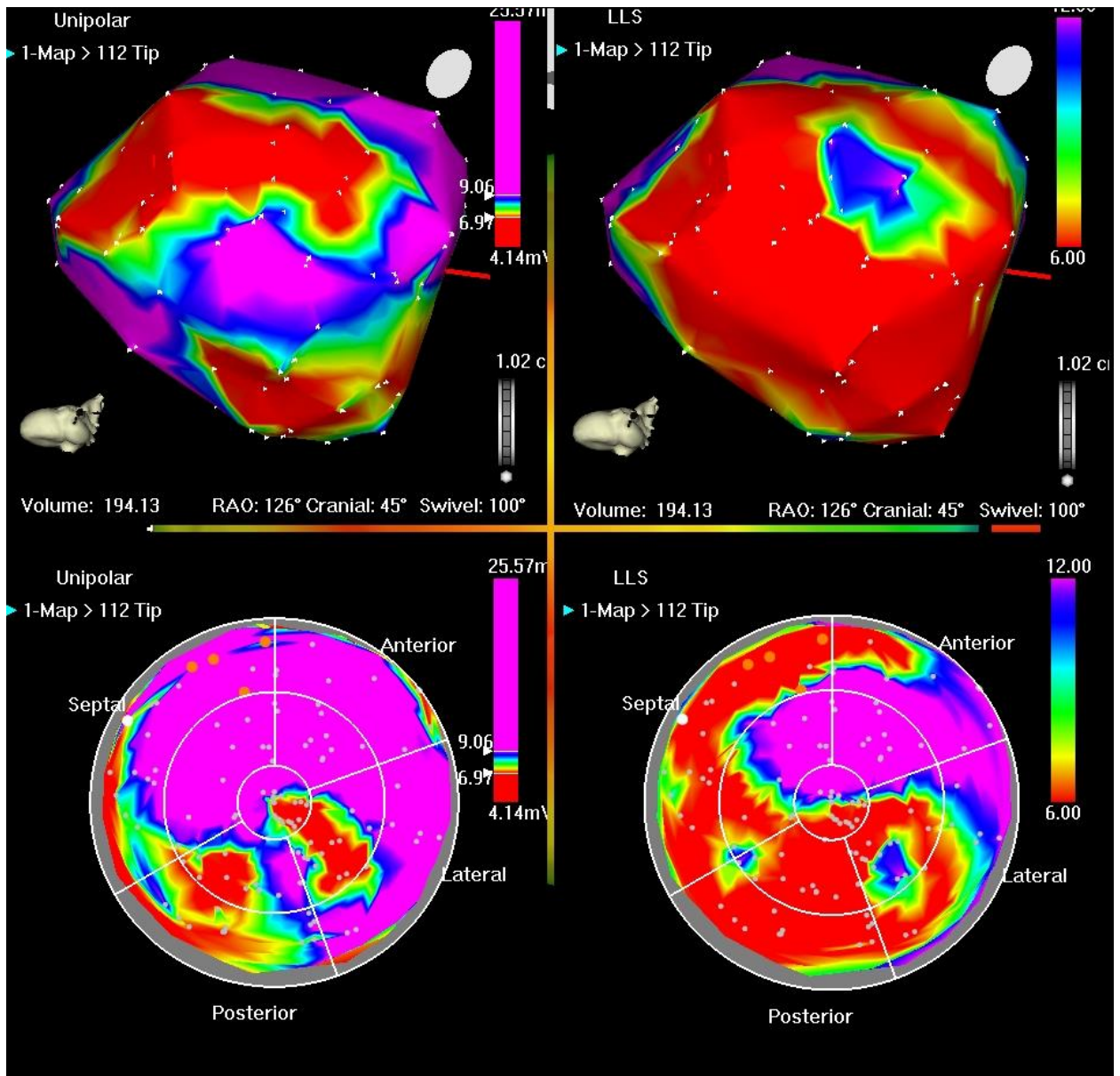


Рис. 6.7. Хвора Л., 54 роки. Результати контрольного картування ЛШ через 6 місяців після введення ауто-МСК. Праворуч зверху і знизу уніполярна вольтажна карта, ліворуч зверху і знизу – механічна карта. Виявлена значна позитивна динаміка: істотно зменшилась зона гібернованого міокарда, дещо зменшилась зона рубця.

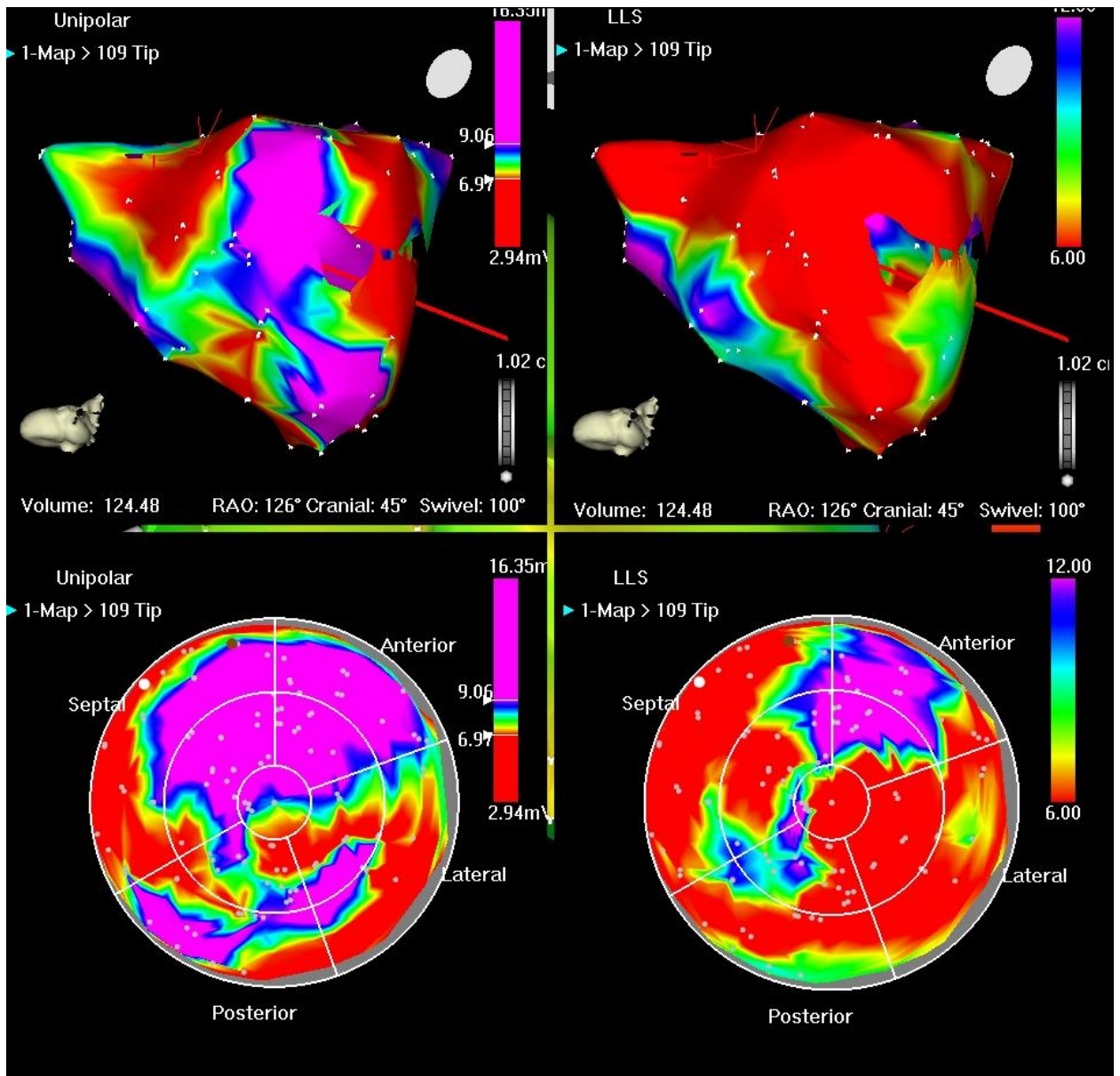


Рис. 6.8. Хвора Л., 59 років. Результати контрольного картування ЛШ через 5 років після введення ауто-МСК. Праворуч зверху і знизу уніполярна вольтажна карта, ліворуч зверху і знизу – механічна карта. Через 5 років при контрольному картуванні результати співпоставні з вихідними даними (до введення трансплантату).

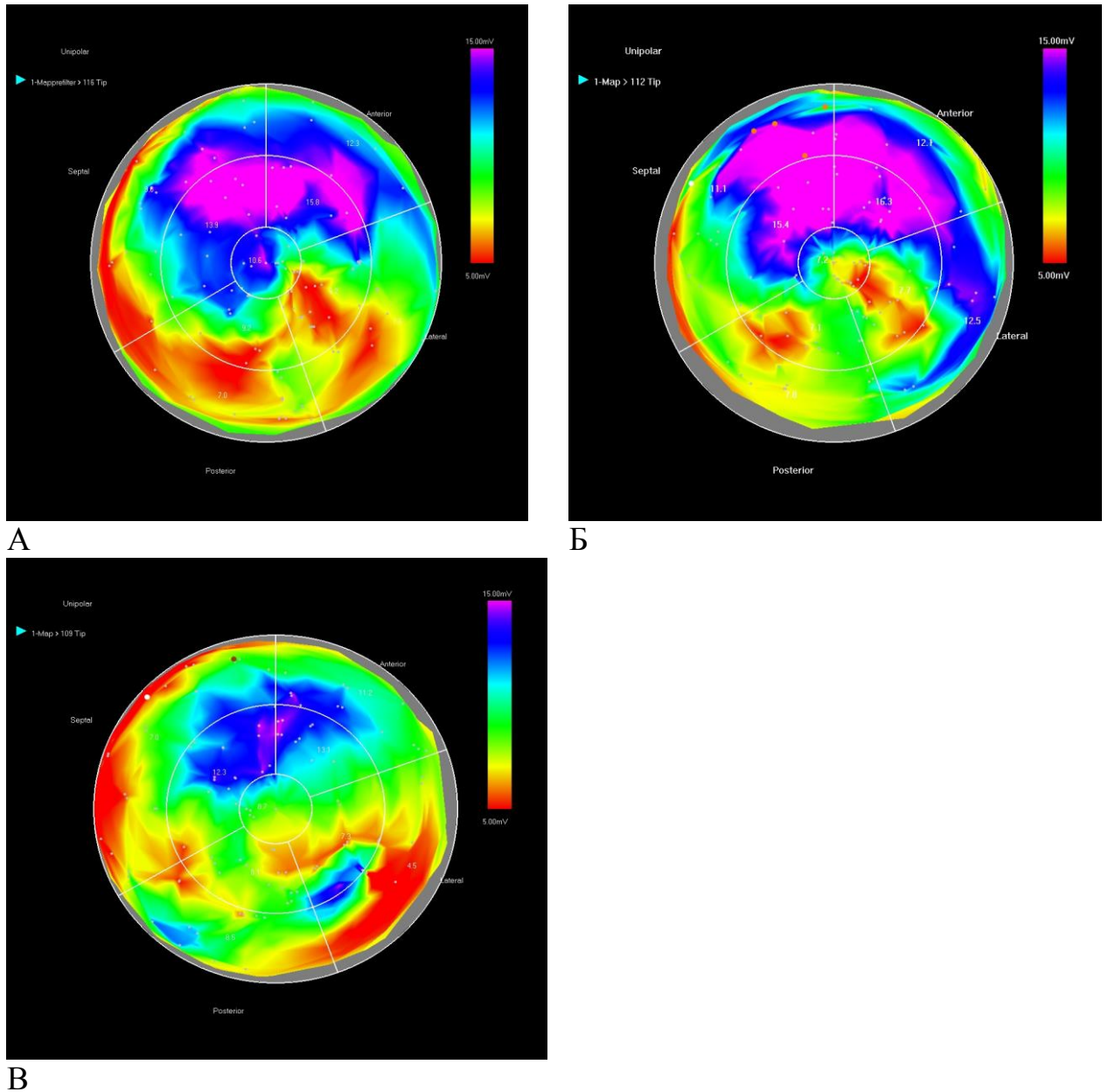


Рис. 6.9. Хвора Л., 54 роки. При аналізі амплітуди електричного сигналу в різних сегментах ЛШ можна судити про наявність маси живого міокарда. А. До лікування в зоні гібернованого міокарда амплітуда уніполярної електрограми становила 6,4–8,7 мВ. Б. Через 6 місяців в зоні ін'єкцій ауто-МСК значення амплітуди були 7,1–12,5 мВ. В. Через 5 років – амплітуда була 4,5–8,1 мВ. Данні картування хворої в динаміці корелювали з клінічною симптоматикою.

Клінічний приклад 3. Хворий К., 56 років. Діагноз: ІХС: стенокардія напружуги ФК 3, постінфарктний (1999, 2002, 2005 р.р.) і атеросклеротичний

кардіосклероз. Стан після АКШ-4, аневризмектомії ЛШ в 2006 р. Стан після інтракоронарного введення мезенхімальних стовбурових клітин. ХСН 1 ст. Пацієнту за протоколом дослідження введено трансплантат внутрішньокоронарно (рис. 6.10–6.12).

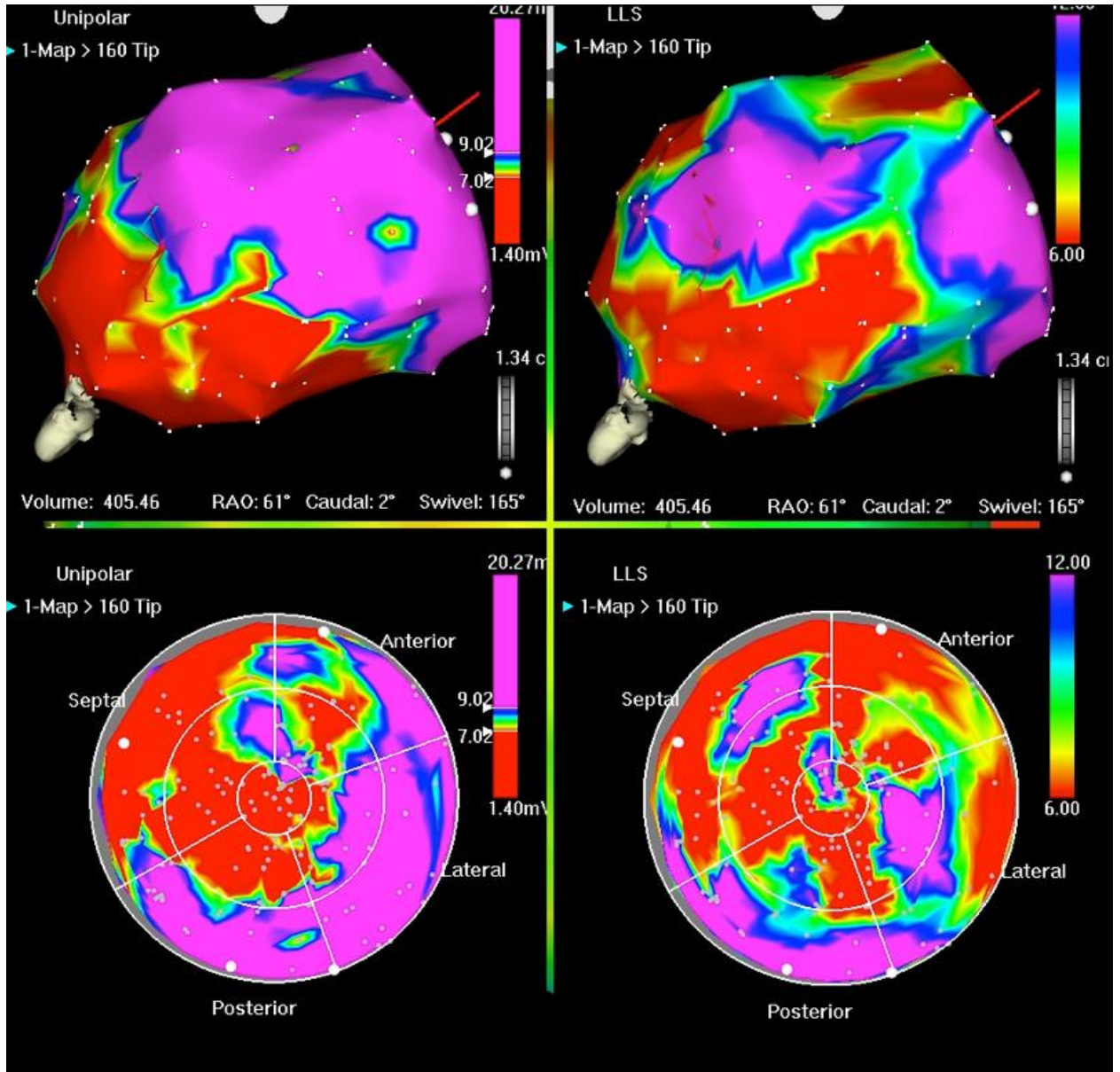


Рис. 6.10. Хворий К., 56 р. Результати картування ЛШ на початку дослідження. Праворуч зверху і знизу уніполярна вольтажна карта, ліворуч зверху і знизу – механічна карта. В передніх і базально-латеральних сегментах ЛШ визначаються зони гібернації.

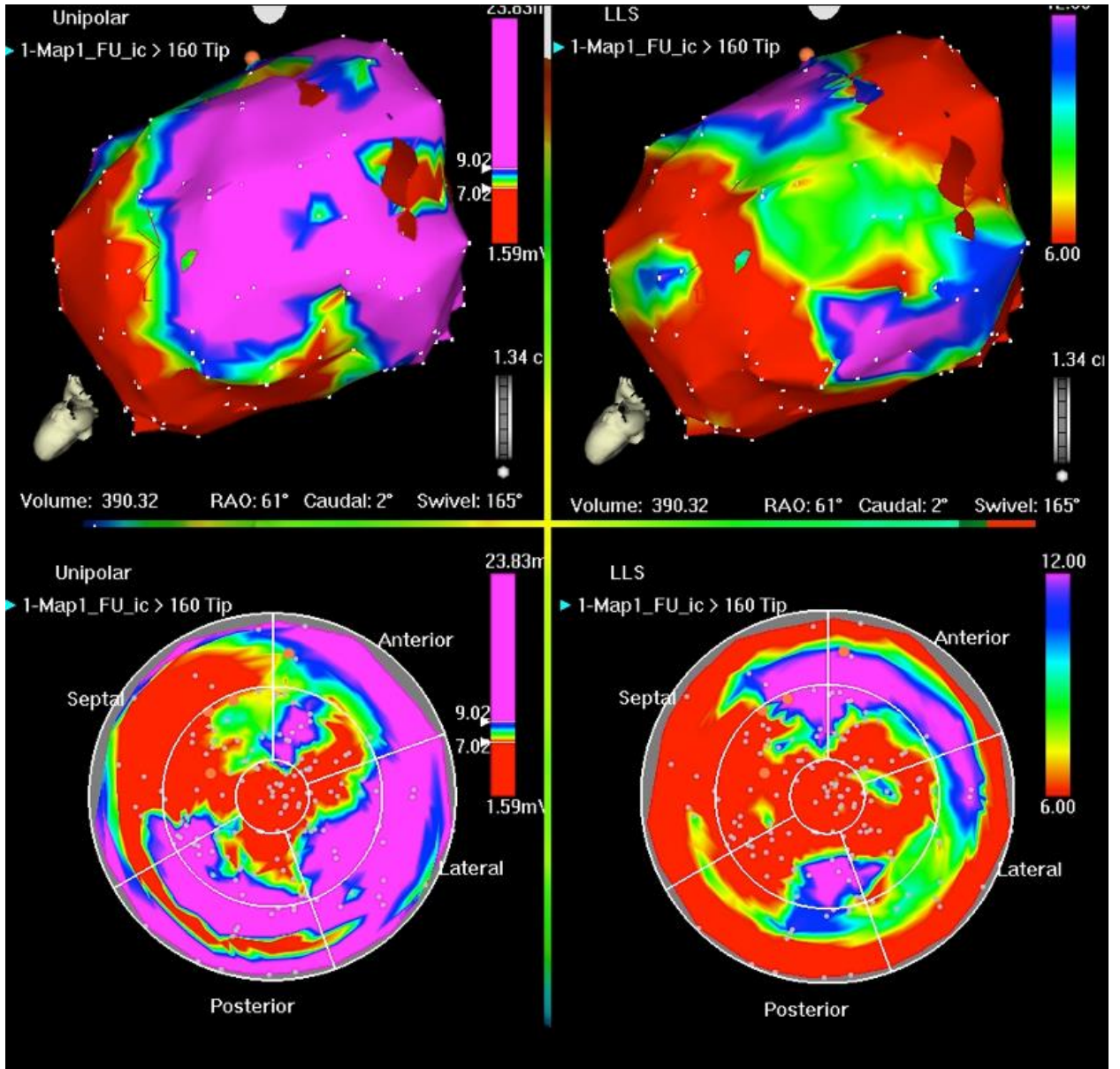


Рис. 6.11. Хворий К., 56 р. Результати картування ЛШ через 6 місяців після внутрішньовенного введення трансплантату. Праворуч зверху і знизу уніполярна вольтажна карта, ліворуч зверху і знизу – механічна карта. Визначена позитивна динаміка в передньо-латеральних и задньо-септальних сегментах.

