

**Федеральное Государственное Бюджетное Учреждение  
«Новосибирский научно-исследовательский институт патологии  
кровообращения имени академика Е.Н. Мешалкина»  
Министерства Здравоохранения Российской Федерации**

---

**На правах рукописи**

**Кливер Елена Николаевна**

**КЛИНИКО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ  
ЭНДОМИОКАРДИАЛЬНОЙ КЛЕТОЧНОЙ КАРДИОМИОПЛАСТИКИ У  
БОЛЬНЫХ С ИШЕМИЧЕСКОЙ ДИСФУНКЦИЕЙ МИОКАРДА**

**14.01.05 – кардиология**

**14.01.26 – сердечно-сосудистая хирургия**

**Диссертация на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук**

**Научный консультант:  
д.м.н., профессор А. М. Чернявский**

**Новосибирск 2016**

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	5
ВВЕДЕНИЕ.....	7
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ИШЕМИЧЕСКОЙ ДИСФУНКЦИИ МИОКАРДА. ДОСТИЖЕНИЯ. ПЕРСПЕКТИВЫ. (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ) .....	16
1.1 Ишемическая дисфункция миокарда: прогноз, стратегия лечения.....	20
1.2 Клиническая значимость неоангиогенеза при ИБС.....	23
1.3 Терминология и виды стволовых клеток, их применение в клинической практике при ИБС.....	26
1.3.1. Возможности применения эмбриональных стволовых клеток.....	28
1.3.2 Региональные стволовые клетки .....	29
1.3.3 Стволовые клетки костномозгового происхождения.....	31
1.3.4 Скелетные миобlastы.....	36
1.3.5 Стволовые клетки сердца.....	40
1.3.6 Стволовые клетки периферической крови .....	41
1.3.7. Генномодифицированные клетки.....	42
1.4 Слияние клеток и понятие «хоуминг» эффект.....	43
1.5 Современные клеточные технологии, клиническая эффективность при ИБС.....	46

1.5.1 Терапия факторами роста.....	52
1.5.2 Аутологичные мононуклеарные стволовые клетки костного мозга.....	54
1.5.3 Эпителиальные прогениторные клетки (клетки-предшественники эндотелиальных клеток).....	59
1.6 Методы доставки стволовых клеток к ишемизированному миокарду.....	61
ГЛАВА 2. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ И МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	66
2.1 Дизайн исследования и клиническая характеристика больных .....	66
2.2 Методы исследования.....	74
2.2.1. Качество жизни ("SF-36 Health Status Survey").....	75
2.2.2 Эхокардиографическое исследование.....	77
2.2.3 Селективная коронарография.....	78
2.2.4 Перфузационная сцинтиграфия миокарда.....	81
2.3 Методы лечения.....	81
2.3.1 Метод имплантации аутологичных клеток костного мозга, техническое обеспечение.....	81
2.3.2 Протокол эндомиокаридального введения аутологичных стволовых клеток.....	84
2.3.3 Выделение мононуклеарной фракции аутологичных клеток из аспираата костного мозга. ....	85
2.3.4 Метод получения мононуклеарной фракции аутологичных клеток костного мозга из периферической крови.....	86
2.3.5 Диагностика клеточного материала.....	87
2.4 Этический комитет .....	88

2.5 Статистическая обработка результатов.....	88
ГЛАВА 3. ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ЭНДОМИОКАРДИАЛЬНОЙ ИМПЛАНТАЦИИ МОНОНУКЛЕАРНОЙ ФРАКЦИИ АУТОЛОГИЧНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА И ЕЕ ВЛИЯНИЕ НА КЛИНИЧЕСКОЕ ТЕЧЕНИЕ У БОЛЬНЫХ ИБС ПРИ СОХРАННОЙ И УМЕРЕННО СНИЖЕННОЙ ФРАКЦИИ ВЫБРОСА ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА .....	90
ГЛАВА 4. КЛИНИКО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИМПЛАНТАЦИИ МОНОНУКЛЕАРНОЙ ФРАКЦИИ АУТОЛОГИЧНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА ПРИ ВЫРАЖЕННОЙ ИШЕМИЧЕСКОЙ ДИСФУНКЦИИ МИОКАРДА.....	106
4.1 Клинико-функциональная характеристика больных с эндомиокардиальной имплантацией МФКМ в сочетании с медикаментозной терапией .....	106
4.2 Клинико-функциональная характеристика больных с изолированной медикаментозной терапией .....	128
ГЛАВА 5. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЫЖИВАЕМОСТИ, КЛИНИКО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ, КАЧЕСТВА ЖИЗНИ БОЛЬНЫХ С ВЫРАЖЕННОЙ ИШЕМИЧЕСКОЙ ДИСФУНКЦИЕЙ МИОКАРДА.....	141
ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	162
ВЫВОДЫ.....	180
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	182
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	183