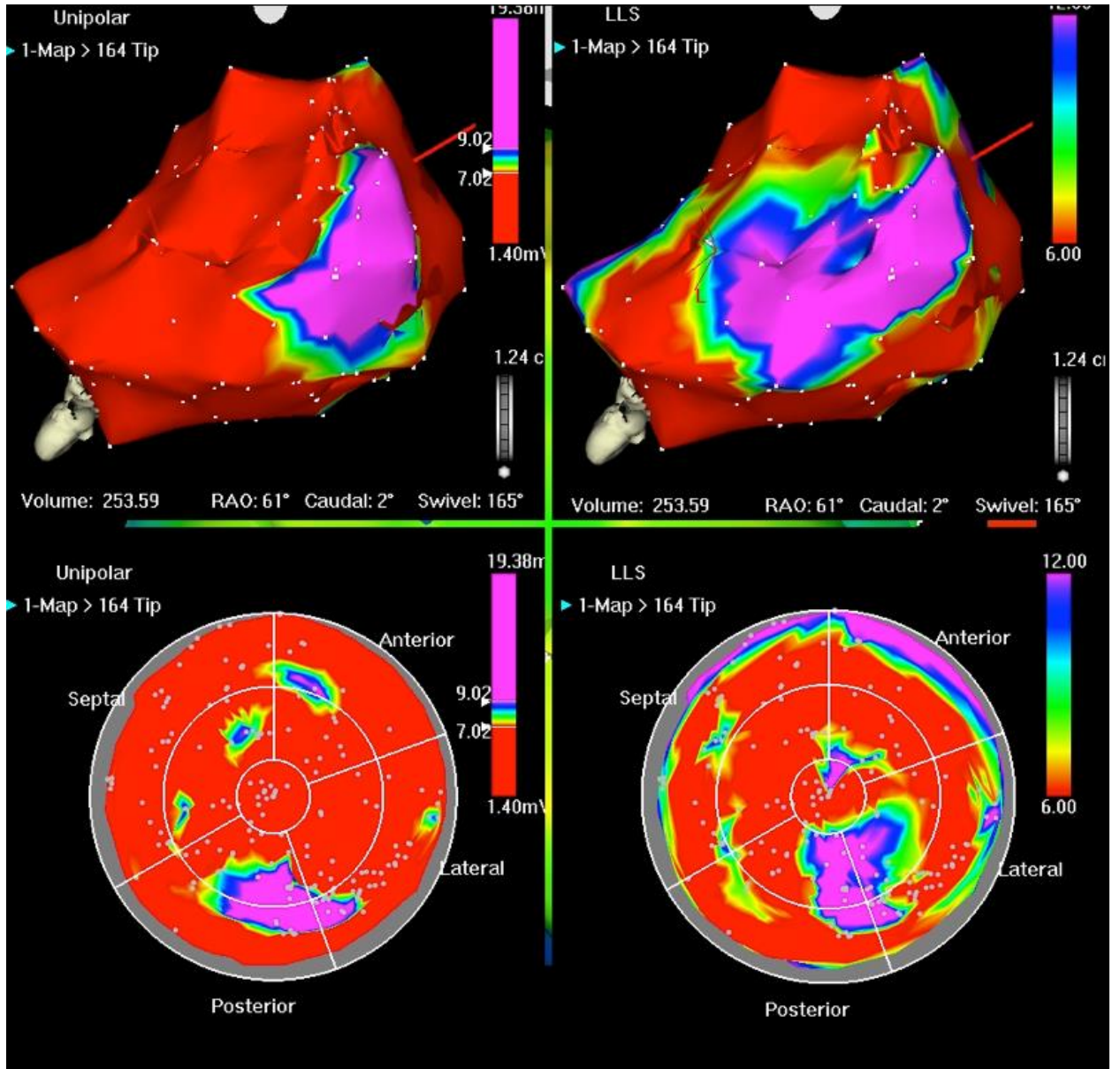


Рис. 6.12. Хворий К., 56 р. Результати картування ЛШ через 3 роки. Праворуч зверху і знизу уніполярна вольтажна карта, ліворуч зверху і знизу – механічна карта. Через 3 роки видно негативну динаміку. в усіх відділах ЛШ відмічено зниження амплітуди аж до формування рубцевої тканини.

При аналізі результатів картування ЛШ в динаміці у даного пацієнта виявили наступні зміни. Амплітуда уніполярного сигналу через 6 місяців збільшилась з 7,8–8,7 мВ (початкові показники) 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. Однак, в передньо-септальних відділах була тенденція до погіршення: амплітуда

електричного сигналу знизилась з 5,6 мВ до 4,7 мВ. Через 3 роки при контрольному обстеженні відзначена негативна динаміка у порівнянні з вихідними результатами. При цьому в усіх відділах ЛШ визначалося зниження амплітуди аж до формування рубцевої тканини: в передньо-латеральній зоні – до 4,2–4,9 мВ, в задньо-септальній до – 7,7–7,9 мВ, і передньо-септальній – до 3,7–5,9 мВ (рис. 6.13).

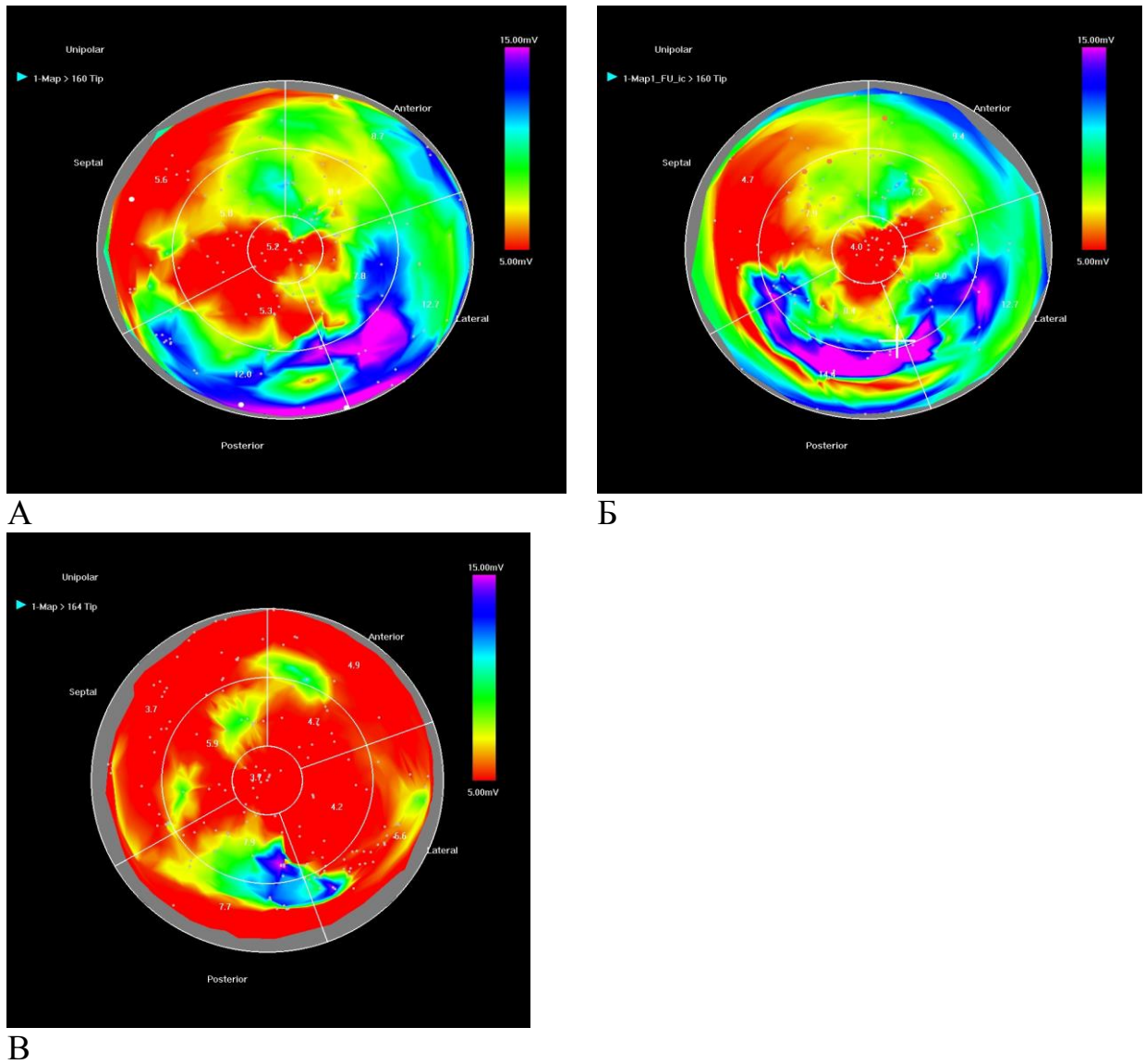


Рис. 6.13. Хворий К. А – початкове картування, Б – через 6 місяців після інтракоронарного введення ауто-МСК, В – через 3 роки після лікування.

Таким чином, за даними проведеного дослідження встановлено, що ендоміокардиальне введення ауто-МСК кісткового мозку з використанням навігаційної системи NOGA є безпечною клінічною процедурою. Загальна летальність на етапі 36-місячного контролю становила 13,3 %. З них від кардіальних причин через 12 місяців не вмер жоден хворий, через 36 місяців – 6,7 %. Термін виживаності у хворих, які лікувалися із застосуванням клітинних технологій, становив 35 (18–61) місяців. В термін через 6 місяців після введення ауто-МСК підвищувалась ЯЖ пацієнтів, знижувались дози лікарських кардіотропних препаратів, зростала ФВ ЛШ, підвищувалась толерантність до фізичних навантажень. В перші 12 місяців прогресування СН не спостерігалось в жодного пацієнта, ФК стенокардії напруги (ССС) і ХСН (NYHA) статистично значимо покращились у більшості пацієнтів. Відповідно, зменшилось кількість хворих, які приймали сублінгвальні нітрати. За даними 6-хвилинного теста ходьби після імплантації ауто-МСК КМ на всіх етапах контролю відстань, яку проходили хворі, достовірно зростала. На протязі 12-місячного спостереження за даними трансторакальної ЕхоКГ показники ФВ ЛШ, КДО ЛЖ, КСО ЛЖ, УО залишалися покращеними. За результатами електромеханічного картування ЛШ відзначалися непрямі признаки покращення скоротливої функції міокарда в ішемізованих ділянках ЛШ. Показники якості життя також статистично значимо покращились у порівнянні з вихідними даними [70, 73, 74].

Позитивний клінічний ефект утримується на протязі 12–24 місяців з поступовим його зменшенням до 36 місяців. Тим не менш, можна розглядати питання про можливе повторне проведення процедури імплантації задля відновлення ефекта клітинної кардіоміопластики. Слід зазначити, що повторне введення ауто-МСК ми виконували 14 пацієнтам. У них було відмічено відновлення ефекту клітинної кардіоміопластики, і надалі протягом 12 місяців останній знову нивелювався. В ряді випадків трансплантація ауто-МСК у хворих з РС використовувалась як перший етап лікування ІХС для покращення механічної функції ЛШ. В подальшому

(через 6 місяців) виконували ревакюляризуючі операції. Слід зазначити, що трансендокардіальне введення клітинного трансплантата дозволяє досягти кращих результатів, ніж інтракоронарне і внутрішньовенне введення [75, 154].

Основні положення розділу 6 опубліковані в роботах автора:

1. **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.

2. **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.

3. **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.

4. **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.

5. 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.

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

ІХС займає перше місце серед серцево-судинних захворювань за частотою ускладнень і кількістю летальних наслідків. Традиційними методами лікування цієї категорії пацієнтів може бути традиційна медикаментозна терапія, пряма реваскуляризація міокарда (АКШ або ангіопластика зі стентуванням), а також трансплантація серця. Існуюча на теперішній час медикаментозна терапія, зазвичай, є недостатньо ефективною у запобіганні процесів ремоделювання міокарда. Існує велика група хворих, яким по тим чи іншим причинам неможливо виконати пряму реваскуляризацію міокарда, а також пацієнти зі зворотньою, прогресуючою стенокардією, у яких операція АКШ вже була виконана, а повторна операція неможлива [15, 218].

Сучасні дослідження в області біології СК стали початком нового терапевтичного напрямку – клітинної кардіоміопластики, який спрямований на заміщення пошкоджених кардіоміоцитів шляхом імплантації аутологічних СК КМ. Ефективність процедури клітинної кардіоміопластики підтверджена численними експериментальними та клінічними дослідженнями. На теперішній час трансплантацію клітин КМ багато фахівців розглядають як потенційно перспективну терапію для пацієнтів з хронічною ІХС [6, 18, 344].

Однак, масштабних досліджень по оцінці ефективності імплантації СК КМ у пацієнтів з СН дотепер не існує. Процеси диференціювання і приживлення трансплантованих СК, роль клітинного злиття і механізми впливу трансплантованих клітин на функцію і метаболізм серцевого м'язу вивчені недостатньо. Залишається також предметом дискусії найбільш ефективний спосіб доставки трансплантату в міокард. Таким чином, існує потреба в розробці оптимальної комбінації лікування хворих на ІХС, ускладненої дисфункцією міокарда, коли немає можливості для первинної або повторної прямої реваскуляризації, що дасть змогу збільшити віддалену виживаність, поліпшити ЯЖ і збільшити його тривалість [48, 82].

Метою дисертаційного дослідження було поліпшення безпосередніх і віддалених результатів лікування хворих на РС шляхом застосування клітинної терапії на підставі вивчення патогенетичних механізмів впливу на міокард і показники метаболізму.

Робота є експериментально-клінічним дослідженням і містить дані щодо розробки патогенетично обґрунтованого нового підходу до лікування хворих з РС. Експериментальна частина роботи проведена на 142 крисах інбредних ліній Вістар-Кайота, вагою 200–220 г. Оперативні втручання виконували в умовах експериментальної операційної під кетаміновим наркозом (12,5мг/100 г маси тіла внутрішньом'язово). Моделювання ІМ здійснювали шляхом прошивання і перев'язки передньої міжшлуночкової артерії.

До експерименту залучали тільки тварин з трансмуральним ІМ, наявність якого підтверджували за даними ЕКГ та УЗД, тобто 120 голів, які були розділені на 6 груп по 20 в кожній серії (залежно від способу лікування ІМ). В п'ять груп дослідження увійшли самиці. Тварин виводили з експерименту через 1, 6, 24 години, 7 і 30 діб після моделювання ІМ. МСК отримували з кісткового мозку тварин.

В динаміці у лабораторних тварин вивчали маркери неоангіогенезу в сироватці крові: вміст NO, концентрацію VEGF і рівня ендотеліну-1. Терміни спостереження за крисами були 1, 6 і 24 години після індукції патологічного стану і лікування, а також на 7 і 30 добу дослідження. ПОЛ оцінювали за рівнями гаптоглобіна, церулоплазмїна та ТБК-активованих продуктів. В якості маркерів метаболічної активності міокарда були обрані МВ-КК, АсТ, АДА і ЛДГ. Тваринам виконували УЗД серця і ЕКГ. Ділянки міокарда піддавали морфологічному та імуногістохімічному дослідженню.

В основу клінічної частини дисертаційної роботи лягли результати обстеження, лікування та динамічного спостереження за 231 пацієнтом з РС. Ця частина роботи складалася з двох етапів. На першому, на основі ретро- і проспективного дослідження 156 хворих з РС, вивчали ефективність

застосування ауто-МСК КМ на ремоделювання міокарда в постінфарктному періоді. На другому етапі, на основі аналізу найближчих і віддалених результатів лікування, з'ясовано оптимальні шляхи доставки клітинного трансплантата і розроблена методика трансендоміокардіального введення ауто-МСК КМ.

КМ отримували з грудини або гребеня клубової кістки (20–40 мл), отримували моноклеарну суспензію клітин КМ і засівали її на покриті колагеном культуральні флакони площею 75 см² в концентрації 2–5×10⁶ клітин на флакон. Після цього проводили їх культивування в СО₂-інкубаторі при температурі 37 °С в 5 % атмосфері СО₂.

Електро механічне картування проводили на навігаційній системі нефлюороскопічного контролю NOGA XR в умовах операційної. За результатами електроанатомічного картування визначали геометрію ЛШ, оцінювали локалізацію провідної системи, наявність рубців і аналіз електричної і механічної активності ЛШ. За допомогою означеної системи виконували ін'єкції в міокард (8–10 ін'єкцій) об'ємом 0,2 мл кожна, уникаючи зон провідної системи серця і верхівки.

Існує велика кількість типів стовбурових/прогеніторних клітин, які можна охарактеризувати по потентності, джерелу походження та ін. [34]. Мультипотентні мезенхімальні стромальні клітини є одними з найбільш привабливих типів клітин для клітинної терапії в зв'язку з їх доведеними кардіопротекторними властивостями і низькою імуногенністю [448].

Вивчення протекторних ефектів МСК в деяких дослідженнях, проведених на експериментальних тваринах, показало, що їх введення під час експериментального ІМ призводить до зменшення його об'єму і поліпшенню функціонального відновлення міокарда [47].

В ході експериментального дослідження нами було встановлено, що протягом перших 7 діб після трансплантації СК відзначалося підвищення синтезу оксиду азоту, що сприяло вазодилатації в гострому постінфарктному періоді. Через 1 годину експерименту концентрація NO зростала з (0,58±0,03)

до $(0,86 \pm 0,04)$ мкг/мл. Подібні зміни спостерігалися у крис групи ІМ з трансплантацією МСК. Максимальні значення рівня NO відзначені до кінця 1-ї доби – $(1,12 \pm 0,05)$ мкг/мл. На 7-у добу експерименту рівень NO починав знижуватися і ця тенденція зберігалася до кінця дослідження, коли рівень вивчаємого показника досягав $(0,88 \pm 0,03)$ мкг/мл. Через 1 місяць після моделювання патологічного стану рівень NO досягав $(0,96 \pm 0,05)$ мкг/мл, що було достовірно вище нормальних значень. Починаючи з 7-ї доби концентрація оксиду азоту в групі ІМ з внутришньовенною трансплантацією МСК була достовірно вище, ніж в групі ІМ без лікування ($t=4,42$; $p<0,001$) [69].

В ході експериментального дослідження у крис з ІМ виявлено дворазове збільшення рівня ендотеліну-1 до $(10,6 \pm 0,7)$ моль/мл і його рівень був підвищеним до кінця 7-ї доби спостереження. У групі тварин з ІМ та внутришньовенною трансплантацією МСК у строки до 1 години після моделювання ІМ відзначалося зростання рівня ендотеліну-1 до $(10,4 \pm 0,5)$ моль/мл з досягненням максимальних значень до кінця 1-ї доби. В подальшому рівень його знижувався до $(9,1 \pm 0,3)$ моль/мл і до кінця 1-го місяця спостереження не відрізнявся від показників контрольних тварин [69].

Вивчення динаміки рівнів VEGF у крис показало, що до 6-ї години після індукції ІМ вони не відрізнялися від контрольних значень. Через 6 годин показник зростав до $(126,72 \pm 24,05)$ пг/мл і досягав максимальних значень до кінця 1-ї доби – $(220,45 \pm 22,13)$ пг/мл. В наступному, до кінця спостереження 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 ІМ з трансплантацією МСК до 6 години дослідження також спостерігали підвищення рівня VEGF до $(134,86 \pm 28,11)$ пг/мл з досягненням максимуму до кінця 1-ї доби – $(288,22 \pm 23,46)$ пг/мл. Далі VEGF незначно знижувався і до кінця експерименту становив $(132,74 \pm 19,87)$ пг/мл, що в 2 рази перевищувало нормальні значення ($t=2,8$; $p<0,05$). Таким чином,

трансплантація МСК стимулювала ангиогенез, підсилювала експресію VEGF протягом всього експерименту [69].

Спостереження за тваринами у віддаленому посттрансплантаційному періоді показало, що концентрація похідних NO через 1 місяць у тварин в 1-й і в 2-й групах підвищувалась до $(0,88 \pm 0,03)$ і $(0,85 \pm 0,02)$ мкг/мл відповідно ($t=6,4$, $p<0,05$). У 3-й, 4-й і 5-й групах виявлено більш значне їх підвищення: $(0,99 \pm 0,04)$, $(0,96 \pm 0,05)$ і $(0,92 \pm 0,03)$ мкг/мл відповідно, при цьому в 3 групі вміст NO був вищим, ніж в 5 групі ($t = 1,99$, $p < 0,05$). Це ж стосувалося також і концентрації VEGF: в 1-й і 2-й групах його рівень не перевищував нормальних значень, в 3, 4 і 5 групах досліджуваній показник був значно вищим за норму і становив відповідно $(144,22 \pm 14,59)$, $(132,74 \pm 19,87)$ і $(111,43 \pm 12,22)$ пг/мл, причому в 3 групі визначався максимальний рівень у порівнянні з 5 групою ($t=1,97$, $p<0,05$). Через 1 місяць після індукції ІМ рівень ендотеліну-1 в 3-й, 4-й і 5-й групах не відрізнявся від норми, в 1-й і 2-й був дещо вищим за нормальні значення і склав $(5,9 \pm 0,2)$ і $(5,8 \pm 0,2)$ моль/мл відповідно [69].

За допомогою математичного аналізу був виведений коефіцієнт компенсації ішемії (ККІ), який розраховували за формулою: $KKI = (NO \times 100 + VEGF) / \text{ендотелін-1}$. У експериментальних тварин без лікування відбувалося незначне підвищення цього показника до 30,13 і 30,2 у.од., що вказувало на спробу організму компенсувати альтерацію міокарда. У 3-й, 4-й і 5-й групах відбувалося значне підвищення коефіцієнту в порівнянні з нормою на 25,1, 20,4 і 16,2 у.од. відповідно. Найкращий ефект був отриманий після інтраміокардіального введенням клітинного трансплантата.

Дослідження впливу трансплантації МСК на інтенсивність процесів ПОЛ виявило, що при модельованому ІМ відбувалося накопичення ТБК-активних продуктів з $(1,09 \pm 0,1)$ до $(2,81 \pm 0,8)$ мкмоль/л ($t=2,13$, $p<0,05$). Після трансплантації МКС цей показник дорівнював $(1,74 \pm 0,5)$ мкмоль/л, що достовірно не відрізнялося від значень, отриманих у здорових тварин ($t=1,11$,

$p > 0,05$). Поряд із цим, досліджуваний показник був на 1,2 мкмоль/л нижче, ніж при ІМ, але вище норми, що свідчило про мінімізацію шкідливого чинника при трансплантації МСК і зниження інтенсивності ПОЛ [153].

В 2-й групі тварин рівень гаптоглобіну становив (59 ± 4) мг/дл, що значно перевищувало норму ($t=2,1$, $p < 0,05$), при цьому концентрація церулоплазміну була в межах нормальних значень, а вміст ТБК-активних продуктів зростав до $(2,77 \pm 0,6)$ мкмоль/л. Це свідчило про превалювання процесів руйнування мембран клітин у тварин з ІМ.

У 3-й групі 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 $2,2$; $p < 0,05$).

З метою визначення інтегральної функції оксидантної і антиоксидантної систем нами був розроблений коефіцієнт оксидантно-антиоксидантної системи (КОАС), який розраховували за формулою:

$$\text{КОАС} = \text{гаптоглобін} + (\text{ТБКакт.} \times 100) / \text{церулоплазмін (у.од)}.$$

Показники КОАС свідчили, що при ІМ переважали процеси альтерації і активації оксидантної системи, при цьому антиоксидантна система не встигала компенсувати руйнування і нейтралізувати агенти катаболізму, на що вказувало зростання даного показника. Клітинна кардіоміопластика стабілізувала показники КОАС, що проявлялося в значному його зниженні.

Таким чином, проведені дослідження свідчили, що для ішемізованого міокарда було характерним підвищення анаеробного обміну і гіпоксичний тип метаболізму. Трансплантація МСК викликала активацію перекисного гемолізу еритроцитів, викликаного гіпоксією. Майже дворазове підвищення церулоплазміну у тварин з ІМ та трансплантацією МСК свідчило про стимуляцію МСК факторів природних систем антиоксидантного захисту [69, 153].

Дослідження ступеня пошкодження міокарду показало, що через 1 добу після припинення кровотоку в міокарді виникало значне підвищення рівня МВ-КК з (5125 ± 123) до (7700 ± 140) Од/л ($t=13,8$; $p<0,001$), що вказувало на формування великого осередку ушкодження. При цьому значення цього показника були підвищені у всіх групах, крім 3-ї. В 4-й і 5-й групах рівень МВ-КК дещо перевищував норму – $(5855,5 \pm 129)$ і $(5755,5 \pm 129)$ Од/л відповідно ($t=4$ і $4,8$; $p<0,01$). При аналізі концентрації АсТ серед груп тварин найбільш високі цифри виявлені у 2-й групі, найбільш низькі – в 4-й. Таким чином, клітинна кардіоміопластика сприяла зменшенню об'єму пошкодження серцевого м'яза.

Рівні ЛДГ також значно відрізнялися між групами без лікування і групами з клітинною терапією. Значення цього показника свідчило про збільшення оксигенації міокарда і активації аеробних шляхів окислення енергодаючих субстратів: у 2-й групі концентрація досліджуваного ферменту була вищою за норму і становила (1123 ± 22) Од./л ($t=13,9$; $p<0,001$), в 3-й групі даний показник наближався до норми – (665 ± 17) Од./л ($t=5,7$; $p<0,05$).

Результати макроскопічного дослідження серця були зіставлені з даними УЗД серця. Визначення маси серця виявило відсутність суттєвої різниці у тварин досліджуваних груп. При вивченні коефіцієнта LW , NW / BW і LW / BW було встановлено, що маса ЛШ в 1-й групі була значно меншою за норму – $(0,62 \pm 0,05)$ г ($t=2,6$, $p<0,01$). У 2-й групі маса ЛШ теж була нижчою норми – $(0,47 \pm 0,014)$ г ($t=2,9$, $p<0,01$). Після клітинної кардіоміопластики цей показник наближався до норми ($t=0,19$ і $0,3$ відповідно). У 5-й групі визначалося зниження маси ЛШ до $(0,51 \pm 0,014)$ г, що було нижче норми ($t=2,12$, $p<0,01$).

Дані інтегрального відношення NW / BW залишалися незмінними у всіх групах у порівнянні з нормою.

Поряд із цим, в 1-й і 2-й групах відбувалося зменшення відношення LW / BW до $(0,16 \pm 0,01)$ і $(0,16 \pm 0,02)$ відповідно. В 3-й і 4-й групах

інтегральний показник LW / BW не відрізнявся від норми. У тварин 5-ї групи відношення LW / BW знижувалося до $(0,16 \pm 0,01)$.

При визначенні ФВ ЛШ було виявлено, що в 1-й групі тварин показник зменшився з $(76,9 \pm 2,5)$ до $(55,3 \pm 3,4)$ % ($t=5,1$, $p<0,05$), в 2-й групі спостерігалася така ж картина, причому різниці в показнику між 1-ю і 2-ю групами не було виявлено. У 3-й групі ФВ ЛШ не відрізнялася від норми, в 4-й групі цей показник був нижче норми і дорівнював $(70,6 \pm 2,3)$ % ($t=1,9$, $p<0,05$). У 5-й групі ФВ ЛШ також зменшилася до $(66,5 \pm 3,3)$ при $t=2,5$, $p<0,05$. Між тим, в 5-й групі показник був вищим, ніж в 1-й і 2-й групах ($t=2,4$ і $2,2$, $p<0,05$), але нижче, ніж в 3-й групі ($t=2,02$, $p<0,05$).

Динаміка змін УО в експериментальних групах була наступною: в 1-й групі показник зменшився з $(0,25 \pm 0,08)$ до $(0,13 \pm 0,03)$ мл ($t=1,9$, $p<0,05$), в інших групах даний показник залишався незмінним. Проте, в 3-й групі УО був найбільш наближеним до норми і був вищим, ніж в 1-й, 2-й і 5-й групах.

У віддалені терміни експерименту (1 місяць) за даними УЗД були визначені характерні для ІМ зміни в роботі серця. У тварин контрольних груп достовірно зменшилася ЧСС на 31 уд/хв, показники АТ дещо знижувались в порівнянні з нормою. Найбільша різниця між групами виявлена у величині КДТ, який у крис з ІМ збільшувався в порівнянні з нормою майже в 2 рази. Отримані дані свідчили, що в ці терміни часткова втрата скорочувальної функції міокарда компенсувалася роботою збереженого міокарда [68, 153].

Через 3 місяці після ІМ спостерігалось істотне пригнічення скорочувальної функції серця: виявлено значне збільшення КДТ в ЛШ, зниження РТ на 20 %, зменшення індекса Катца на 12 %, зменшення ІФП на 15 %.

Клітинна трансплантація в 3-місячні терміни спостереження сприяла відновленню скорочувальної функції серця, що проявлялося нормалізацією ЧСС, АТ, зниженні РТ і індекса Катца. При цьому найкраща динаміка була відзначена після інтраміокардіальної трансплантації МСК.

Дослідження біоелектричних властивостей міокарда показало, що розлади у вигляді порушень ритму, змін морфології шлуночкового комплексу QRS на ЕКГ виявлялися у тварин вже в першу добу після моделювання ІМ. Для динамічного спостереження протягом тривалого часу використовували добове моніторування ЕКГ за Holter. У контрольних групах тварин до 30-ї доби після моделювання ІМ спостерігалися часті порушення провідності у вигляді АВ-блокади 2 ступеня типу Мобіц 1.

При моделюванні стресового навантаження у тварин всіх груп спостерігався позитивний хронотропний ефект, при цьому його вираженість значно відрізнялася у тварин різних груп. У інтактних крис на 1-й хвилині навантаження ізопропілнорадреналіном абсолютний приріст ЧСС склав близько 32 уд/хв. На тлі високого базового рівня ЧСС тварин другої групи стрес-обумовлений приріст склав 11 уд/хв. У тварин 3-ї групи аналогічний показник був більшим на 22 уд/хв. у порівнянні з вихідним. Вже на 3-й хвилині експерименту спостерігалось зниження ЧСС у всіх групах тварин зі стабілізацією на рівні 490–495 уд/хв.

Якісна реакція серця на стрес-імітуюче навантаження в різних групах була однаковою, але, при нормі +32 уд/хв., дані максимального приросту були найбільш наближені в 3-й, 4-й і 5-й групах (відповідно на +38, 39 і 28). У 1-й і 2-й групах приріст склав лише +22 і +24 [68, 153].

Морфологічне дослідження міокарда показало, що до кінця 1-ї доби після моделювання гострого ІМ в зоні ішемії спостерігалися всі ознаки, характерні для стадії альтерації при запальній реакції, яка супроводжується набуханням і набряком кардіоміоцитів, також з'являлися перші ознаки дистрофії і початкові дегенеративні ознаки. У строк 3–4 доби відзначалося продовження класичної запальної реакції у вигляді інфільтрації зони пошкодження тканинними макрофагами, лейкоцитами і лімфоцитами, також виявлялося утворення грануляційної тканини у вигляді бар'єру навколо зони пошкодження, де відзначалися явища міоцитоліза. Одночасно з цим спостерігалася підвищена активність стромального компонента у вигляді

проліферації клітин строми і активації ендотеліоцитів, відмічалися явища формування рубця у вигляді синтезу колагену без утворення колагенових волокон. До 7-ї доби визначалася організація інфаркта. На 21-у добу процес інфільтрації закінчувався, у зоні пошкодження відбувалося активне формування і структуризація рубцевої сполучної тканини, колагенових волокон і невеликої кількості окремих еластичних волокон. В строки 30-35 днів в зоні некрозу формувалася рубцева тканина. При імуногістохімічному фарбуванні на актин і тропонін Т найбільш яскраво візуалізувалася тотальна загибель м'язових волокон в зоні рубцювання. На 30-й день стінка ділянки, яка рубцювалася, була повністю представлена сполучною тканиною. При цьому в усі терміни знаходили проліферуючі клітини сполучної тканини і судинної стінки, що свідчить про те, що в даний термін ще тривають процеси неповної регенерації і ремоделювання.

При якісному морфологічному дослідженні після трансплантації як аутологічних МСК, так і «потенційованих аутологічних» МСК або КМ СК, визначалася істотна відмінність морфологічної картини в пошкодженій ділянці. Перш за все, в ділянці інфаркту спостерігали чергування ділянок м'язів, які збереглися, і полів рубцевої тканини. При імуногістохімічному забарвленні на актин і тропонін Т найбільш чітко бачили чергування ділянок м'язів, які збереглися, і полів рубцевої тканини. З 21-ї доби візуалізували тільки поодинокі проліферуючі клітини в рубці, що свідчило про завершеність процесу рубцювання. У тварин після трансплантації СК судин було більше на одиницю площі, їх просвіт був меншим, вони мали добре сформовану стінку.

При використанні гібридизації *in situ* у крис-самок ми виявили в рубцях, які формувалися, клітини з наявністю Y-хромосоми в ядрі, тобто клітини-наступники пересаджених МСК. Клітини з Y-хромосоною виявляли серед ендотеліальних клітин, в стінці судин, які формуються, і серед фіброblastів рубця. У сусідніх з рубцем пучках міокарда позитивних клітин виявлено не було.

Проведені морфометричні дослідження міокарда показали, що в 3-й, 4-й і 5-й групах крис після трансплантації МСК практично за усіма вивчаємими показниками було досягнуто істотно кращі результати в порівнянні з тваринами 1-ї групи, при цьому рівень достовірності відмінностей був як правило менше 0,01. Трансплантація МКС при експериментальному ІМ у крис призводила до зменшення зони ІМ 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 більше ніж в 1-й групі. У 2-й групі в порівнянні з показниками 1-ї групи фактично залишилися незміненими досліджувані показники за винятком питомого обсягу сполучної тканини.

В 3-й групі були досягнуті максимальні морфометричні показники: питомий обсяг ділянки інфаркту від вихідної тканини дорівнював $(19,05 \pm 2,29)$ проти $(65,83 \pm 2,29)$ % в 1 групі, збільшилася середня кількість судин на 100000 мкм^2 в порівнянні з 1 групою з $(10,21 \pm 1,26)$ до $(72,99 \pm 3,1)$, до того ж, відсоток збережених м'язових волокон був на 33,3 % вище у 3 групі.

У 5 групі питомий обсяг ділянки інфаркту від вихідної тканини дорівнював $(32,03 \pm 4,6)$ проти $(65,83 \pm 2,29)$ % в 1 групі. Питомий обсяг сполучної тканини, включаючи судини, який в 5 групі дорівнював $(23,4 \pm 4,2)$ %, в 1 групі значно був більше – $(33,78 \pm 1,72)$ %. Збільшилася середня кількість судин на 100000 мкм^2 в порівнянні з 1 групою з $(10,21 \pm 1,26)$ до $(44,9 \pm 5,3)$, до того ж, відсоток збережених м'язових волокон був на 21,9 % вище, ніж у 3 групі [206].

На сьогоднішній день визнаний той факт, що МСК можуть сприяти регенерації тканини шляхом секреції факторів росту та інших цитокінів (BDNF, NGF, VEGF та ін.) [175]. Крім того, вони можуть регулювати запальну реакцію, яка відіграє важливу роль в постішемичному пошкодженні міокарда, оскільки СК секретують ряд імуномодуючих факторів, таких як простагландин E2, TNF-а, TGF- β , IL6 та ін. Отримана досить велика кількість

даних, що підтверджують існування даного феномена [41, 84]. Однак, міжклітинна комунікація в результаті секреції біологічно активних сполук і їх "уловлювання" сусідніми клітинами обмежена дифузією. Це обмеження може бути зведене до мінімуму в разі спрямованої передачі клітинних компонентів від клітини до клітини в результаті формування міжклітинних контактів [47]. Розвиток ІМ супроводжується підвищенням ангіогенних факторів, таких як оксид азоту і VEGF і підвищенням вмісту вазоконстриктора ендотеліну-1, який грає важливу роль в патогенезі ІМ. Слід зазначити, що підвищення ангіогенних і судинорелаксуючих факторів є компенсаторною реакцією організму на ішемічне ушкодження. Нашими дослідженнями було доведено, що трансплантація МСК, не залежно від способу введення, сприяла підвищенню вмісту ангіогенних факторів і нормалізації рівня ендотеліну-1. Наслідком цього було нівелювання ішемії, поліпшення перфузії міокарда і, таким чином, ліквідація порочного кола при ІМ, тому що концентрація ангіогенних і судинозвужувальних факторів грає чільну роль в розповсюдженні ІМ і ремоделюванні ЛШ. Встановлено також, що кардіоміопластика МСК супроводжується зниженням активності ферментів в пошкодженому міокарді, що свідчить про підвищення енергетичного балансу енергоутворюючих субстратів і зниження ступеня ішемії міокарда. Зменшення накопичення продуктів ПОЛ і напруга неферментативної ланки антиоксидантного захисту є хорошим прогностичним критерієм відновлення функціональної активності пошкодженого міокарда. Клітинна кардіоміопластика, крім поліпшення морфологічної структури і функціонального резерву, також покращує метаболізм клітин. Все це підтверджує теорію неоангіогенезу і паракринного ефекту клітинної трансплантації. Отже, трансплантація МСК дозволяє оптимізувати обмін кисню кардіомиоцитами і стабілізувати аеробний і анаеробний гліколіз. Трансплантація МСК сприяє значному поліпшенню васкуляризації в зоні інфаркту, яке, можливо, призводить до зменшення ішемії в прикордонних з інфарктом зонах, зниженню ішемічного

ушкодження кардіоміоцитів в цих зонах, що в результаті сприяє зменшенню площі рубця і попередженню формування аневризми серця. Доведено, що трансплантовані клітини активно беруть участь у формуванні судин і сполучної тканини в зоні рубцювання, яке завершується на 21 добу після моделювання ІМ. При звичайному морфологічному дослідженні ми не визначили значущих відмінностей між групами тварин після трансплантації МСК [47, 206].

Таким чином, клітинна кардіоміопластика при будь-якому способі введення клітинного трансплантата позитивно впливає на морфологічний субстрат серця. При цьому зменшується розміри рубця при постінфарктному ремоделюванні, збільшується кількість новостворених судин і відсоток збережених міоцитів. Це відбувається за рахунок хоумінга МСК в зону ішемії та спільності двох механізмів - безпосереднього диференціювання в клітини ендотелію судин серця, а також за рахунок паракринного ефекту [49].

На першому етапі клінічного дослідження нами було вивчено деякі механізми клітинної трансплантації у хворих з РС в ранньому післяопераційному періоді. Всім пацієнтам основної групи проводили внутрішньовенні крапельні інфузії ауто-МСК КМ (50 000 000 клітин) на 100 мл розчину NaCl 0,9%. МСК отримували з КМ грудини або гребеня клубової кістки. Отриману моноклеарну суспензію клітин КМ засівали на покриті колагеном культуральні флакони площею 75 см² в концентрації $2-5 \times 10^6$ клітин на флакон і проводили культивування в CO₂-інкубаторі при 37 °C і 5 % атмосфері CO₂. Культури досягали первинного моношару на 8-11 добу культивування, коефіцієнт пасирування становив 1:2 або 1:3. Після цього клітини повторно культивували в CO₂-інкубаторі.

У пацієнтів основної групи значне поліпшення загального стану відзначили 18 (23,7 %) пацієнтів, 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 – 29 (36,25 %), погіршення стану – 7 (21,25 %) [52].

Через 3 місяці від початку дослідження на фоні лікування у хворих групи порівняння залишалися болі за грудиною у 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. Серед хворих основної групи болі за грудиною зберігалися у 18 (23,7 %), задишка – у 11 (14,5 %), периферичні набряки – у 2 (2,6 %) хворих основної групи. Через 6 місяців болі за грудиною зберігалися у 13 (17,1 %), задишка – у 8 (10,5 %) пацієнтів. Периферичні набряки 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, через 6 місяців пацієнти відзначали його зниження в середньому до $(71,3 \pm 5,8)$ балів. 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 [57,155].

Стандартне медикаментозне лікування РС призводило до погіршення загального стану хворих і підвищення функціонального класу стенокардії: через 3 місяці після проведення курсу медикаментозної терапії кількість пацієнтів з ФК 3 зросла з 61,25 до 77,5 % за рахунок зменшення пацієнтів з ФК 2 (з 18,75 до 10 %), число хворих з ФК 4 зменшилося з 20 до 12,5 %. Через 6 місяців від початку дослідження кількість хворих з ФК 2 зменшилася до 0, кількість пацієнтів з ФК 4 зросла до 21,25 %.

В динаміці у хворих після трансплантації СК відмічено зниження ФК по NYHA: через 3 місяці зменшилась кількість пацієнтів з ФК4 (з 21,0 до 7,9 %) і зросло число хворих з ФК 2 (з 22,4 до 32,9 %). Через 6 місяців кількість пацієнтів з ФК 4 істотно не змінилося, кількість хворих з ФК 3

зменшилось до 31,6 %, відповідно з ФК 2 – зросло до 50 %. При цьому ефект утримувався протягом 2–4 місяців ($p < 0,05$). Після медикаментозного лікування спочатку була виявлена хибнопозитивна динаміка перебігу стенокардії у вигляді підвищення кількості пацієнтів з ФК 2 і 3 за рахунок зменшення числа хворих з ФК 4. Але через 6 місяців кількість хворих з ФК 2 нівелювалося і значно зростала кількість хворих з ФК 4 і 3. У пацієнтів основної групи відмічено достовірне підвищення толерантності до фізичних навантажень і показники тредміл-тесту покращились з $(2,8 \pm 0,46)$ до $(3,8 \pm 0,417)$ Мет. Од. ($p < 0,05$), в групі порівняння відбувалося зниження показника з $(3,2 \pm 0,47)$ до $(2,3 \pm 0,48)$ Мет. Од. ($p < 0,05$) [75].

При вивченні динаміки ФВ ЛШ на даними трансторакальної ЕхоКГ через 3 місяці після клітинної трансплантації відзначалося зростання показника з $(33,8 \pm 3,6)$ до $(42,8 \pm 4,8)$ % з подальшим незначним зниженням. У пацієнтів групи порівняння будь-яка динаміка ФВ ЛШ була відсутня.

Динаміка КДО ЛШ в посттрансплантаційному періоді була прогностично позитивною ознакою для хворих з СН на тлі стенокардії: через 3 місяці відбувалося зменшення цього показника з $(244,1 \pm 24,3)$ до $(193,4 \pm 18,9)$ мл, в подальшому до 6 місяців він залишався стабільним і меншим, ніж до лікування. У групі порівняння показник КДО ЛШ був стабільним і не змінювався протягом дослідження.

Після трансплантації ауто-МСК пацієнти відмічали позитивну динаміку в клінічному стані: частота денних ангінозних епізодів на протязі 6-місячного періода знизилась 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 до цього, частота прийому сублінгвальних нітратів зменшилась з $(1,8 \pm 2,8)$ до $(0,5 \pm 1,2)$ таблетки на день через 6 місяців і до $(0,5 \pm 1,3)$ таблетки на день через рік ($p = 0,043$). У хворих групи порівняння через 3 місяці відзначалася хибнопозитивна динаміка, яка нівелювала через 6 місяців.

Серед хворих основної групи у 9 (11,8 %) випадках внутрішньовенну трансплантацію ауто-МСК використовували в якості першого етапу

лікування з метою підвищення скоротливої здатності ЛШ (а саме ФВ). У цих хворих протипоказанням до виконання АКШ було значна систолічна дисфункція ЛШ і ФВ ЛШ в середньому складала $(30,6 \pm 2,3)$ %. Через 3 місяці після проведеного лікування було відмічено підвищення ФВ ЛШ в середньому до $(46,8 \pm 3,8)$ %. На цьому фоні хворим була виконана реваскуляризація міокарда в терміни 4-6 місяців після проведення процедури клітинної кардіоміопластики. В 3 випадках виконано КШ-1, в 4 – КШ-2 і у 4 хворих – КШ-3.

Перебіг післяопераційного періода в усіх випадках був гладким, летальних випадків зафіксовано не було. Середні терміни перебування в стаціонарі становили $(10,3 \pm 2,2)$ ліжко-діб [55, 57].

15 пацієнтам групи порівняння і 15 пацієнтам основної групи на першому етапі дослідження виконували катетерне електромеханічне картування ЛШ за допомогою навігаційної системи Noga XP (Cordis, США), яка дозволяла виконати об'ємну реконструкцію порожнини ЛШ і визначити життєздатність міокарда. В основній групі за результатами динамічного картування ЛШ ми отримали наступні результати: у всіх пацієнтів відзначалася позитивні зміни, при цьому у 1 (6,7 %) відзначено значне поліпшення. У групі порівняння незначна позитивна динаміка відзначалася у 9 (60 %) пацієнтів, а у 6 пацієнтів (40 %) за результатами картування не відбулося ніяких змін в порівнянні з вихідним картуванням.

У пацієнтів основної групи в динаміці відзначено стабілізацію показників антиоксидантного захисту, яка проявлялася в достовірному підвищенні відновленого глутатіону з $(1106,8 \pm 566,8)$ ммоль/л до $(175 \pm 477,7)$ ммоль/л ($p < 0,05$). Крім того, стабілізація проявів СН оцінювалась за вмістом NTpro ~ BNP: в динаміці спостереження відмічено достовірне зниження даного показника, який через 6 місяців після лікування знизився з $(514,07 \pm 28,1)$ до $(285,88 \pm 67,42)$, тобто майже в 2 рази.

Таким чином, традиційно медикаментозна терапія не відновлює міокардальну дисфункцію і тим самим, не збільшує тривалість життя [75].

Клітинна терапія відкриває нові можливості в наданні медичної допомоги хворим цієї категорії. Внутрішньовенна трансплантація ауто-МСК КМ пацієнтам з хронічною ІХС, ускладненою дисфункцією ЛШ, безпечна і може виконуватися в неспеціалізованих відділеннях. Цей спосіб лікування зменшує ангінозні прояви, підвищує якість життя пацієнтів, сприяє поліпшенню функції ЛШ. Введення трансплантату добре переноситься хворими і не супроводжується ускладненнями, сприяє підвищенню виживаності протягом 12 місяців. Крім того, трансплантація ауто-МСК КМ сприяє відокремленню рубцевої зони [56]. Картування за допомогою навігаційної системи NOGA XP в рамках нашого дослідження виявило збільшення маси живого міокарда і його скоротливої функції. В сукупності отримані результати вказують на необхідність більш глибокого вивчення механізму впливу клітинної трансплантації на міокард. Можлива гіпотеза пов'язана з активацією ангіогенеза клітинами КМ завдяки продукції ангіогенних цитокінів та арегуляції експресії ендогенних цитокінів, що сприяє збільшенню міокардіальної перфузії і функції [58]. Подібні результати отримали також і інші дослідники. Тим не менш, ці дослідження мають низку недоліків, а саме малочисельні групи хворих, короткі терміни спостереження, нестачу рандомізації. Ефективність лікування була підтверджена нами такими дослідженнями, як електромеханічне картування ЛШ. Слід зазначити, що клітинна терапія може становити проміжний етап лікування.

Відомо, що МСК КМ можуть бути імплантованими в міокард різними способами. Оптимальний шлях повинен забезпечувати високу концентрацію СК у пошкодженому міокарді і запобігати осіданню клітин в інших органах. Однак, оптимальний спосіб введення досі невідомий і, мабуть, в різних клінічних ситуаціях повинні застосовуватися різні методики трансплантації СК [48].

З метою визначення оптимального способу трансплантації ауто-МСК КМ були проаналізовані результати лікування 75 пацієнтів: 15 хворим 2-ї

підгрупи виконували трансендокардіальні «порожні» ін'єкції, пацієнтам 5-ї підгрупи проводили трансендокардіальні ін'єкції ауто-МСК; 15 хворим після виконання коронарографії у вустя коронарних артерій за допомогою катетерів Judkins Left та Judkins Right вводили ауто-МСК. Загальна кількість введених клітин складала 50 000 000.

При вивченні ефективності застосування різних способів трансплантації аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин на другому етапі дисертаційного дослідження було виявлено наступне. При внутрішньовенному введенні 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. Ускладнень після процедури трансплантації ауто-МСК не було.

При трансендоміокардіальному введенні ауто-МСК 8 (53,3 %) хворих відмітили покращення стану, 4 (26,0 %) відзначили значне покращення, у 2 (13,3 %) змін не відбулося і у 1 (6,6 %) хворого настало погіршення. Ускладнень процедури у вигляді злякисних аритмій, перфорацій, емболій і інфекційних ускладнень нами відмічено не було.

При медикаментозному лікуванні поліпшення стану відзначили лише 4 пацієнти (26,7 %), без змін – 6 (40 %), погіршення – 1 (6,7 %). Значного покращення не відмітив не один з пацієнтів. В терміни дослідження 3–6 місяців повторна госпіталізація знадобилась 7 (46,75 %). В ці терміни летальність склала 6,7 % (1 хворий помер на фоні прогресування явищ СН).

Після інтракоронарного введення клітинного трансплантату поліпшення загального стану відзначили 9 пацієнтів (60 %), без змін – 5 (33,3 %) і погіршення – 1 (6,7 %). У одного хворого (6,7 %) ранній посттрансплантаційний період ускладнився розвитком гострого ІМ, що пов'язували з мікротромбозом судин завдяки сладж-синдрому. Пацієнт був пролікований консервативно. В одному випадку (6,7 %) післяопераційний період ускладнився формуванням пульсуючої гематоми в зоні доступу на стегні, що потребувало хірургічного лікування – ушивання

дефекта 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 не піддавалися дослідженню. Отримані нами дані не співпадають з результатами, наведеними закордонними дослідженнями, які свідчать про ефективність і безпечність інтракоронарного введення МСК [154, 157].

У досліджуваних підгрупах виявлено статистично достовірне ($p < 0,05$) поліпшення якості життя за опитувальником 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.

Найбільш достовірне зменшення проявів СН і зниження ФК по NYHA нами було також виявлено у пацієнтів після трансендоміокардіальної трансплантації ауто-МСК, і цей ефект утримувався протягом 3–6 місяців ($p < 0,05$). При внутрішньовенному введенні позитивні зміни спостерігали дещо менше: протягом 2–4 місяців ($p < 0,05$).

При аналізі глобальної скоротливості ЛШ спостерігалось достовірне зменшення об'єму ЛШ у всіх досліджуваних підгрупах порівняно з підгрупами контролю. При цьому помірне збільшенням ФВ ЛШ було у власне досліджуваних підгрупах порівняно з вихідними значеннями. Відмінність середньої ФВ ЛШ в досліджуваних підгрупах було достовірно значущим через 3 і 6 місяців після введення.

У хворих після трансендоміокардіального введення ауто-МСК через 3 місяці відбувалося зменшення КДО з $(248,5 \pm 22,3)$ до $(194,3 \pm 26,4)$ мл, через 6 місяців даний показник був стабільним, але незначно меншим в порівнянні з вихідними показниками ($p > 0,05$). У підгрупах з внутрішньовенним та інтракоронарним введенням спостерігалася подібна тенденція: КДО 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. Така ж тенденція зберігалася і по відношенню ФВ ЛШ: після трансендокардіального введення клітинного трансплантата відзначалося зростання досліджуваного показника в термін 3 місяці з $(41,3 \pm 3,2)$ до $(49,3 \pm 4,6)$ %, до терміну 6 місяців посттрансплантаційного періоду він залишався стабільним. У підгрупі з внутрішньовенним введенням трансплантата також зазначалося зростання ФВ ЛШ з $(33,8 \pm 3,6)$ до $(42,8 \pm 4,8)$ % в термін 3 місяці з подальшим його поступовим зниженням.

Через 6 місяців після проведеної терапії при контрольному картуванні отримані наступні результати. В підгрупі трансендоміокардіальних введень ауто-МСК у 13 пацієнтів (86,7 %) відзначена позитивна динаміка: зона гібернованого міокарда значно зменшувалася або зовсім зникала. На вольтажній уніполярній мапі збільшувалася амплітуда електрограми, що було свідченням збільшення маси живого міокарда. На механічній мапі збільшувалася амплітуда руху сегмента, що було свідченням покращення скоротливої функції ЛШ. При цьому у 8 пацієнтів (53,4 %) відзначалося значне поліпшення, у 2 хворих (13,3 %) дані залишилися без змін.

Слід зазначити, що у 2 (13,3 %) випадках у цій підгрупі в терміни 3-6 місяців після стабілізації скоротливої функції ЛШ було виконано АКШ. Під час операції 50000000 клітин були безпосередньо введені по краю зони рубця. Проведеними нами дослідженнями було визначено, що трансендоміокардіальний шлях введення ауто-МСК з використанням електромеханічної навігації дозволяє чітко контролювати топографію, дозволяє суперселективно вводити трансплантат і потребує відносно невеликої кількості клітин. Тим не менш, це інвазивна кардіохірургічна процедура, яка супроводжується операційним ризиком, потенційно може викликати ускладнення, в зв'язку з чим повинна виконуватися тільки в спеціалізованих відділеннях. Значним недоліком цієї процедури є можливість формування у пошкодженному міокарді «острівків» клітин внаслідок їх

нерівномірного розподілення, що може порушувати електромеханічні сполучення між кардіоміоцитами і стати причиною аритмій [154, 157].

У підгрупі ендоміокардіальних «порожніх» ін'єкцій по результатах картування ЛШ ми отримали наступні результати: у всіх пацієнтів відзначалася позитивна динаміка, при цьому у 1 (2,22 %) відзначено значне поліпшення.

У підгрупах внутрішньовенного та інтракоронарного введення ауто-МСК незначна позитивна динаміка відзначалася у 7 пацієнтів (46,7 %), у 8 пацієнтів (53,3 %) за результатами картування не відбулося ніяких змін в порівнянні з вихідним картуванням.

За даними дослідників, які працюють над питанням клітинної кардіоміопластики, інтракоронарне введення з використанням балонного катетера уявляється відносно безпечним методом доставки клітинного матеріала в міокард [240]. Введення клітин в коронарну артерію, тромбоз якої став причиною ІМ, дозволяє доставити клітини в максимальній концентрації в зону ІМ та періінфарктну тканину. Ця технологія використовується у хворих на гострий ІМ з елевацією сегмента ST і дисфункцією ЛШ, яким було з успіхом відновлено коронарний кровоток [241]. Однак, можливість дисемінації СК в області ІМ вивчена недостатньо. Показано, що при інтракоронарній доставці трансплантовані клітини мігрують в періінфарктну зону і потім просуваються в зону ІМ (так як і запальні клітини), але в періінфарктній зоні виявляється більше СК, ніж в області ІМ [241]. За нашими даними внутрішньокоронарний спосіб введення клітин для відновлення функції ЛШ після ІМ має декілька суттєвих обмежень. При цьому способі введення клітини можуть «застрягати» в дрібних капілярах, не досягнувши міокарда, або «загубитися» в системному кровотоці. Після внутрішньокоронарного введення лише мала частина клітин залишається в серці [243], більша ж їх частина гине у продовж декількох діб або мігрує [254]. Нами отримані дані щодо короткотривалого покращення функції ЛШ через 3 місяці після інтракоронарного введення ауто-МСК КМ, яке починає

нівелюватися в 6-місячний термін. Це пояснюється стимуляцією ангиогенезу, паракринним впливом та імуномодуляцією [70, 71].

Внутрішньовенне введення є найбільш привабливим з точки зору клінічної практики, оскільки він не потребує хірургічного втручання. Однак, такий спосіб введення виправданий при використанні СК з високим потенціалом до хоумінгу і значно більшої кількості трансплантуємих клітин в порівнянні з локальним введенням. Хоча в експерименті показано, що клітини-попередники заселяють пошкоджений міокард значно інтенсивніше, ніж здоровий, трансплантуємі клітини здатні заселяти також інші органи і тканини. Відсутність знань щодо точного часу, сигналів і механізмів кардіального хоумінга і об'єму транспланта може стати обмеженням застосування такого підхода.

Трансінтраміокардіальне введення ауто-МСК КМ в нашому дослідженні показало найкращі результати. Насамперед, не було відмічено периопераційних ІМ, шлуночкових аритмій, інфекційних ускладнень в ранньому посттрансплантаційному періоді. В ранні терміни спостереження також не виявлено життєзагрожуючих порушень ритма серця, критичних змін в основних лабораторних показниках.

Картування ЛШ за допомогою навігаційної системи NOGA може використовуватися для оптимізації застосування клітинної терапії. Точне картування дозволяє обрати найкраще місце для імплантації СК, завдяки чому можливо досягти максимального позитивного ефекта процедури трансплантації. Віддалені результати лікування в терміни від 6 місяців до 3 років після проведеного лікування були вивчені нами у 45 пацієнтів, серед них з основної групи – 30 пацієнтів (15 хворим ауто-МСК вводили внутрішньовенно, в 15 випадках застосовували трансендоміокардіальні ін'єкції), з групи порівняння – 15 хворих. Результати лікування оцінювали за результатами клінічного обстеження, трансторакальної ЕхоКГ і електромеханічного картування [74].

В групі порівняння кількість хворих з СН ІV ст. через 6 місяців збільшилась з 20 до 46,7 %, а через 12 місяців спостереження – до 60 %. При цьому через 12 місяців спостереження хворих з ХСН ІІ ст. не було взагалі, а через 6 місяців спостереження у пацієнтів знижувались дози кардіотропних препаратів, відзначалося підвищення толерантності до фізичного навантаження. Так, у хворих з внутрішньовенним введенням МСК тредміл-тест покращився з $(2,4 \pm 0,86)$ Мет.од 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 через 6 місяців покращився з $(2,5 \pm 0,75)$ Мет.од. до $(2,7 \pm 0,81)$ Мет.од., але через рік після виконання процедури знов дорівнював $(2,5 \pm 0,75)$ Мет.од. ($p \leq 0,05$).

У хворих групи порівняння ФВ ЛШ і толерантність до фізичних навантажень прогресивно знижувалися в усі терміни дослідження.

Амплітуда уніполярного сигналу після введення ауто-МСК КМ 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. Через 12 місяців визначалася негативна динаміка у порівнянні з вихідними результатами: в усіх відділах ЛШ 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 ауто-МСК є ефективною на протязі перших 12 місяців після проведення процедури. В ці терміни доцільно виконувати повторне введення аутологічних СК, що нами було виконано у 14 (46,7 %) хворих [73].

Була проведена порівняльна оцінка якості життя хворих на РС через 1 рік після медикаментозного лікування і трансплантації ауто-МСК. Консультації кардіолога за місцем проживання 1 раз в місяць потребували 20 % пацієнтів після трансплантації стовбурових клітин, 1 раз в 6 міс. – 20 %, один раз на рік – 23,3 %, один раз на 2–5 років – 6,7 %, за необхідності –

23,3 %. Серед пацієнтів групи порівняння – відповідно 20, 23,3, 23,3, 3,3 і 30 %.

В терміни до 1 року після клітинної кардіоміопластики стан погіршився у 3 (10 %) пацієнтів, в період 1-3 роки також у 5 (16,7 %) і пізніше 3 років – у 77,3 % хворих. Серед пацієнтів групи порівняння погіршення стану було відзначено вже через 1 рік в усіх випадках, що потребувало повторних госпіталізацій [74, 154].

При вивченні показників ЯЖ у хворих після клітинної кардіоміопластики отримані наступні результати: показник фізичної активності був знижений на 28,1 %, рольові обмеження внаслідок фізичних проблем загального здоров'я знижені на 3,5 %.

Загальна летальність на етапі 36-місячного контролю у хворих, після клітинної кардіоміопластики становила 13,3 % (4 хворих), при цьому в 12-місячний термін летальних випадків не було. Два пацієнта вмерли від «позасерцевих» причин (гостра шлунково-кишкова кровотеча, гостре порушення мозкового кровообігу).

Серед всіх причин летальності в контрольній групі переважала СН: через 12 місяців від прогресування явищ СН вмерло 2 (13,3 %) пацієнта, через 36 місяців – 5 (33,3 %), лише 1 (6,7 %) хворий помер від гострого порушення мозкового кровообігу. Загальна летальність склала 46,7 %.

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 ($p=0,033$).

Проведене нами дослідження переконливо довело, що трансендоміокардіальне введення ауто-МСК кісткового мозку з використанням навігаційної системи NOGA є безпечною клінічною процедурою, що супроводжується достатньо низькою летальністю (на етапі 3-річного контролю – 13,3 %). Термін виживаності у хворих, які лікувалися із застосуванням клітинних технологій, становив 35 (18–61) місяців [154].

Найкращі клінічні результати у вигляді підвищення ЯЖ, покращення скоротливої функції ЛШ, підвищення толерантності до фізичних навантажень, відсутності прогресування СН, відзначалися в терміни 6–12 місяців, що потребувало проведення повторної процедури клітинної трансплантації, яка була нами виконана 14 пацієнтам. Введення ауто-МСК КМ у хворих з РС може бути виконане в якості першого етапу лікування ІХС для підвищення скоротливої здатності ЛШ з наступним виконанням реваскуляризуючих операцій в терміни 4–6 місяців [154].

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 ангиогенезу, 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 XP 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 $(49,3 \pm 4,6)$ % в термін 6 місяців, зменшення кінцево діастолічного об'єму лівого шлуночка з $(248,5 \pm 22,3)$ до $(194,3 \pm 26,4)$ мл і з $(244,1 \pm 24,3)$ до $(193,4 \pm 18,9)$ мл через 3 місяці після процедури, а також підвищення толерантності до фізичних навантажень до $(3,8 \pm 0,47)$ і $(4,2 \pm 0,95)$ 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 $(246,51 \pm 34,54)$ до $(385,7 \pm 32,8)$ 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 ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Абсеитова СР. Возможности экстракорпоральной кардиологической ударно-волновой терапии в лечении пациентов с возвратной стенокардией после реваскуляризации миокарда. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2007;7(6): 14-15.
2. Абсеитова СР. Опыт лечения кардиологической ударно-волновой терапией больных ишемической болезнью сердца. Медицина Казахстана. 2005;7: 23-32.
3. Акамова ОН, Коц Я И, Железнов ЛМ, Сеницын ВЕ. Клинико-морфологические изменения венозной системы сердца в зависимости от стадии хронической сердечной недостаточности. Кардиология. 2010;3:51–55.
4. Акчурин РС, Ширяев А.А. Актуальные проблемы коронарной хирургии// М. «Геотар-Медиа» 2004
5. Афанасьев СА, Шахов ВП, Фалалеева ЛП. Возможность увеличения пула стволовых клеток в миокарде после их трансплантации при сердечной недостаточности. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, Сердечно-сосудистые заболевания, мат. XIII Всерос. Съезда сердечно-сосудистых хирургов, Москва, 25-28 ноября, 2007:299.
6. Ахмедов ШД, Бабокин ВЕ, Дьякова МЕ. Клинико-экспериментальные клеточные технологии в гибридных операциях лечения хронической сердечной недостаточности. IV Всероссийский съезд трансплантологов им. акад. В.И. Шумакова. М.; 2008: 226-227.
7. Ахмедов ШД, Бабокин ВЕ, Коркин ЮГ. Клеточные технологии в лечении больных ишемической кардиомиопатией. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, Сердечно-сосудистые заболевания, мат. XIII Всерос. Съезда сердечно-сосудистых хирургов, Москва, 25-28 ноября, 2007:296.
8. Барбараш ОЛ, Усольцева ЕН, Кашталап ВВ. Роль субклинического воспаления в прогрессировании атеросклероза в течение года после инфаркта миокарда. Кардиология. 2014; 54 (8): 19–25.

9. Батышева ТТ, Пивоварчик ЕМ, Зайцев КА. Первый опыт применения наружной контрпульсации для восстановительного лечения больных, перенесших ишемический инсульт. Журнал неврологии и психиатрии.2009;(6):38-40.

10. Беленков ЮН, Привалова ЕВ, Чекнева И.С. Клеточная терапия в лечении хронической сердечной недостаточности: виды применяемых стволовых клеток, результаты последних клинических исследований. *Kardiolo serdecno-sosud. Hir.*2008;(5):4-18.

11. Беленков ЮН. Применение метода усиленной наружной контрпульсации в медицинской практике. Усиленная наружная контрпульсация. – М., 2003(1): 4–6.

12. Березин АЕ, Кремзер АА. Постнатальные эндотелиальные прогениторные клетки как биологические маркеры неоангиогенеза и реэндотелизации. *Серце і судини.*2013;(2):92-96.

13. Бокерия ЛА, Алекян БГ. Рентгеноэндоваскулярная диагностика и лечение заболеваний сердца и сосудов в Российской Федерации. М.: НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН; 2009:118 с.

14. Бокерия ЛА, Беришвили ИИ, von Specht Brend Эффективно ли сочетание ТМЛР с ангиогенным фактором (α -ЕСGF) в лечении больных ИБС с поражением дистального русла? IV Всероссийский съезд трансплантологов им. акад. В.И. Шумакова. М.; 2008:49.

15. Бокерия ЛА, Беришвили ИИ, Вахромеева МН. Результаты трансмиокардиальной лазерной реваскуляризации (ТМЛР) в сочетании с трансплантацией аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга у повторных больных. IV Всероссийский съезд трансплантологов им. акад. В.И. Шумакова. М.; 2008: 39-40.

16. Бокерия ЛА, Беришвили ИИ, Сигаев ИЮ. Результаты ТМЛР в сочетании с человеческим рекомбинантным эндотелиальным клеточным фактором роста (α ЕСGF) в лечении больных с конечной стадией поражения коронарных артерий. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН,

Сердечно-сосудистые заболевания, мат. XIII Всерос. Съезда сердечно-сосудистых хирургов. Москва, 25-28 ноября; 2007:296.

17. Бокерия ЛА, Беришвили ИИ, Сигаев ИЮ. Трансмиокардиальная лазерная реваскуляризация миокарда (12 летний клинический опыт). Анналы хирургии.2009; (6):72-79.

18. Бокерия ЛА, Голухова ЕЗ, Какучая ТГ. Оценка паракринных эффектов аутологичных костно-мозговых клеток-предшественников эндотелиоцитов у пациентов с застойной сердечной недостаточностью в плацебо-контролируемом исследовании. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, Сердечно-сосудистые заболевания, мат. XV Всерос. Съезда сердечно-сосудистых хирургов, Москва, 6-9 декабря; 2009:312.

19. Бокерия ЛА, Голухова ЕЗ, Чигогидзе НА. Результаты клинических исследований с использованием клеточных технологий в лечении пациентов с застойной сердечной недостаточностью. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, Сердечно-сосудистые заболевания, мат. XIII Всерос. Съезда сердечно-сосудистых хирургов, Москва, 25-28 ноября; 2007:296.

20. Бокерия ЛА, Еремеева МВ, Серов РА, Чудиновских ЮА. Резидентные стволовые клетки миокарда: роль в клеточном гомеостазе миокарда и потенциально возможные направления их применения в лечении сердечной недостаточности. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, Сердечно-сосудистые заболевания, мат. XIII Всерос. Съезда сердечно-сосудистых хирургов, Москва, 25-28 ноября; 2007:297.

21. Борукаев ИЗ, Уметов МА. Влияние клеточной терапии на гемодинамические показатели при лечении инфаркта миокарда. Медицина и образование Сибири.2012;(2)
http://www.ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=704

22. Бузиашвили ЮИ. Отдаленный прогноз больных ИБС в сочетании с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) после прямой реваскуляризации миокарда ЛЖ. Сердеч.-сосуд. заболевания. Бюл. НЦ ССХ

им. А. Н. Бакулева РАМН. 12 ежегодная сессия Науч. центра сердеч.-сосуд. хирургии им. А. Н. Бакулева Всерос. конф. молодых ученых. 2008; 9 (3): 165.

23. Булгак АГ, Островский ЮП, Рачок ЛВ, Дубовик ТА, Бельская МИ. Современный взгляд на проблему хронической сердечной недостаточности. «Кардиология в Беларуси». 2009; (3):114–23.

24. Буховец ИЛ, Ворожцова ИН, Лавров АГ. Клеточная кардиомиопластика в хирургическом лечении больных ишемической болезнью сердца и постинфарктным кардиосклерозом: результаты 3-летнего наблюдения. Сибирский медицинский журнал. 2011;(26):51-58.

25. Волковская ИВ. Возможности клеточных технологий при лечении сердечной недостаточности Дис. На соиск. к.мед.н., 14.00.06-кардиология, Москва, 2006, 147с.

26. Воронков ЛГ, Березін ОЄ, Жарінова ВЮ, Жебель ВМ, Коваль О., Рудик ЮС, Пархоменко ОМ, Целуйко ВЙ. Біологічні маркери та їх застосування при серцевій недостатності Консенсус Всеукраїнської асоціації кардіологів України, Всеукраїнської асоціації фахівців із серцевої недостатності та Української асоціації фахівців з невідкладної кардіології. Український кардіологічний журнал. 2019; 26(2):19–30.

27. Воронков ЛГ, Ільніцька МР, Бабич ПМ. Прогноз пацієнтів із хронічною серцевою недостатністю та систолічною дисфункцією лівого шлуночка залежно від даних неінвазивних методів обстеження. Український терапевтичний журнал. 2015;1:24–31.

28. Вострикова ОФ, Потапов ИВ, Кириллов ИА. Сравнительный анализ экспрессии каспаз в пренекротической зоне миокарда после трансплантации мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга с различным типом предифференцировки. IV Всероссийский съезд трансплантологов им. акад. В.И. Шумакова. тезисы докладов. М.; 2008: 238-239.

29. Габріелян АВ. Комплексна корекція насосної функції серця у хворих з хронічною серцевою недостатністю, які знаходяться в листі очікування трансплантації серця. Дис.д.мед.н.,Київ,2020. С.455.

30. Габріелян А.,Якушев АВ, Доманський ТМ, Оніщенко ВФ, Соколов МФ. Застосування стовбурових клітин пуповинної крові в комплексі лікування хронічної серцевої недостатності. Перший досвід. Збірник наукових робіт XXIII з'їзду хірургів України. Клінічна хірургія. 2015: С.279.

31. Габріелян АВ, Салютін РВ, Якушев АВ, Оніщенко ВФ, Шаблій ВМ, Доманський ТМ, Кудлай ІВ, Романова СВ, Миронюк ОІ. Сучасні підходи та методики трансплантації стовбурових клітин хворим з термінальною стадією серцевої недостатності. Кардіохірургія та інтервенційна кардіологія. 2014; 1(6): 8–12.

32. Габріелян АВ, Смержевский ВЙ, Оніщенко ВФ, Лукач ПМ, Белейович ВВ, Доманський ТМ. Коронарне шунтування у хворих ІХС з хронічною серцевою недостатністю. Щорічник наукових праць Асоціації серцево – судинних хірургів України. Серцево – судинна хірургія. 2009; 17: 103–107.

33. Габріелян АВ, Шаблій В, Кучма М, Кирик В, Оніщенко Г, Цупиков О, Клименко П,Кучук О,Доманський Т,Оніщенко В, Лукаш Л, Лобинцева Г. Мезенхимальні стромальні клітини з нативної і кріоконсервованої плаценти людини: фенотип, мультипотентність і міграційний потенціал *in vivo*. Проблемы криобиологии 2012; 22 (2): 157–160.

34. Габріелян АВ, Якушев АВ, Доманський ТМ, Кудлай ІВ, Романова СВ, Оніщенко ВФ. Вплив трансплантації стовбурових клітин пуповинної крові на якість життя пацієнтів зі зниженою скоротливою здатністю міокарда. Перший досвід. Збірник тез науково-практичної конференції з міжнародною участю «Трансплантація - сьогодні, минуле та майбутнє» Київ, 2014: 4.

35. Габрієлян АВ,Сморжевський ВЙ, Якушев АВ, Салютін РВ, Шаблій ВМ, Доманський ТМ, Оніщенко ВФ, Кудлай ІВ. Специфічні імунологічні ускладнення, при трансплантації стовбурових клітин. Клінічна та експериментальна патологія. 2013; 4(46): 144–147.

36. Габрієлян АВ. Вплив трансплантації стовбурових клітин пуповинної крові у хворих з дилатаційною кардіоміопатією на розвиток аритмій в віддаленому періоді. Міжнародний медичний журнал. 2019; 1: 27–30.

37. Габрієлян АВ. Сучасні методи хірургічного лікування рефрактерної серцевої недостатності при ішемічній хворобі серця. Клінічна хірургія. 2014; 1,2: 52–55.

38. Габрієлян АВ. Трансплантація стовбурових клітин пуповинної крові у хворих з дилатаційною кардіоміопатією як альтернатива хірургічному втручанню. VII міжнародний медичний конгрес "Впровадження сучасних досягнень медичної науки у практику охорони здоров'я України" Тези доповідей. Україна. Київ. 2018: 48. <http://medforum.in.ua/wp-content/uploads/tezisy-mijnarodnyi-medychnyi-forum-IMF-2018.pdf>

39. Габрусенко СА, Малахов ВВ, Сергиенко ІВ. Первый опыт применения в России лечебного метода наружной контрпульсации у больных ишемической болезнью сердца. Тер. архив. 2006: № 9: 33-38.

40. Головкин АС, Великанова ЕА, Матвеев ВГ. Оценка механизмов терапии инфаркта миокарда стволовыми мезенхимальными клетками в эксперименте. Стволовые клетки и регенеративная медицина.2011:318.

41. Голухова ЕЗ, Какучая ТТ. Клеточная терапия в кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии: обзор рандомизированных исследований. Реалии и перспективы. Креативная кардиология.2007;(1-2):55-74.

42. Горбась ІМ. Ішемічна хвороба серця: епідеміологія і статистика. Здоров'я України. 2009. 3(1).

43. Готьє СВ. Очерки клинической трансплантологии. М., Триада.-2009.-360с.

44. Гринь ВК, Штутин АА, Михайличенко ВЮ, Попандопуло АГ, Эстрин СИ, Денисова ЕМ, Оксимец ВМ, Кравченко ТВ, Климовицкий ВГ. Применение аутологичных мезенхимальных стволовых клеток в кардиологии и травматологии. Журнал НАМН Украины. 2011; 17(1): 67-75.

45. Гринь ВК, Ватулин НТ, Калинкина НВ. Использование трансплантации клеток костного мозга в лечении ишемического повреждения сердца. Журнал АМН України. 2004; 10 (1): 65-75.

46. Гринь ВК, Михайличенко ВЮ, Эстрин СИ, Кравченко ТВ. Первый клинический опыт эндокардиального введения мезенхимальных стволовых клеток при рефрактерной стенокардии. Наука і практика. 2014; 2-3(3-4):144-149.

47. Гринь ВК, Михайличенко ВЮ. Патологические аспекты клеточной кардиомиопластики при экспериментальном инфаркте миокарда. Таврический медико-биологический вестник. 2012; том 15, № 3, ч.1 (59): 81–84.

48. Гринь ВК, Михайличенко ВЮ, Коноплянко ВА. Сократительная функция сердца после различных вариантов введения клеточного трансплантата при инфаркте миокарда в эксперименте. Университетская клиника. 2010;(6, 1-2): 20-23.

49. Гринь ВК, Попандопуло АГ, Эстрин СИ. Влияние клеточной трансплантации на течение хронической сердечной недостаточности у больных с ишемической болезнью сердца. Медицина сьогодні і завтра. 2011; 1-2:52-57.

50. Гринь ВК, Эстрин СИ, Денисова ОМ. Клітинні технології в лікуванні ішемічної хвороби серця. Щорічник наукових праць Асоціації серцево-судинних хірургів України 2012; 20:115-119.

51. Гринь ВК, Эстрин СИ, Денисова ЕМ. Аутологичные мезенхимальные стволовые клетки в лечении хронической сердечной

недостаточности у пациентов с ишемической кардиомиопатией. Щорічник наукових праць Асоціації серцево-судинних хірургів України 2013;21:79-82.

52. Гринь ВК, Эстрин СИ, Кравченко ТВ. Биотехнологии в лечении ишемической болезни сердца. Щорічник наукових праць Асоціації серцево-судинних хірургів України.2011; 19:79-82.

53. Гринь ВК, Эстрин СИ, Кравченко ТВ. 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 2009; 17:118-121.

54. Гринь ВК, Эстрин СИ, Кравченко ТВ. Применение аутологичных стромальных стволовых клеток для лечения рефрактерной стенокардии. Щорічник наукових праць Асоціації серцево-судинних хірургів України. 2010; 18:137-140.

55. Гринь ВК, Эстрин СИ, Кравченко ТВ. Диагностика гибернированного миокарда левого желудочка у больных с рефрактерной формой стенокардии. Щорічник наукових праць Асоціації серцево-судинних хірургів України. 2011; 12(2):155-160.

56. Гулевский АК, Щенявский ИИ, Абакумова ЕС. Клеточная трансплантация в кардиомиопластике при ишемическом повреждении сердца. Биотехнология. 2011;(5):60-73.

57. Гуреев СВ, Темнов АА, Онищенко НА. Мононуклеарные клетки костного мозга, активированные последовательно *in vivo* и *ex vivo*, улучшают функцию миокарда при хронической ишемической сердечной недостаточности IV Всероссийский съезд трансплантологов им. акад. В.И. Шумакова. М., 2008: 243-244.

58. Гуреев СВ. Клиническая оценка отдаленных результатов трансплантации аутологичных стволовых клеток костного мозга у кардиорхирургических больных с сердечной недостаточностью. IV

Всероссийский съезд трансплантологов им. акад. В.И. Шумакова. М. 2008: 242-243.

59. Гутор СС, Казаков ВА, Суходоло ИВ. Натрийуретический пептид и его предшественники как предикторы прогрессивного послеоперационного ремоделирования левого желудочка у больных ишемической кардиомиопатией. Бюл. Сибирск. Медицины. 2013;№6(12):25–30.

60. Джолбасбекова А.У., Купенов БГ, Федотовских ГВ, Попова НВ. Первый клинический опыт трансплантации мезенхимальных стволовых клеток при остром инфаркте миокарда. Материалы международной заочной научно-практической конференции «Современная медицина: теоретические и практические аспекты». -Россия, г. Новосибирск, 2 октября 2012:45-49.

61. Джолбасбекова А.У., Федотовских ГВ, Аскарлов МБ. Системное введение аутологичных мононуклеарных прекультивированных клеток костного мозга при сердечной недостаточности. Clinical Medicine of Kazakhstan. 2015; 3 (37): 14–18.

62. Дземешкевич С.Л. Дисфункция миокарда и сердечная хирургия: классификация, диагностика, хирургическое лечение. Дземешкевич С.Л., Стивенсон Л.У. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 320с.

63. Диагностика и лечение стабильной стенокардии. Российские рекомендации (второй пересмотр). ВНОК. Кардиоваскулярная терапия и профилактика 2008; 7(6): приложение 4, 3-40.

64. Дьячков АВ, Фатхудинов ТХ, Коротеев АВ, Гольдштейн ДВ. Трансплантация аллогенных мультипотентных стромальных клеток при хроническом лечении хронической сердечной недостаточности. IV Всероссийский съезд трансплантологов им. акад. В.И. Шумакова. М., 2008: 245-246.

65. Ермакова Л.П. Состояние иммунной системы у кардиохирургических больных при искусственном кровообращении и внутриаортальной контрпульсации: автореф. Дисс. К.мед.н., М., 2001.-26с.

66. Закирьянов А.Р., Гуреев С.В., Онищенко Н.А. и др. Первый клинический опыт трансплантации аутологичных клеток костного мозга у больных с ишемической болезнью сердца в сочетании с сахарным диабетом // IV Всероссийский съезд трансплантологов им. акад. В.И. Шумакова. - тезисы докладов. - М., 2008. - С. 247-248.

67. 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):28-37.

68. Естрін С.І., Кравченко Т.В., Ковальчук А.О., Акобїров ЄС. Вплив мезенхімальних стовбурових клітин на ефективність ангиогенезу, стан судинного тону, інтенсивність перекисного окислення ліпідів і метаболічну активність кардіоміоцитів при експериментальному інфаркті міокарда. Міжнародний медичний журнал. 2021;1(105):35-42.

69. 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.

70. Естрін С.І., Кравченко Т.В., Печененко А.Р. Аутологічна клітинна терапія та її роль при лікуванні рефрактерної стенокардії.ж Клінічна та експериментальна патологія.2020;4(74):23-28.

71. 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):27-34.

72. Естрін С.І., Кравченко Т.В., Печененко А.Р. Віддалені результати клітинної кардіоміопластики у хворих із рефрактерною стенокардією. Медицина сьогодні і завтра.2020;3(20):47-58.

73. 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):27-31.

74. Естрін С.І., Кравченко ТВ, Печененко АР. Порівняльний аналіз функціональних результатів різних способів введення аутологічних стромальних клітин в лікуванні хворих на рефрактерну стенокардію. Експериментальна і клінічна медицина;3(88):30-43

75. Какучая Т.Т. Результаты применения клеточных технологий в лечении пациентов с хронической сердечной недостаточностью: автореф. дис. на поиск. степени д. мед. н.: 14.00.06 – кардиология Москва; 2009: 48с.

76. Кардаш О.Ф, Лобанок Е.С, Крутов В.Г. Сравнительная скинтиграфическая оценка влияния трансплантации аллогенных мезенхимальных стволовых клеток на восстановление функции сердца при экспериментальном инфаркте миокарда. Журнал НАМН Украины. 2012;(18):61-62.

77. Кардаш ОФ, Лобанок ЕС, Крутов ВГ. Иммуногистохимическая оценка дифференцировки аллогенных мезенхимальных стволовых клеток после различных способов их трансплантации на экспериментальной модели инфаркта миокарда. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, Сердечно-сосудистые заболевания, мат. XVIII Всерос. Съезда сердечно-сосудистых хирургов, Москва, 25-28 ноября; 2012:268.

78. Карпов РС, Рябов ВВ, Сулова ТЕ. Результаты шестимесячного наблюдения после трансплантации аутологичных мононуклеарных клеток костного мозга больным с острым первичным трансмуральным инфарктом миокарда. Креативная кардиология.2007;(1-2):200-208.

79. Киркутис АА. Рефрактерная стенокардия: современные способы лечения. Кардиология.2012; (1): 23-29.

80. Кливер Е.Н. Клинико-функциональный анализ эффективности эндомиокардиальной клеточной кардиомиопластики у больных с ишемической дисфункцией миокарда. Дис. д.мед.наук. Новосибирск. 2016. С.219.

81. Кливер ЕН, Чернявский АМ, Покушалов ЕА, Романов АБ, Терехов ИН. Трехлетние результаты эндокардиальной имплантации аутологичных клеток костного мозга пациентам с ишемической болезнью сердца с нормальной фракцией выброса лівого желудочка. Патология кровообращения и кардиохирургия. 2015;19(1):59-65

82. Кливер ЕН, Чернявский АМ, Покушалов ЕА. Трансендокардиальная клеточная кардиомиопластика у пациентов с ишемической болезнью сердца. Вестник Новосибирского государственного университета. 2011;(9,3)3:77-83.

83. Кливер ЕН, Чернявский АМ, Покушалов ЕА, Романов АБ, Терехов ИН. Трехлетние результаты эндокардиальной имплантации аутологичных клеток костного мозга пациентам с ишемической болезнью сердца с нормальной фракцией выброса лівого желудочка. Патология кровообращения и кардиохирургия. 2015;(19,1):59-65

84. Кливер ЕН. Клинико-функциональный анализ эффективности эндомиокардиальной клеточной кардиомиопластики у больных с ишемической дисфункцией миокарда. Дис. д.мед.наук. Новосибирск. 2016. С.219.

85. Коваленко ВМ. Серцево-судинні захворювання. Класифікація, стандарти діагностики та лікування. Київ: МОРІОН; 2016. 192 .

86. Козлов ВА, Смоляников АБ. Мобилизация цитокинами аутологичных стволовых клеток в терапии инфаркта миокарда. <http://esus.ru/php/content.php?id=442>

87. Комарцев ИА, Бриндак ДВ. Степень фрагментации ДНК при введении мезенхимальных стволовых клеток в условиях экспериментальной острой почечной недостаточности. Український журнал екстремальної медицини імені Г.О. Можаяєва. 2008;(3):98-100.

88. Кононенко ВИ, Повещенко ОВ, Ким ИИ. Влияние G-CSF на проангиогенные свойства мобилизованных клеток периферической крови у больных с хронической сердечной недостаточностью. Клеточная

трансплантология и тканевая инженерия.2012;(3):71-75.

89. Конопляников А.Г., Каплан М.А., Поповкина О.Е. и др. Экспериментальные и клинические исследования по системной трансплантации культуры кардиомиобластов, полученных из аутологичных мезенхимальных стволовых клеток, при терапии поврежденной сердечной мышцы. IV Всероссийский съезд трансплантологов им. акад. В.И. Шумакова. тезисы докладов. М., 2008. С. 254-255.

90. Кругляков ПВ, Лохматова ЕА, Климович ВБ, Зарицкий АЮ. Мезенхимальные стволовые клетки и иммунопатологические состояния организма. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.2006;(3): 36-41.

91. Кругляков ПВ, Соколова И Б, Аминова ХК, Некрасова НН, Вийде СВ, Чередниченко НН, Зарицкий АЮ, Семернин ЕН, Кислякова ТВ, Полынцев ДГ. Влияние сроков трансплантации мезенхимных стволовых клеток на репарацию сердечной мышцы крыс после инфаркта. Цитология. 2005;(5): 404 - 416.

92. Кругляков ПВ, Соколова ИБ, Полынцева ДГ. Клеточная терапия инфаркта миокарда. Цитология. 2008;(50): 521-528.

93. Лукаш ЛЛ. Клеточная терапия сердечной патологии. Биотехнологии.-2008; (1):40-45.

94. Лупанов ВП, Аронов ДМ. Лечение хронической рефрактерной стенокардии (обзор).Медицинский совет. 2010;(11-12):14-22.

95. Лупанов ВП. Диагностика и лечение рефрактерной стенокардии. Российский медицинский журнал.2013;(7) http://www.rmj.ru/articles_473.htm

96. Любченко ИС, Андреев ДА, Долецкий АА. Рефрактерная стенокардия: особенности диагностики и подходы к медикаментозной и немедикаментозной терапии.Креативная кардиология.2011;(2):46-58.

97. Майборodin ИВ, Морозов ВВ, Новикова ЯВ. Стимуляция ангиогенеза в тканях крыс после введения мезенхимальных стволовых клеток

рядом с тромбированной веной. Патология кровообращения и кардиохирургия.2012;(2):81-86.

98. Матюков А.А. Влияние интрамиокардиальной аутотрансплантации клеток костного мозга на перфузию ишемизированного миокарда в эксперименте // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.-2006.-№3.-С.42-47.

99. Мжаванадзе НД, Бозо ИЯ, Калинин РЕ, Деев РВ. Реалии и перспективы применения генной терапии в сердечно-сосудистой хирургии. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.2012;(7):58-62.

100. Михайличенко ВЮ, Эстрин СИ. Патологические аспекты клеточной кардиомиопластики при инфаркте миокарда в эксперименте. Вестник КазНМУ.2013;5(1):175-178.

101. Михайличенко ВЮ. Явление хоуминга мезенхимальных стволовых клеток после трансплантации при инфаркте миокарда в эксперименте. Патология. 2008;(5): 93.

102. Национальные клинические рекомендации Всероссийского научного общества кардиологов. Москва; 2008: 512.

103. Немков АС, Седов В., Афанасьев БВ. Восемилетний опыт применения аутологичных клеток костного мозга у кардиологических больных. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, Сердечно-сосудистые заболевания, мат. XVII Всерос. Съезда сердечно-сосудистых хирургов, Москва, 27-30 ноября;2011:260.

104. Нестерук ЮА, Немков АС, Белый СА. Оценка качества жизни больных с ишемической болезнью сердца после интракоронарного введения аутологичных моноклеаров костного мозга. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, Сердечно-сосудистые заболевания, мат. XVIII Всерос. Съезда сердечно-сосудистых хирургов, Москва, 25-28 ноября; 2012:268.

105. Нестерук ЮА, Немков АС, Белый СА. Оценка качества жизни больных ишемической болезнью сердца после интракоронарного введения аутологичных моноклеаров костного мозга. Бюллетень НЦССХ им. А.Н.

Бакулева РАМН, Сердечно-сосудистые заболевания, мат. XVII Всерос. Съезда сердечно-сосудистых хирургов, Москва, 27-30 ноября; 2011:260.

106. Никольская АО, Никольская ОА, Савостьянова ТС. Интраоперационное применение аутологичных клеток костного мозга снижает частоту и тяжесть инфекционных осложнений у больных при аортальном шунтировании в послеоперационном периоде. IV Всероссийский съезд трансплантологов им. акад. В.И. Шумакова. - тезисы докладов. М.; 2008:261.

107. Никоненко АС, Молодан АВ, Завгородний СН. Ударно-волновая терапия в лечении ишемической болезни сердца. Сучасні медичні технології. 2009; (1):31-35.

108. Никоненко АС, Молодан А В, Иващук ВА. Оценка деформационных свойств миокарда у больных ишемической болезнью сердца с выраженной дилатацией полости левого желудочка, осложненной сердечной недостаточностью. Вісник серцево-судинної хірургії. 2015: 135–139.

109. Никоненко АС, Молодан АВ, Иващук ВА, Осауленко ВВ. Ремоделирование левого желудочка у больных ИБС с хронической сердечной недостаточностью. Вісник серцево-судинної хірургії. 2016;2: 22–24.

110. Пальцева МА. Биология стволовых клеток и клеточные технологии. Москва, «Медицина», 2009;(2):75-100.

111. Панаева ШХ, Колтунов ИЕ. Изучение клинической эффективности и безопасности ударно-волновой терапии у больных стабильной стенокардией. Кардиоваскулярная терапия и профилактика 2010; (1): 37-43.

112. Плечев ВВ, Мустафин ТИ, Олейник БА. Стимуляция неоангиогенеза при экспериментальном инфаркте миокарда у кроликов. Клиническая и экспериментальная хирургия.2013;(1):11-17.

113. Полякова Д.С. «Этот хрупкий мир»: Украина – на 1-м месте по смертности от ишемической болезни сердца. Укр. мед. час. 2019-02-27 изд. «Морион».online.

114. Поляченко ЮВ, Габріелян А., Доманський ТМ, Смержевський ВЙ, Оніщенко ВФ, Мазур АП, Романова СВ, Кудлай ІВ, Якушев АВ. Перший досвід трансплантації стовбурових клітин при термінальній стадії хронічної серцевої недостатності. Клінічна хірургія. 2014; 1,2 (854): 70–72.

115. Поповина ЮС. Влияние трансплантации аутологичных мононуклеарных клеток костного мозга на клиническое течение острого первичного трансмурального инфаркта миокарда. к.мед.н., Томск 2007, 14.00.06 – кардиология: 181.

116. Потапов ИВ. Имеет ли смысл кардиомиопластика нефракционированными клетками костного мозга в постинфарктном периоде? Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2005; (2): 31-32.

117. Рахмат-Заде ТМ, Скридлевская ЕА, Конопляникова АГ. Аутологичные культивированные костномозговые стволовые клетки в хирургическом лечении хронической сердечной недостаточности. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, Сердечно-сосудистые заболевания, мат. XIII Всерос. Съезда сердечно-сосудистых хирургов. Москва, 25-28 ноября; 2007:297.

118. Рекомендації Асоціації кардіологів України з діагностики, лікування та профілактики хронічної серцевої недостатності у дорослих. Режим доступу http://www.rql.kiev.ua/cardio_j/2009/6/recommendations.html

119. Румянцев ПП. Кардиомиоциты в процессах репродукции, дифференцировки и регенерации. Л. Наука, 1982

120. Седов ВМ, Немков АС, Афанасьев БВ. Отдаленные результаты применения интракоронарной инфузии аутологичных мононуклеаров костного мозга у больных ИБС. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева

РАМН, Сердечно-сосудистые заболевания, мат. XIII Всерос. Съезда сердечно-сосудистых хирургов, Москва, 25-28 ноября; 2007:297.

121. Сергеевичев ДС, Новрузов РБ, Русакова ЯЛ. Фракционирование клеток костного мозга для лечения хронического ишемического поражения миокарда в эксперименте. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, Сердечно-сосудистые заболевания, мат. XVII Всерос. Съезда сердечно-сосудистых хирургов, Москва, 27-30 ноября; 2011:261.

122. Ситникова МЮ. Хронічна серцева недостатність: епідеміологія і перспективи планування. Серцева недостатність. 2012; 6 (74): 372–76.

123. Темнов АА, Гуреев СВ, Онищенко Н.А. Контролируемая иммунокоррекция больного и последующее активирование моноклеарных клеток костного мозга улучшают функцию миокарда при хронической сердечной недостаточности. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2007;(1):65-71.

124. Темнов АА, Онищенко Н., Гуреев СВ. Транспозиция культивируемых клеток аутологичного костного мозга способствует профилактике и лечению иммунозависимых осложнений у кардиохирургических больных. Пат. физиол. и exper. тер. 2007;(2.):7-9.

125. Темнов АА, Онищенко НА. Контроль продукции активных форм кислорода лейкоцитами позволяет прогнозировать устойчивость организма к стрессорному повреждению. Пат. Физиол. и exper. Терапия. 2007;(3): 26-32.

126. Темнов АА, Шумаков В., Гуреев СВ. Двухэтапное повышение иммунорегуляторных резервов клеток аутологичного костного мозга и их интрамиокардиальное применение улучшает ремоделирование и функцию миокарда при хирургическом лечении хронической сердечной недостаточности. Вестник РАМН. 2008;(1): 3-9.

127. Темнов АА. Клеточная трансплантация при лечении хронической сердечной недостаточности. 14.00.41-трансплантология и искусственные органы; 14.00.16 – патологическая физиология, Москв , 2008, д.мед.н., 240.

128. Терещенко СН, Жиров ИВ. Рефрактерная стенокардия: что мы можем предложить пациенту? Кардиоваскулярная терапия и профилактика 2007; 6(4): 103-106.

129. Турчин ВД, Ювчик ЕВ. Ударно-волновая терапия: первый опыт лечения больных ишемической болезнью сердца. Доктор.Ру. 2009; (7):<http://www.smag.ru/bro/doktorru7cswt.pdf> <http://bolezni-serdca.ru/aortokoronarnoe-shuntirovanie/stimulyaciya-spinnogo-mozga/>

130. Усенко ОЮ, Якушев АВ, Смержевський ВЙ, Габрієлян АВ, Доманський ТМ, Оніщенко ВФ, Романова СВ. Побічні явища та місцеві ускладнення при трансплантації стовбурових клітин у пацієнтів зі зниженою функцією скорочення міокарду. Науковий вісник Ужгородського університету. Серія :медицина: зб. наук. пр. Ужгород нац. ун-ту. Ужгород. 2015;1 (51): 254–258.

131. Філатова ОЛ, Ляшенко АВ, Паращенко ЛП, Ткач НА, Воронков ЛГ. Порівняльна клінічна характеристика пацієнтів з хронічною серцевою недостатністю та зниженою фракцією викиду лівого шлуночка залежно від статі. Семейная медицина. 2017;4 (72):113–116.

132. Хадгезова АБ, Школьник Е., Копелев МВ. Возможности ударно-волновой терапии в лечении стабильной стенокардии. Сердце 2008; 7(4): 220-224.

133. Хадгезова АБ, Школьник ЕА, Копелева МВ. Ударно-волновая терапия – новое направление в лечении ишемической болезни сердца. Кардиология. 2007; (11):90-94.

134. Харламов АН, Габинский ЯЛ, Бос ЭК. Сравнительный анализ трансплантации стволовых клеток из периферической крови и жировой ткани у больных в остром периоде инфаркта миокарда // Тезисы докладов Британско-российского совещания в сотрудничестве с Европейской Комиссией «Стволовые клетки: законодательство, исследования и инновации. Международные перспективы сотрудничества» 15 марта 2007, Москва:25-27.

135. Хряпенкова ТГ. Межклеточное взаимодействие мезенхимальных мультипотентных стромальных клеток и дифференцированных клеток сердца и почки. автореф. К.б.н., 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология. Москва; 2010: 21.

136. Хубулаева ГГ, Кривенцов АВ, Александров ВН. Количество клеточного материала доставленного в миокард – ключевой элемент в клеточной кардиопластике. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, Сердечно-сосудистые заболевания, мат. XVII Всерос. Съезда сердечно-сосудистых хирургов, Москва, 27-30 ноября;2011:260.

137. Чернявский АМ, Покушалов ЕА, Кливар ЕН. Первые результаты эндокардиальной имплантации аутологичных стволовых клеток у больных с ишемической болезнью сердца. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, Сердечно-сосудистые заболевания, мат. XIII Всерос. Съезда сердечно-сосудистых хирургов, Москва, 25-28 ноября;2007:298.

138. Чернявский АМ, Покушалов ЕА, Кливер ЕН. Эндомиокардиальная имплантация моноклеарной фракции аутологичных стволовых клеток у больных с ишемической болезнью сердца. IV Всероссийский съезд трансплантологов им. акад. В.И. Шумакова. М.; 2008: 281.

139. Чернявский АМ, Фомичев АВ, Чернявский МА. Сравнительная характеристика эффективности методов непрямой реваскуляризации миокарда в хирургии ишемической болезни сердца. Патология кровообращения и кардиохирургия. 2013;(1):15-20.

140. Чудиновский ЮА, Еремеева МВ, Серов РА. Анализ возможности пролиферации клеток в зрелом миокарде. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, Сердечно-сосудистые заболевания, мат. XV Всерос. Съезда сердечно-сосудистых хирургов, Москва, 6-9 декабря, 2009:312.

141. Шахов ВП, Попов СВ, Кострикин АА. Факты и иллюзии экспериментальной клеточной технологии при лечении сердечно-сосудистых

заболеваний. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, Сердечно-сосудистые заболевания, мат. XIII Всерос. Съезда сердечно-сосудистых хирургов, Москва, 25-28 ноября.2007;298.

142. Шахов ВП, Попов СВ. Стволовые клетки и кардиомиогенез в норме и патологии. Томск, 2004:170

143. Шевченко ОП, Орлова ОВ, Казаков ЭН. Маркеры FAS-опосредованного апоптоза при трансплантации аутологичных клеток костного мозга больным с сердечной недостаточностью. Молекулярная медицина. 2008;(1):35-40.

144. Шевченко ЮЛ, Борщев ГГ, Федотов ПА. Робот-ассистированная реваскуляризация миокарда у пациента с ИБС. Вестник национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова.2011;(2):138-140.

145. Шевченко ЮЛ. Медико-биологические и физиологические основы клеточных технологий в сердечно-сосудистой хирургии. Санкт-Петербург, «Наука»;2006 :287.

146. Шипулин ВМ, Казаков ВА, Лежнев АА. Морфологические предикторы и молекулярные маркеры прогрессивного послеоперационного ремоделирования левого желудочка у больных ишемической кардиомиопатией. Болезни сердца и сосудов. 2010; 4: 23–8.

147. Шляхто ЕВ, Лебедев ДС, Крыжановский ДВ. Первый опыт исследования «Интрамиокардиальное множественное прецизионное введение моноклеарны клеток костного мозга в лечении ишемии миокарда». Кардиология.2013; (4):4-8.

148. Шумаков В.И., Хубутя М.Ш., Ильинский И.М. Дилатационная кардиомиопатия .М.:»Триада»; 2003:447

149. Шумаков ВИ. Биологические резервы костного мозга и коррекция органных дисфункци. М., 2009: 308

150. Эстрин СИ, Михайличенко ВЮ. Роль мекенхимальных стволовых клеток в лечении экспериментального инфаркта миокарда. Таврический медико-биологический вестник.2013; 4:151-154.

151. Эстрин СИ, Михайличенко ВЮ. Сравнительная эффективность внутривенного и интракоронарного введения мезенхимальных стволовых клеток при рефрактерной стенокардии Тези доповід. Міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні питання внутрішньої медицини», присвяченої 100-річчю від дня народження професора А.П. Пелешука, 26-27 вересня 2013 року, м.Київ, С.58

152. Эстрин СИ, Попандопуло АГ, Кравченко ТВ. Лечение рефрактерной стенокардии с использованием аутологичных стромальных стволовых клеток. Журнал АМН Украины.2010; 16:43-44.

153. Эстрин СИ. Биохимические аспекты эффективности применения мезенхимальных стволовых клеток при лечении инфаркта миокарда в эксперименте. Вестник неотложной и восстановительной медицины.2013;2:189-192.

154. Эстрин СИ. Первый опыт интракоронарного введения мезенхимальных стволовых клеток при рефрактерной стенокардии. Таврический медико-биологический вестник.2013;16 (3):171-174.

155. Юревичуте ГИ. Мышечная контрпульсация у больных хронической сердечной недостаточностью со сниженной фракцией выброса левого желудочка: Дисс. канд. мед. наук. М.; 2008.

156. 2011 ACCF/AHA Focused Update of the Guidelines for the Management of Patients With Unstable Angina/Non–ST-Elevation Myocardial Infarction (Updating the 2007 Guideline) J Am Coll Cardiol. 2011;57(19):1920-1959.

157. Abbottsmith C., Chung E., Varricchione T. Enhanced external counterpulsation improves exercise duration and peak oxygen consumption in older patients with heart failure: a subgroup analysis of the PEECH trial. Congest Heart Fail 2006; 12: 6: 307—311.

158. Adhyapak S, Parachuri R. Tailoring therapy for ischemic cardiomyopathy: is Laplace's law enough? Ther Adv Cardiovasc Dis. 2017;11(9):231–234.

159. Alba A.C., Foroutan F., Duero Posada J., et al. Implantable cardiac defibrillator and mortality in non-ishaemic cardiomyopathy: an updated meta-analysis. *Heart*. 2018;104(3): 230-236.
160. Anastasiadis K, Antonitsis P, Argiriadou H et al. Hybrid approach of ventricular assist device and autologous bone marrow stem cells implanation in end-stage ischemic heart failure enhances myocardial reperfusion. *J Trans Med* 2011: 9–12.
161. Anavekar MB, Chareonthaitawee P., Narula J., Gersh B. Revascularization in Patients With Severe Left Ventricular Dysfunction. Is the Assessment of Viability Still Viable? *JACC*. 2016; 67(24): 2874–87
162. Ang K-L, Chin D, Leyva F et al. Randomized, controlled trial of intramuscular or intracoronary injection of autologous bone marrow cells into scarred myocardium during CABG versus CABG alone. *Cardiovasc Med* 2008; 5 (5): 663–70.
163. Angiogenesis using VEGF-A165/bFGF plasmid delivered percutaneously in no-option CAD patients; a controlled trial (VIF-CAD). [http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00620217?term=Angiogenesis+Using+VEGF-165%2FbFGF+Plasmid+Delivered+Percutaneousl y+in+No-option+CAD+Patients%3B+a+Controlled+Trial+%28 VIF-CAD%29&rank=1](http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00620217?term=Angiogenesis+Using+VEGF-165%2FbFGF+Plasmid+Delivered+Percutaneousl+y+in+No-option+CAD+Patients%3B+a+Controlled+Trial+%28+VIF-CAD%29&rank=1).
164. Anversa P., Kajstura J., Leri A., Bolli R. life and death of cardiac stem cells: a paradigm shift in cardiac biology. *Circulation*. 2006;(113):1451-1463.
165. Arshak R. Alexanian Mesenchymal stem cells in CNS regeneration. http://cdn.intechopen.com/pdfs/34640/InTech-Mesenchymal_stem_cells_in_cns_regeneration.pdf
166. Ashed AT, Quyyumi E, Waller KT. CD34+ cell infusion after ST elevation myocardial infarction and is dose dependent. *Amer.Heart. J.* 2011; (161):98-105.
167. Askari A.T., unzek S., popovic Z.B. et al. Effect of stromal-cell-derived factor 1 on stem cell homing and tissue regeneration in ischaemic cardiomyopathy // *Lancet*.-2003.-Vol.362.-P.697-703.

168. Assmus B, Honold J, Schachinger V. Transcoronary transplantation of progenitor cells after myocardial infarction. *NEJM*.2006;(355):1222-11232.
169. ACC/AHA 2002 Guidelines Update for the management of patients with chronic stable angina – summary article. A Report of the ACC/AHA Task Force on Practice Guidelines [Committee on management of patients with chronic stable angina] *Circulation* 2003; 107: 149-158.
170. Bayat H, Swaney J S, Ander AN, Dalton N, Kennedy B P, Hammond H K, Roth DM. Progressive heart failure after myocardial infarction in mice. *Basic Res. Cardiol.* 2002; (97): 206—213.
171. Beeres SL, Bax JJ, Dibbets P et al. Effect of intramyocardial injections of autologous bone marrow derived cells on perfusion, function, and viability in patients with drug-refractory chronic ischemia. *J Nucl Med* 2006; 47 (4): 574–80.
172. Behfar A, Yamada S, Crespo-Diaz R, Nesbitt JJ, Rowe LA, Perez-Terzic C, et al. Guided cardiopoiesis enhances therapeutic benefit of bone marrow human mesenchymal stem cells in chronic myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2010;56:721–34.
173. Belosjorow S., Schulz R., Dorge H., Schade F. U., Heusch G. 1999. Endotoxin and ischemic preconditioning: TNF-alpha concentration and myocardial infarct development in rabbits. *Amer. J. Physiol.* 277 : H2470—H2475.
174. Beltrami A.P., Urbanec K., Kajstura J. et al. Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction. *N. engl.J. med.* 2001;(344): 1750-1757.
175. Beltrami AP, Barcuchci L, Torella D. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell.* 2003;(114):763.
176. Bittner R. E., Schofer C., Weipoltshammer K. et al. Recruitment of bone marrow derived cells by skeletal and cardiac muscle in adult dystrophic mdx mice // *Anat. Embryol.(Berl.)*. — 1999. — V. 199. — P. 391–396.
177. Bivalacqua TJ, Deng W, Kendirci M. Mesenchymal stem cells alone or ex vivo gene-modified with endothelial nitric oxide synthase reverse age-

associated erectile dysfunction. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2007;(292): 1278-1290.

178. Blair A. The Use of Left Ventricular Assist Devices in End-Stage Heart Failure. *Crit Care Nurs Q.* 2018; 41(4): 376–82.

179. Boden WE, O'Rourke RA, Teo KK et al. COURAGE Trial Research Group. Optimal medical therapy with or without PCI for stable coronary disease. *N Engl J Med*, 2007; 356: 1503–1516

180. Boilson B.A., Kiernan Th.J., Harbuzariu A. et al. Circulation of CD34+ cell subsets in patients with coronary endothelial dysfunction. *Nat. clin.pract.cardiovasc.med.* 2008;(5):489-496.

181. Bonow R, Castelvechio S, Panza J, Berman ., Velazquez E. Severity of Remodeling, Myocardial Viability, and Survival in Ischemic LV Dysfunction After Surgical Revascularization. *JACC : CARDIOVASCULAR IMAGING.* 2018(10): 1121–1219.

182. Bowden R.A., Ding Z.M., Donnachie E.M. et al. Role of alpha 4 integrin and VCAM-1 in CD18-independent neutrophil migration across mouse cardiac endothelium // *Circ. Res.*-2002.-Vol.90.-P.5652-569.

183. Britten M.B., Abolmaali N.D., Assmus B., et al. Infarct remodeling after intracoronary progenitor cell treatment in patients with acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI).//*Circulation.*- 2003.-108.-№18.-P.212-218.

184. Brighton, C. T., Lorch, D. G., Kupcha, R., Reilly, T. M., Jones, A. R., & Woodbury, R. A., 2nd. (1992). The pericyte as a possible osteoblast progenitor cell. *Clin Orthop*(275), 287-299.

185. Brockes JP, Kumar A, Velloso CP. Regeneration as an evolutionary variable. *J.Anat.* 2001; (99):3-11.

186. Capobianco S, Chennamanenu V, Mitta M. Endothelial progenitor cells as factors un neovascularixation and endothelial repair. *Word J. Cardil.* 2010; (12):411-420.

187. Cardiovascular regeneration and stem cell therapy Ed. By A.Leri, P. Anversa, W.H. Fisherman.-Blackwell Publishing, 2007

188. Casey D, Conti C, Nichols W. Effect of enhanced external counterpulsation on inflammatory cytokines and adhesion molecules in patients with angina pectoris and angiographic coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2008; 101: 3: 300—302
189. Chen SC, Song GY, Sun Y, Liu M. The relationship between oxidative stress and endothelial progenitor cells count in the first-degree relatives of diabetes mellitus. *Zhonghua nei. Ke. Za. Zhi.* 2012;(3:7):197-200.
190. Chen Sh, Fang W, Ye F. Effect on left ventricular function of intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cells in patients with acute myocardial infarction. *Am. J. Cardiol.* 200;(4):92-95.
191. Cheng W, Li B, Kajstura J et al. Stretch induced programmed myocyte cell death. *J Clin Invest* 1995; 96: 2247 - 2259.
192. Chester MR, Bridson JD. Alternative treatments for angina. *Heart* 2007; 93(8): 983-984.
193. Chiappini B., Bergonzini M., Gallieri S. et al. Clinical outcome of aortic valve replacement in the elderly // *Cardiovasc. Surg.*-2003.-Vol.11.-P.359-365.
194. Chimenti C, Kajstura J, Torella D. Senescence and death of primitive cells and myocytes lead to premature cardiac aging and heart failure. *Circ.Res.* 2007;(93):604-613.
195. Cleland JG, Calvert M, Freemantle N, et al. The Heart Failure Revascularisation Trial (HEART). *Eur. J Heart Fail* 2011;13:227–33.
196. de Boer H.C., Hovens M.M., van Oeveter-Rietdijk A.M. et al. Human CD34+/KDR+ cells are generated from circulating CD34+ cells after immobilization on activated platelets. *Arterioscl. Thromb. Vasc.biol.* 2011;(31): 408-415.
197. Dewald O., Zymek P., Winkelmann K. et al. CCCL2/monocyte chemoattractant protein-1 regulates inflammatory responses critical to healing myocardial infarcts // *Circ. Res.* -2005.-Vol.96.-P.881-889.

198. Dickstein K, Cohen–Solal A, Filippatos G. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008: the Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2008 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association of the ESC (HFA) and endorsed by the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM). *Eur. J. Heart. Fail.* 2008; 29 (10): 933–989.

199. Dill T, Schächinger V, Rolf A. Intracoronary administration of bone marrow-derived progenitor cells improves left ventricular function in patients at risk for adverse remodeling after acute ST-segment elevation myocardial infarction: results of the Reinfusion of Enriched Progenitor cells And Infarct Remodeling in Acute Myocardial Infarction study (REPAIR-AMI) cardiac magnetic resonance imaging substudy. *Am Heart J* 2009;157:541–47.

200. Docheva D, Padula D, Popov C, Mutschler W, Clausen-Schaumann H, Schieker M. Researching into the cellular shape, volume and elasticity of mesenchymal stem cells, osteoblasts and osteosarcoma cells by atomic force microscopy. *J Cell Mol Med* 2008; 12(2): 537-52.

201. Dohmann H.F., Perin E.C., Takiya C.M. et al. Transendocardial autologous bone marrow mononuclear cell injection in ischemic heart failure: postmortem anatomicopathologic and immunohistochemical findings. *Circulation* 2005; 112: 4: 521—526.

202. Dokainish H., Nguyen J.S., Bobek J., et al. Assessment of the American Society of Echocardiography-European Association of Echocardiography guidelines for diastolic function in patients with depressed ejection fraction: an echocardiographic and invasive haemodynamic study. *Eur. J. Echocardiogr.* 2011; 12: 857–64.

203. Donndorf P, Kaminski A, Tiedemann G, Kundt G, Steinhoff G. Validating intramyocardial bone marrow stem cell therapy in combination with coronary artery bypass grafting, the PERFECT Phase III randomized multicenter trial: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials.* 2012 Jul 2;13:99.

204. Donndorf P, Kundt G, Kaminski A, Yerebakan C, Liebold A, Steinhoff G, Glass A. Intramyocardial bone marrow stem cell transplantation during coronary artery bypass surgery: a meta-analysis. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2011 Oct;142(4):911-20.

205. Duckers HJ, Houtgraaf J, van Geuns RJ, van Dalen BD, Regar E, van der Giessen W, et al. First-in-man experience with intracoronary infusion of adipose-derived regenerative cells in the treatment of patients with ST-elevation myocardial infarction: The Apollo trial. *Circulation* 2010;122: A12225 (abstr.)

206. Duijvestein M, Vos AC, Roelofs H, Wildenberg ME, Wendrich BB, Verspaget HW, et al. Autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cell treatment for refractory luminal Crohn's disease: results of a phase I study. *Gut.* 2010;59: 1662–9.

207. Dunlay SM, Weston SA, Redfield MM. Tumor necrosis factor-alpha and mortality in heart failure: a community study. *Circulation.* 2008;(118): 625-631.

208. Efficacy and safety of Ad5FGF-4 for myocardial ischemia in patients with stable angina due to coronary artery disease (ASPIRE). <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01550614?term=gene+therapy+Coronary+Heart+Disease+Phase+3&rank=8>.

209. Eisenberg LM, Moreno R. Multiple stem cell populations contribute to the formation of the myocardium. *Ann.N.Y.Acad. Sci.* 2005; (1047):38-49.

210. Ellison, G.M. et al. (2007) Myocyte death and renewal: modern concepts of cardiac cellular homeostasis. *Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine* 4 (Suppl 1), S52-59

211. Emerson C, Perin, Hans F.R, Dohmann, Radovan Borojevic Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation* 2003; 107:2294.

212. Empowering adult stem cells for myocardial regeneration / S. Mohsin, S. Siddiqi, B. Collins, M. A. Sussman // *Circ. Res.* – 2011. – Vol. 109, N 12. – P. 1415-1428.

213. Enzo R, Porrello, Ahmed I. Mahmoud, Emma Simpson, Joseph A. Hill, James A. Richardson, Eric N. Olson, Hesham A. Sadek. Transient Regenerative Potential of the Neonatal Mouse Heart. *Science*. 25 February 2011; (331): 1078–1080.

214. Estrin S, Kravchenko T, Pechenko A. Morphological and morphometric changes on the background of cell cardiomyoplasty in experimental myocardial infarction. *Science Rise: Medical Science*. 2020;6(39):23-31.

215. Fihn SD, Gardin JM, Abrams J. ACCF/AHA/ACP/AATS/PCNA/SCAI/ STS guideline for the diagnosis and management of patients with stable ischemic heart disease: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines, and the American College of Physicians, American Association for Thoracic Surgery, Preventive Cardiovascular Nurses Association,

216. Frangogiannis N. G., Smith C. W., Entman M. L. 2002. The inflammatory response in myocardial infarction. *Cardiovasc. Res.* 53 : 31—47.

217. Fuchs S, Baffour R, Zhou F et al. Transendocardial delivery of autologous bone marrow enhances collateral perfusion and regional function in Pigs with chronic experimental myocardial ischemia. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 1721–4.

218. Fuchs S., Kornowski R., Wtisz G. et al. Safety and feasibility of transendocardial autologous bone-marrow cell transplantation in patient with advanced heart disease. *Am. J. Cardiol.* 2006 ;97:823-829

219. Fukumoto Y., Ito A., Uwatoko T., et al. Extracorporeal cardiac shock wave therapy ameliorates myocardial ischemia in patients with severe coronary artery disease. *Coron Artery Dis* 2006; 17(1): 63-70.

220. Galinanes M., Loubani M., Davies J., Chin D., Pasi J., Bell PR. // Auto-transplantation of bone marrow into scarred myocardium is safe and enhances cardiac function in humans.- *J. Cell Transplantation* 2004; 13.-p.7-13.

221. Geske J., Gersh B. Angina in Revascularization of Ischemic Cardiomyopathy The Whole Quilt, or Just a STICH? *JACC*. 2015;66(19) : 2101– 3

222. Gneccchi M., Zhang Z., Ni A. et al. Paracrine mechanisms in adult stem cells signaling and therapy. *Circ. Res.*-2008.-Vol.103.-P.1204-1219.
223. Godino C, Scotti A, Taramasso M, Adamo M, Russo M. Two-year cardiac mortality after MitraClip treatment of functional mitral regurgitation in ischemic and non-ischemic dilated cardiomyopathy. *Int J Cardiol.* 2018; 15(269):33–39
224. Goh S., Prior D., Newcomb A., McLellan A., Mack J. Surgical Ventricular Restoration Procedure: Single-Center Comparison of Surgical Treatment of Ischemic Heart Failure (STICH) Versus Non-STICH Patients. *Ann Thorac Surg* 2013;95:506–12.
225. Gupta V., Nanda N., Sorrell V. Role of Echocardiography in the Diagnostic Assessment and Etiology of Heart Failure in Older Adults Opacify, Quantify, and Rectify. *Heart Fail Clin.* 2017 Jul;13(3):445–466.
226. H. C. Quevedo, K. E. Hatzistergos, B. N. Oskouei et al., “Allogeneic mesenchymal stem cells restore cardiac function in chronic ischemic cardiomyopathy via trilineage differentiating capacity,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 106, no. 33, pp. 14022–14027, 2009.
227. Hage F., Hage A., Haddad H., Kiaii B. Update on revascularization in patients with heart failure and coronary artery disease. *Curr Opin Cardiol.* 2018 Mar;33(2):232–236.
228. Hamano K, Nishida M, Hirata K et al. Local implantation of autologous bone marrow cells for therapeutic angiogenesis in patients with ischemic heart disease. *Jpn Circ J*;2001 65: 845–7.
229. Hans- Michael Klein Ischemic heart disease – alternative treatment options // *European cardiovascular disease.*-2007.-P.12-134.
230. Hedman M., Muona K., Hedman A. et al. Eight-year safety follow-up of coronary artery disease patients after local intracoronary VEGF gene transfer. *Gene Ther.* 2009; 16(5): 629–34.

231. Heeschen C., Lehmann R., Honold J. et al. Profoundly reduced neovascularization capacity of bone marrow mononuclear cells derived from patients with chronic ischemic heart disease. *Circulation* 2004; 109: 1615—1622.

232. Henry T.D., Annex B.H., Axrin M.A., et al. Double blind, placebo controlled trial recombinant human vascular endothelial growth factor — the VIVA trial [Abstract]. *J Coll Cardiol* 1999;33:384A.

233. Henry TD, Grines C., Watkins M.W. et al. Effects of Ad5FGF-4 in patients with angina: an analysis of pooled data from the AGENT-3 and AGENT-4 trials. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2007; 50(11): 1038–46.

234. Hierlihy A.M., Seal P., Lobe C.G. et al. The post-natal heart contains a myocardial stem cell population // *FEBS let.*-2002.-Vol.530.-P.239-243.

235. Hill J. M., Syed M. A., Arai A. E., Powell T. M., Paul J. D., Zalos G., Read E. J., Khuu H. M., Leitman S. F., Horne M., Csako G., Dunbar C. E., Waclawiw M. A., Cannon R. O. 2005. Outcomes and risks of granulocyte colony-stimulating factor in patients with coronary artery disease. *J. Amer. Coll. Cardiol.* 46 : 1643—1648.

236. Hillis LD, Smith PK, Anderson JL, et al. 2011ACCF/AHA guideline for coronary artery bypass graft surgery: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines developed in collaboration with the American Association for Thoracic

237. Hofmann M., Wollert K.C., Meyer G.P. et al. Monitoring of bone marrow cell homing into the infarcted human myocardium // *Circulation.*-2004.-Vol.110.-N21.-P.2198-2202.

238. <http://bolezni-serdca.ru/aortokoronarnoe-shuntirovanie/stimulyaciya-spinnogo-mozga/>

239. Intracoronary autologous bone marrow cell transfer after myocardial infarction the BOOST randomised controlled clinical trial / K. C. Wollert, G. P. Meyer, J. Lotz [et al.] // *Lancet.* - 2004. - Vol. 364. - P. 141-148.

240. Intracoronary Bone Marrow-Derived Progenitor Cells in Acute Myocardial Infarction. Volker Schächinger, Sandra Erbs, Albrecht Elsässer [et al.] *N. Engl. Med. Jour.* 2006. Vol. 33, № 12. P. 1210-1221.

241. Intracoronary infusion of bone marrow-derived selected CD34+CXCR4+ cells and non-selected mononuclear cells in patients with acute STEMI and reduced left ventricular ejection fraction: results of randomized, multicentre Myocardial Regeneration by Intracoronary Infusion of Selected Population of Stem Cells in Acute Myocardial Infarction (REGENT) Trial. Tendera M, Wojakowski W, Rużyło W, Chojnowska L, Kepka C, Tracz W, Musiałek P, Piwowarska W, Nessler J, Buszman P, Grajek S, Breborowicz P, Majka M, Ratajczak MZ, REGENT Investigators *Eur Heart J.* 2009 Jun; 30(11):1313-21.

242. Intramyocardial, autologous CD34+ cell therapy for refractory angina. Losordo DW, Henry TD, Davidson C, Sup Lee J, Costa MA, Bass T, Mendelsohn F, Fortuin FD, Pepine CJ, Traverse JH, Amrani D, Ewenstein BM, Riedel N, Story K, Barker K, Povsic TJ, Harrington RA, Schatz RA, ACT34-CMI Investigators *Circ Res.* 2011 Aug 5; 109(4):428-36.

243. J. Wöhrle, N. Merkle, V. Mailänder et al., “Results of intracoronary stem cell therapy after acute myocardial infarction,” *American Journal of Cardiology*, vol. 105, no. 6, pp. 804–812, 2010.

244. Janssens S., Dubois C., Bogaert J. et al. Autologous bone marrow-derived stem-cell transfer in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: double-blind, randomised controlled trial. *Lancet* 2006;367:113–21.

245. Jones R.H. Coronary bypass surgery with or without surgical ventricular reconstruction. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360: 1705–17.

246. Jorgensen C., Djouad F., Apparailly F. et al. Engineering mesenchymal stem cells for immunotherapy. *Gene Therapy* 2003; 10: 928-31.

247. Kan I. Integral therapeutic potential of bone marrow mesenchymal stem cells. *Curr. Drug. Targ.* 2005; (6): 31-41.

248. Kang HJ, Kim JY, Lee HJ. Magnetic bionanoparticle enhances homing of endothelial progenitor cells in mouse hindlimb ischemia. *Korean Circ. J.* 2012;(6);360-396.
249. Ketil Lunde Intracoronary injection of mononuclear bone marrow cells after acute myocardial infarction: lessons from the ASTAMI trial .*European Heart Journal Supplements.* 2008; (8): 35-38.
250. Khera S, Panza J., Surgical Revascularization in Older Adults with Ischemic Cardiomyopathy. *Heart Fail Clin.* 2017 Jul;13(3):571–580.
251. Kim M.C., Kini A., Sharma S.K. Refractory angina pectoris. Mechanism and therapeutic options. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 923-934.
252. Kinnaird T, Stabile E, Burnett M.S, Lee C.W, Barr S. Marrow-derived stromal cells express genes encoding a broad spectrum of arteriogenic cytokines and promote in vitro and in vivo arteriogenesis through paracrine mechanisms. *Circ.Res.* 2004;(94):678-682.
253. Klein P, Agostoni P, van Boven W-J, de Winter R, Swaans M. Transcatheter and minimally invasive surgical left ventricular reconstruction for the treatment of ischaemic cardiomyopathy: preliminary results, *Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery*, [Электронный ресурс] Режим доступа <https://doi.org/10.1093/icvts/ivy259>
254. Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs MJ. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. *Nat Med* 2001; 7: 430—436.
255. Koh G, Soonpaa M, Klug M. Strategies for myocardial repair .*J. Int. cardiol.* 1995;(8): 387-393.
256. Krijnen P.A., Nijmeijer R., Meijer C.J. et al. Apoptosis in myocardial ischemia and infarction // *J. Clin. Pathol.*-2002.-Vol.55.-P.801-811.
257. Kuethe F., Richartz B.M., Sayer H.G. et al. Lack of regeneration of myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell trans-

plantation in humans with large anterior myocardial infarctions. *Int J Cardiol* 2004; 97: 123—127.

258. Kukuła K., Chojnowska L., Dąbrowski M. et al. Intramyocardial plasmid-encoding human vascular endothelial growth factor A165/basic fibroblast growth factor therapy using percutaneous transcatheter approach in patients with refractory coronary artery disease (VIFCAD). *Am. Heart J.* 2011; 161(3): 581–9.

259. Kurozumi K, Nakamura K, Tamiya T. Mesenchymal stem cells that produce neurotrophic factor reduce ischemic damage in the rat middle cerebral artery occlusion model. *Mol. Ther.* 2005;(11):96-104.

260. Kusunose K, Obuchowski NA, Gillinov M, Popovic ZB, et al. Predictors of Mortality in Patients With Severe Ischemic Cardiomyopathy Undergoing Surgical Mitral Valve Intervention. *J Am Heart Assoc.* 2017 Nov 17;6(11). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5721789/>

261. Kuznetsov, S. A., Mankani, M. H., Gronthos, S., Satomura, K., Bianco, P., & Robey, P. G. (2001). Circulating skeletal stem cells. *J Cell Biol*, 153(5), 1133-1140.

262. Kwon DH, Kusunose K, Obuchowski NA, Cavalcante JL, et al. Predictors and Prognostic Impact of Progressive Ischemic Mitral Regurgitation in Patients With Advanced Ischemic Cardiomyopathy: A Multimodality Study. *Circ Cardiovasc Imaging.* 2016; 9(7): 76–79.

263. Lee, J. Y., Qu-Petersen, Z., Cao, B., Kimura, S., Jankowski, R., Cummins, J., et al. (2000). Clonal isolation of muscle-derived cells capable of enhancing muscle regeneration and bone healing. *J Cell Biol*, 150(5), 1085-1100.

264. Lee, O. K., Kuo, T. K., Chen, W. M., Lee, K. D., Hsieh, S. L., & Chen, T. H. (2004). Isolation of multipotent mesenchymal stem cells from umbilical cord blood. *Blood*, 103(5), 1669-1675.

265. Lefer D. J., Granger D. N. 2000. Oxidative stress and cardiac disease. *Amer. J. Med.* 109 : 315-323.

266. Leone A, Valgimigli M, Giannico MB. From bone marrow to the arterial wall: the ongoing tale of endothelial progenitor cells. *European. Heart.*

J.2009;(30):890-899.

267. Li FY, Lam KS, Tse HF. Endothelium-selective activation of AMP-activated protein kinase prevents diabetes-induced impairment in vascular function and re-endothelialization via induction of heme oxygenase-1 in Mice circulation.2012;(3) [Epub ahead of print].

268. Li GQ, Yang Y, Ke DZ. Association of circulating endothelial progenitor cells with renal function in patients with coronary artery disease. Clin. Appl. Thromb. Hemost. 2012;(12): 34-39.

269. Li N, Wang JA. Brain natriuretic peptide: a potential indicator of cardiomyogenesis after autologous mesenchymal stem cell transplantation? J Zhejiang Univ Sci B 2006; 7: 9: 766—768.

270. Liu J, Liu Z, Chen A, Wang Z, Zhou M, Cai J et al. Mid-term results of coronary bypass graft surgery in patients with ischaemic left ventricular systolic dysfunction and no detected myocardial viability. Interact CardioVasc Thorac Surg 2016;22:738–43.

271. Loh P., Cleland J., Louis A. et al. Enhanced External Counterpulsation in the Treatment of Chronic Refractory Angina: A Long-term Follow-up Outcome from the International Enhanced External Counterpulsation Patient Registry. Clin Cardiol 2008; 31: 4: 159-164.

272. Longjian L. Epidemiology of heart failure and scope of the problem. Cardiology Clinics.2014; 32: 1–8.

273. Loren E. Wold, Wangde Dai, Casilde Sesti et al. Stem Cell Therapy for the Heart. Congestive Heart Failure 2004; 10: 6: 293-301.

274. Lunde K, Solhelm S, Aakhus S. Intracoronary injection of mononuclear bone marrow cells in acute myocardial infarction. NEJM.2006;(355):1199-11209.

275. Majumdar MK, Keane-Moore M, Buyaner D. Characterization and functionality of cell surface molecules on human mesenchymal stem cells. J Biomed Sci 2003; 10: 228—241.

276. Makkar RR, Smith RR, Cheng K. Intracoronary cardiosphere-derived

cells for heart regeneration after myocardial infarction (CADUCEUS): a prospective, randomised phase 1 trial. *Lancet* 2012;379(9819):895-904.

277. Mannheimer C. The problem of chronic refractory angina\$ report from the ESC Joint Study Group on the treatment of refractory angina / C. Mannheimer, P. Camici, M.R. Chester // *Eur. Heart. J.*-2002.-Vol.23.-P.355-370.

278. Melzack R, Wall PD. Pain mechanisms: A new theory.*Science*, 1965; 150: 971–979.

279. Meyer G.P., Wollert K.C., Lotz J. et al. Intracoronary bone marrow cell transfer after myocardial infarction: eighteen months follow-up data from the randomized, controlled BOOST . *Circulation*.2006;(113):1287-1294.

280. Michael R. MacDonald, Lilin She, Torsten Doenst, Philip F. Binkley, Jean L.Rouleau Clinical characteristics and outcomes of patients with and without diabetes in the Surgical Treatment for Ischemic Heart Failure (STICH) trial. - *European Journal of Heart Failure* (2015)17, 725–734.

281. Miura M, Miura Y, Padilla-Nash YM. Accumulated chromosomal instability in murine bone marrow mesenchymal stem cells leads to malignant transformation. *Stem cells J.* 2006;(24):1095-1103.

282. Mizuno, S., & Glowacki, J. (1996). Chondroinduction of human dermal fibroblasts by demineralized bone in three-dimensional culture. *Exp Cell Res*, 227(1), 89-97.

283. Mocini D, Staibano M, Mele L et al. Autologous bone marrow mononuclear cell transplantation in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Am Heart J* 2006; 151: 192–7.

284. Molina E.J., Palma J., Gupta D. Improvement in hemodynamic performance, exercise capacity, inflammatory profile, and left ventricular reverse remodeling after intracoronary delivery of mesenchymal stem cells in an experimental model of pressure overload hypertrophy. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2008; 135: 2: 292—299.

285. Murashita T. The role of coronary artery bypass grafting in patients with ischemic cardiomyopathy in the current era. *J Thorac Dis* 2016;8(9):E1032–E1033.
286. Nadal- Ginard B., Kajstura J., Leri A., Anversa P. *Circulation Research*. 2003; 92: 139-150
287. Nanayakkara S., Patel H.C., Kaye D.M. Hospitalisation in Patients With Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. *Clin Med Insights Cardiol*. 2018; 12: 1179–89.
288. Nordrehaug J.E., Salem M. Treatment of chronic refractory angina pectoris - light at end of the tunnel? *Eur Heart J*. 2006; 27(9):1007-1009.
289. Norol F., Merlet P., Isnard R., Sebillon P., Bonnet N., Cailliot C., Carrion C., Ribeiro M., Charlotte F., Pradeau P., Mayol J. F., Peinnequin A., Drouet M., Safsati K., Vernant J. P., Herodin F. 2003. Influence of mobilized stem cells on myocardial infarct repair in a nonhuman primate model. *Blood*. 102 : 4361—4368.
290. Ohtsuka M., Takano H., Zou Y., Toko H., Akazawa H., Qin Y., Suzuki M., Hasegawa H., Nakaya H., Komuro I. 2004. Cytokinetherapy prevents left ventricular remodeling and dysfunction after myocardial infarction through neovascularization. *FASEB J*. 18 : 851—853.
291. Olivetti G., Abbi R., Quaini F. et al. Apoptosis in failing human heart // *New Engl. J. Med.*-1997.-Vol.336.-P.1131-1141.
292. Orlic D., Kajstura J., Quaini F. et al. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*-2001.-Vol.98.-P.10344-10349.
293. Oskarsson H. J., Coppey L., Weiss R. M., Li W. G. 2000. Antioxidants attenuate myocyte apoptosis in the remote non-infarcted myocardium following large myocardial infarction. *Cardiovasc. Res*. 45 : 679—687.
294. Ott H.C., Bonaros N., Marksteiner R., Wolf D., Margreiter E., Schachner T., Laufer G., Hering S. Combined transplantation of skeletal

myoblasts and bone marrow stem cells for myocardial repair in rats *Eur J Cardiothorac Surg* 2004 25:627-634; doi:10.1016/j.ejcts.2003.12.031

295. Oyama, T. et al. (2007) Cardiac side population cells have a potential to migrate and differentiate into cardiomyocytes in vitro and in vivo. *Journal of Cell Biology* 176, 329-341

296. Ozbaran M. et al. Autologous peripheral stem cell transplantation in patients with congestive heart failure due to ischemic heart disease. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.*-2004.-Vol.25.-N3.-P.342-350.

297. Palojoki E., Saraste A., Eriksson A., Pulkki K., Kallajoki M., Voipio-Pulkki L. M., Tikkanen I. 2001. Cardiomyocyte apoptosis and ventricular remodeling after myocardial infarction in rats. *Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 280 : H2726—H2731.

298. Panza JA, Velazquez EJ, She L, et al. Extent of coronary and myocardial disease and benefit from surgical revascularization in ischemic LV dysfunction [published correction appears in *J Am Coll Cardiol* 2014;64:1539]. *J Am Coll Cardiol* 2014;64:553–61.

299. Patel A, Geffner L, Vina RF et al. Surgical treatment for congestive heart failure with autologous adult stem cell transplantation: a prospective randomized study. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005; 130: 1631–8.

300. Perico N, Casiraghi F, Inrona M, Gotti E, Todeschini M, Cavinato RA, et al. Autologous mesenchymal stromal cells and kidney transplantation: A pilot study of safety and clinical feasibility. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011;6:412–22.

301. Pittenger M.F., Martin B.J. Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics. *Circ Res* 2004; 95: 9—20.

302. Pompillo G, Steinhoff G, Liebold Direct minimally invasive intramyocardial injection of bone marrow-derived AC 133+ stem cells in patients with refractory ischemia: preliminary results. *Thorac.Cardiovasc.Surg.*2008(56): 71-76.

303. Ponikowski P, Voors A A., Anker SD. et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur. Heart Jour.* 2016; 37: 2129–2200.

304. Prapas S, Protogeros D, Danou F et al. Effective combined off-pump surgical treatment and autologous bone marrow cell transplantation: a new alternative for patients with end-stage ischemic cardiomyopathy (Prapa's procedure). *Anadolu Kardiyol Derg* 2008; 8 (Suppl. 2): 101–7.

305. Psaltis PJ, Carbone A, Nelson AJ, Lau DH, Jantzen T, Manavis J, et al. Reparative effects of allogeneic mesenchymal precursor cells delivered transendocardially in experimental nonischemic cardiomyopathy. *JACC Cardiovasc Interv.* 2010;3:974–83.

306. Prockop, D. J. (1997). Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues. *Science*, 276(5309), 71-74.

307. Qian L, Huang Y, Spencer C.I. et al. In vivo reprogramming of murine cardiac fibroblasts into induced cardiomyocytes. *Nature* 2012 Apr 18.P.593-598.

308. Qu Z, Zheng JB, Zhang ZG. Single-center report of 5-year follow-up on 94 patients underwent transmural laser revascularization. *Clin Med J (Engl)* 2007; 120 (22):1982-1985.

309. Randomized controlled trials on the therapeutic effects of adult progenitor cells for myocardial infarction: meta-analysis. Jiang M, He B, Zhang Q, Ge H, Zang MH, Han ZH, Liu JP, Li JH, Zhang Q, Li HB, Jin Y, He Q, Gong XR, Yin XY *Expert Opin Biol Ther.* 2010 May; 10(5):667-80.

310. Rivas-Plata A, Castillo J, Pariona M, Chunga A. Bypass grafts and cell transplant in heart failure with low ejection fraction. *Asian Cardiovasc.Thorac Ann* 2010; 18: 425–9.

311. Roell, W. et al. (2007) Engraftment of connexin 43-expressing cells prevents post-infarct arrhythmia cells. *Nature* 450, 819-824

312. Roland D.M.// *Cadiol.Clin.*2014.V.32(1).P.1-18

313. Rosenzweig A. Cardiac cell therapy-mixed results from mixed cells // *N. Engl. J. Med.* 2006.-Vol. 355.-P.1274-1287.
314. Rossen R. D., Michael L. H., Hawkins H. K., Youker K., Dreyer W. J., Baughn R. E., Entman M. L. 1994. Cardiolipin-protein complexes and initiation of complement activation after coronary artery occlusion. *Circ. Res.* 75 : 546—555.
315. S. Mendis, P. Puska, and B. Norrving, *Global Atlas on Cardiovascular Disease Prevention and Control*, World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2011.
316. Safety study of gene therapy for ischemic heart disease in korea. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01422772?term=ViroMed&rank=5>.
317. Salem M., Rotevath S., Nordrehaug J.E. Long-term results following percutaneous myocardial laser therapy. *Coron Artery Dis* 2006; 17: 385-390.
318. Sanderson JE. Electrical neurostimulators for pain relief in angina. // *Br Heart J*, 1990; 63: 141–143
319. Saraste A., Pulkki K., Kallajoki M., Heikkila P., Laine P., Mattila S., Nieminen M. S., Parvinen M., Voipio-Pulkki L. M. 1999. Cardiomyocyte apoptosis and progression of heart failure to transplantation. *Eur. J. Clin. Invest.* 29 : 380—386.
320. Schachinger V, Erbs S, Elsasser A. Intracoronary bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction. *NEJM.*2006;(355):1210-21.
321. Schofield PM, McNab D. NICE evaluation of transmyocardial laser revascularization and percutaneous laser revascularization for refractory angina. *Heart* 2010; 96(4): 312-313.
322. Shake J.G., Gruber P.J., Baumgartner W.A. et al. Mesenchymal stem cell implantation in a swine myocardial infarct model: engraftment and functional effects. *Ann Thorac Surg* 2002; 73:1919-1925.
323. Shi-Wen X., Chen Y., Denton C. P., Eastwood M., Renzoni E. A., Bou-Gharios G., Pearson J. D., Dashwood M., du Bois R. M., Black C. M., Leask

A., Abraham D. J. 2004. Endothelin-1 promotes myofibroblast induction through the ETA receptor via a rac/phosphoinositide 3-kinase/Akt-dependent pathway and is essential for the enhanced contractile phenotype of fibrotic fibroblasts. *Mol. Biol. Cell.* 15 : 2707-2719.

324. Shintani S, Murohara T, Ikeda H. Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction. *Circulation.* 2001;(103):2776-2779.

325. Silva G., Perin E., Dohmann H., Borojevic K. et al. Catheter-based transendocardial delivery of autologous bone-marrow-derived mononuclear cells in patients listed for heart transplantation *Texas Heart Inst.* 2004;(31):214-219

326. Silva GV, Litovsky S, Assad J.A. Mesenchymal stem cells differentiate into an endothelial phenotype, enhance vascular density, and improve heart function in a canine chronic model. *Circulation.* 2005;(111):150-156.

327. Sjölund BH, Eriksson MB. The influence of naloxone on analgesia produced by peripheral conditioning stimulation. // *Brain Res.* 1979; 173: 295–301.

328. Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and Society of Thoracic Surgeons. *J Am Coll Cardiol* 2012. 60(24):e44–164.

329. Son B.R., Marquez-Curtis L.A., Kucia M. et al. Migration of bone marrow and cord blood mesenchymal stem cells in vitro is regulated by SDF-1-CXCR4 and HGF-c-met axes and involves matrix metalloproteinases. *Stem Cells* 2006.[Epub ahead of print].

330. Stamm C, Kleine H-D, Choi Y-H et al. Intramyocardial delivery of CD133+ bone marrow cells and coronary artery bypass grafting for chronic ischemic heart disease: safety and efficacy studies. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2007; 133: 717–25.

331. Stem cell engraftment and survival in the ischemic heart / K. H. Wu, X. M. Mo, Z. C. Han, B. Zhou // *Ann. Thorac. Surg.* – 2011. – Vol. 92, N 5. – P. 1917-1925.

332. Stamm C, Westphal B, Kleine H-D et al. Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet* 2003; 361: 45–6.

333. Strauer B.E., Brehm M., Zeus T., Kosterling M. et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. //Circulation. — 2002.-106.- №15.-P.1913-1918.

334. Strauer B.E., Brehm M., Zeus T., Kosterling M. et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. //Circulation. — 2002.-106.- №15.-P.1913-1918.

335. Sürder D, Schwitter J, Moccetti T, Astori G, Rufibach K, Plein S, et al. Cell-based therapy for myocardial repair in patients with acute myocardial infarction: rationale and study design of the SWiss multicenter Intracoronary Stem cells Study in Acute Myocardial Infarction (SWISSAMI). *Am Heart J.* 2010;160:58–64.

336. Surgery, Society of Cardiovascular Anesthesiologists, and Society of Thoracic Surgeons. *J Am Coll Cardiol* 2011;58:e123–210.

337. Takahashi, K. et al. (2007) Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 131, 861-872

338. Tang Y.L., Zhao Q., Zhang Y.C. et al. Autologous mesenchymal stem cell transplantation induce VEGF and neovascularization in ischemic myocardium. *Regul Pept* 2004; 117: 3—10.

339. Taylor RS, De Vries J, Buchser E, Dejongste MJ. Spinal cord stimulation in the treatment of refractory angina: Systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Cardiovasc Disord*, 2009; 9:10 - 13.

340. Tolar J, Nauta AJ, Osborn MJ. Sarcoma derived from cultured mesenchymal stem cells. *Stem cells.* 2007;(25):371-379.

341. Toma C., Pittenger M.F., Cahill K.S. et al. Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult rat heart. *Circulation* 2002; 105: 93—98.

342. Transcoronary transplantation of progenitor cells after myocardial infarction / B. Assmus, J. Honold, V. Schachinger [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2006;(355): 1222-1232.

343. Traverse JH, Henry TD, Moye' LA. Is the measurement of left ventricular ejection fraction the proper end point for cell therapy trials? An analysis of the effect of bone marrow mononuclear stem cell administration on left ventricular ejection fraction after ST-segment elevation myocardial infarction when evaluated by cardiac magnetic resonance imaging. *Am Heart J.* 2011 Oct;162(4):671-7

344. Tse HF, Kwong YL, Chan JK. Angiogenesis in ischemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation. *Lancet.* 2003;(361): 47-49.

345. Tse H-F, Thambar S, Kwong Y-L et al. Prospective randomized trial of direct endomyocardial implantation of bone marrow cells for treatment of severe coronary artery diseases (PROTECT-CAD trial). *Eur Heart Journal* 2007; 28: 2998–3005.

346. Thum T., Bauersachs J., Poole-Wilson P.A. et al. The dying stem cell hypothesis: immune modulation as a novel mechanism for progenitor cell therapy in cardiac muscle // *J. Am. Coll. Cardiol.*-2005.-Vol.46.-P.1799-1802.

347. Urbanek K., Rota M., Cascapera S. et al. Cardiac stem cells possess growth factor-receptor systems that after activation regenerate the infarcted myocardium, improving ventricular function and long-term survival. *Circ.Res.*2005;(97):92-94.

348. Wernig, M. et al. (2007) In vitro reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state. *Nature* 448, 318-324

349. Wrobel K, Stevens SR, Jones RH, et al. Influence of baseline characteristics, operative conduct and postoperative course on 30-day outcomes of coronary artery bypass grafting among patients with left ventricular dysfunction: results from the Surgical Treatment for Ischemic Heart Failure (STICH) Trial. *Circulation* 2015;132:720–30

350. Wu KH, Mo XM, Han ZC, Zhou B. Stem cell engraftment and survival in the ischemic heart. *Ann. Thorac. Surg.* 2011;(92): 1917- 25.

351. Wynn RF, Hart CA, Corradi-Perini C. et al. A small proportion of mesenchymal stem cells strongly expresses functionally active CXCR4 receptor capable of promoting migration to bone marrow. *Blood* 2004; 104(9): 2643-5.
352. Xu B, Kawata T, Daimon M, Kimura K, Nakao T. et al. Prognostic Value of a Simple Echocardiographic Parameter, the Right Ventricular Systolic to Diastolic Duration Ratio, in Patients with Advanced Heart Failure with Non-Ischemic Dilated Cardiomyopathy. *Int Heart J.* 2018;59(5):968–975.
353. Yagi H, Soto-Gutierrez A, Parekkadan B, Kitagawa Y, Tompkins RG, Kobayashi N, et al. Mesenchymal stem cells: mechanisms of immunomodulation and homing. *Cell Transplant.* 2010;19:667–79.
354. Yang EH, Barsness GW, Gersh BJ. Современные и будущие стратегии лечения рефлекторной стенокардии. Усиленная наружная контрпульсация. Сборник статей, том 2. (под ред. Ю.Н.Беленкова, Р.С.Карпова). Медицинская компания АЛИМПЕКС.2005:7-19.
355. Yasojima K., Kilgore K. S., Washington R. A., Lucchesi B. R.,McGeer P. L. 1998. Complement gene expression by rabbit heart: upregulation by ischemia and reperfusion. *Circ. Res.* 82 : 1224—1230.
356. Yeh ETH, Zhang S, Wu HD. et al. Transdifferentiation of human peripheral blood CD34+-enriched cell population into cardiomyocytes, endothelial cells, and smooth muscle cells in vivo. *Circulation* 2003; 108: 2070—2073.
357. Yerebakan C, Kaminsky A, Westphal B et al. Autologous bone marrow stem cell therapy for the ischemic myocardium during coronary artery bypass grafting. *Minimally Invasive Therapy* 2008; 17 (2): 143–8.
358. Yoo K-J, Kim H-O, Kwak Y-L et al. Autologous bone marrow cell transplantation combined with off-pump coronary artery bypass grafting in patients with ischemic cardiomyopathy. *Can J Surg* 2008; 51 (4): 269–75.
359. Zhang C, Zhou G, Chen Y, Liu S, Chen F. Human umbilical cord mesenchymal stem cells alleviate interstitial fibrosis and cardiac dysfunction in a dilated cardiomyopathy rat model by inhibiting TNF- α and TGF- β 1/ERK1/2 signaling pathways. *Mol Med Rep.* 2018;17(1):71–78.

360. Zhao Q, Sun Y, Xia L et al. Randomized study of mononuclear bone marrow cell transplantation in patients with coronary surgery. *Ann Thorac Surg* 2008; 86: 1833–40.

361. Zhao Q, Ye X. Additive value of adult bone-marrow-derived cell transplantation to conventional revascularization in chronic ischemic heart disease: a systemic review and meta-analysis. *Expert Opin Biol Ther.* 2011 Dec;11(12):1569–79.

362. Zhao R.C., Liao L., Han Q. Mechanisms and perspectives on the mesenchymal stem cell in immunotherapy. *J. Lab. Clin. Med.* 2004; 143: 284-91.

363. Zhuo Y, Li SH, Chen MS, Wu J, Kinkaid HY, Fazel S, et al. Aging impairs the angiogenic response to ischemic injury and the activity of implanted cells: combined consequences for cell therapy in older recipients. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2010;139:1286–94.

364. Zmpetake A., Kirton J., Xu Q. et al. Vascular repair by endothelial progenitor cells. *Cardivascular. Research.* 2008; 78:413–421.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ

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. С. 118–121. *(Здобувач брав участь у наборі клінічного матеріалу, провів аналіз результатів, підготував статтю до друку).*

3. **Естрин С. И.**, 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).*

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 эксперименте. 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., **Естрин С. И.**, Денисова Е. М., Оксимец В. М., Кравченко Т. В., Климовицкий В. Г. Применение аутологичных 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 судинного тону, 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 on 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. Грінь 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. № и 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. № и 2010 05937; заявлено 17.05.2010; опубліковано 21.01.2011; Бюл. 2. *(Здобувач провів патентний пошук, запропонував та впровадив спосіб).*

ВПРОВАДЖЕННЯ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Заступник директора ДУ «ІЗНХ ім.
В.Т. Зайцева НАМН України» з
наукової роботи, д.мед.н., професор
С.В.Сушков

« _____ » 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження (метод профілактики, лікування, пристрій, форма організаційної праці та ін.):

Спосіб лікування хворих на ішемічну хворобу серця.

2. Ким та коли запропоновано (найменування установи, автори):

ДУ «ІЗНХ ім. В.К. Гусака НАМНУ»;

Возіанов О.Ф., Гринь В.К., Естрін С.І., Кравченко Т.В.

3. Джерело інформації (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертації, монографії, з'їзди, конференції, семінари та ін.):

Патент на корисну модель №56597 «Спосіб лікування хворих на ішемічну хворобу серця» Возіанов О.Ф., Гринь В.К., Естрін С.І., Кравченко Т.В. 2011;25.01.;Бюл.№2.

4. Де та коли впроваджено: ДУ «ІЗНХ ім. В.Т.Зайцева НАМНУ»

Загальна кількість впроваджень – 9

5. Результати застосування методу (за період з 01.09.2019 по 20.12.2020):

позитивні (кількість спостережень) – 9

невизначені (кількість спостережень) – 0

заперечні (кількість спостережень) – 0

6. Ефективність впровадження (скорочення тривалості перебування у стаціонарі, строків амбулаторного лікування, тимчасової непрацездатності, зниження інвалідизації, летальності, економічний ефект, інші показники):

Зменшення строків перебування в стаціонарі, зниження необхідності у великій кількості медикаментів, покращення якості життя.

7. Зауваження, пропозиції:

Зауважень не має; рекомендується до широкого впровадження у практику охорони здоров'я.

Відповідальний за впровадження:

Завідуючий кардіохірургічним
відділенням д.мед. н

О.В. Бучнева

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Проректор з наукової роботи
 Харківської медичної академії
 післядипломної освіти
 д.м.н. професор Георгіянець М.А.

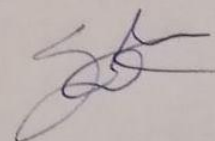
« _____ » _____ 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** «Спосіб лікування хворих на ішемічну хворобу серця».
2. **Заклад-розробник, поштова адреса, ППІ авторів:** ДУ «Інститут невідкладної та відновної хірургії ім. В.К. Гусака НАМН України», м Київ, вул. Ілленка, 56. Автор: к.мед.н. Естрін С.І.
3. **Джерело інформації:** Патент на корисну модель №56597 «Спосіб лікування хворих на ішемічну хворобу серця» Возіанов А.Ф., Гринь В.К., Естрін С.І., Кравченко Т.В., 2011; 25.01.; Бюл.№2, Естрін С.І., Кравченко Т.В., Ковальчук А.О. Безпосередні результати лікування хворих на рефрактерну стенокардію за допомогою стовбурових клітин. Міжнародний медичний журнал.–2020.–Т.-26.–№4(104).–С.33-37.
4. **Де впроваджено:** кафедра хірургії серця, магістральних судин та дитячої хірургії Харківської медичної академії післядипломної освіти.
5. **Терміни впровадження:** 2019-2020 р.р.
6. **Форма впровадження:** у навчальний процес – в матеріали лекцій, семінарських та практичних занять для слухачів післядипломної освіти за спеціальністю «Хірургія серця і магістральних судин» Харківської медичної академії післядипломної освіти.
7. **Ефективність впровадження:** Покращення професійної підготовки серцево-судинних хірургів. Використанням даної розробки доведено, що ефективність впровадження відповідає критеріям, які наведені у джерелах інформації.
8. **Зауваження та пропозиції:** Зауважень немає. Пропонується використовувати дану інформаційну розробку для впровадження в навчально-педагогічний процес на кафедрах серцево-судинної хірургії закладів вищої освіти України.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри хірургії серця,
 магістральних судин та дитячої хірургії
 Харківської медичної академії
 післядипломної освіти



Ю.М.Скібо

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

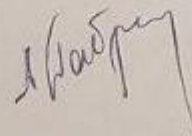
Головний лікар ДУ «Національний
інститут хірургії та трансплантології
ім. О.О.Шалімова» НАМН України
д. мед.н. Костенко А.А.

« 01 » жовтня 2021 р

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження** (метод профілактики, лікування, пристрій, форма організаційної праці та ін.):
Спосіб лікування хворих на ішемічну хворобу серця.
2. **Ким та коли запропоновано** (найменування установи, автори):
ДУ «ІНВХ ім. В.К.Гусака НАМН України»;
Возіанов О.Ф., Гринь В.К., Естрін С.І., Кравченко Т.В.
3. **Джерело інформації** (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертації, монографії, з'їзди, конференції, семінари та ін.):
Возіанов О.Ф., Гринь В.К., Естрін С.І., Кравченко Т.В.
Патент на корисну модель №56597 «Спосіб лікування хворих на ішемічну хворобу серця» ; 2011;25.01;Бюл.№2.
4. **Де та коли впроваджено:**
ДУ «Національний інститут хірургії та трансплантології імені О.О.Шалімова НАМН України». Загальна кількість впроваджень – 11
5. **Результати застосування методу** (за період з 01.09.2019 по 20.12.2020):
позитивні (кількість спостережень) – 11
невизначені (кількість спостережень) – 0
заперечні (кількість спостережень) – 0
6. **Ефективність впровадження** (скорочення тривалості перебування у стаціонарі, строків амбулаторного лікування, тимчасової непрацездатності, зниження інвалідизації, летальності, економічний ефект, інші показники):
Скорочення строків перебування у стаціонарі, зниження інвалідизації, зниження потреби у медикаментах.
7. **Зауваження, пропозиції:**
Зауважень немає; рекомендується до широкого впровадження у практику охорони здоров'я.

Відповідальний за впровадження:
Завідуючий відділом трансплантації та
хірургії серця ,
д.мед.н.



А.В.Габріелян