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АД – артериальное давление

АКШ – аортокоронарное шунтирование

АРА - антагонисты рецепторов ангиотензина II

ГБ- гипертоническая болезнь

ГСК – гемопоэтические стволовые клетки

ГМК – гладкомышечные клетки

ИБС – ишемическая болезнь сердца

И-АПФ - ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента

КА – коронарные артерии

КДО – конечный диастолический объём

КСО – конечный систолический объём

КМ – красный костный мозг

КШ – коронарное шунтирование

ЛЖ – левый желудочек

МСК – мезенхимальные стволовые клетки

МФККМ – мононуклеарная фракция клеток костного мозга

ОА – огибающая артерия

ОИМ – острый инфаркт миокарда

ПКА – правая коронарная артерия

ПНА – передняя нисходящая артерия

СК – стволовые клетки

УО – ударный объём

ФВ – фракция выброса

ФК – функциональный класс

ФР - фактор роста

ЭК – эндотелиальные клетки

HIF-1 – транскрипционный фактор, индуцируемый гипоксией фактор 1

VEGF – фактор роста эндотелия сосудов

PDGF – тромбоцитарный фактор роста

рЛА – давление в легочной артерии

PF - физическое функционирование (Physical Functioning)

RP - ролевое функционирование, обусловленное физическим состоянием (Role-Physical Functioning)

BP - интенсивность боли (Bodily pain)

GH - общее состояние здоровья (General Health)

VT - жизненная активность (Vitality)

SF - социальное функционирование (Social Functioning)

RE - ролевое функционирование, обусловленное эмоциональным состоянием (Role-Emotional)

МН - психическое здоровье (Mental Health)

ХИБС – хроническая ишемическая болезнь сердца

ЧСС – частота сердечных сокращений

ЭКГ – электрокардиография

ЭХОКГ - эхокардиография

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность проблемы.** Ишемическая болезнь сердца (ИБС) занимает первое место среди сердечно-сосудистых заболеваний по частоте осложнений и количеству летальных исходов. В США она служит причиной каждой пятой смерти [Rolande D.M., 2014]. В России, диагноз ИБС устанавливается примерно 400 тыс. пациентам ежегодно [Беленков Ю.Н., 2011; Бокерия Л.А., 2012]. Традиционные методы лечения данной категории пациентов, существующие в настоящее время это: медикаментозная терапия, прямая реваскуляризация миокарда (аортокоронарное шунтирование (АКШ) или ангиопластика со стентированием), и трансплантация сердца. Имеющаяся на сегодняшний день современная медикаментозная терапия обычно оказывается недостаточно эффективной в предотвращении процессов ремоделирования миокарда [Агеев Ф.Т., 2006; Байкова Ю.П., 2010; Diwan A., 2007].

Хирургические методы лечения показали свое преимущество по сравнению с изолированной медикаментозной терапией [Alderman E.L., 1990; Yamaguchi A., 2005]. Однако, есть большая группа пациентов, которым по тем или иным причинам (дистальная окклюзия, высокий риск операции, технические проблемы) нельзя выполнить прямую реваскуляризацию миокарда. Кроме этого существует группа пациентов с возвратной, прогрессирующей стенокардией, у которых операция АКШ уже была выполнена, а повторная операция невозможна [Otsuji Y., 1997; Silva G., 2004; Fuchs S., 2006]. Также имеется ряд не решенных вопросов относительно доноров на трансплантацию сердца, этические аспекты, которые значительно снижают возможность своевременного выполнения трансплантации сердца [Braunwald E., Bristow MR., 2000].

Недавние достижения в области биологии стволовой клетки кардинально изменили все представления о регенеративной способности миокарда и породили появление нового терапевтического направления – клеточной

кардиомиопластики, нацеленного на замещение поврежденных кардиомиоцитов путем имплантации аутологичных стволовых клеток костного мозга [Кругляков П.В., 2008; Коноплянников М.А. и др., 2012; Assmus B., et al., 2012; Losordo D.W., 2012; Povsic T.J., et al., 2012; Pokushalov E., et al., 2009-2011; Romanov A., et al., 2009-2011; Jimenez-Quevedo P., et al., 2011, 2012; Nasser B.A., et al., 2012, 2013].

В течение последних лет эта процедура была введена в клиническую практику для улучшения результатов лечения пациентов с ишемической дисфункцией миокарда. Первоначально её эффективность и безопасность были подтверждены многочисленными экспериментальными и клиническими исследованиями [Шумаков В.И., 2003; Омаров А.А., 2006; Фомичев А.В., 2008; Белевитин А.Б., 2010; Бондарь В.Ю., 2011; Буховец И.Л., 2013; Yoo K., et al., 2000; Tse H.F., et al., 2003; Beeres S., et al., 2006; Hu S., et al., 2011; Perin E.C., et al., 2003-2012; Steiner J.K., et al., 2012; Junge C.E., et al., 2012]. Однако, все клинические исследования по эндомиокардиальной имплантации аутологичных стволовых клеток костного мозга имеют небольшое количество пациентов [Смолянинов А.Б. и др., 2006; Стрельников А.Г. и др., 2013; Beeres S., et al., 2007; Losordo D.W., et al., 2009, 2011; Quevedo H.C., et al., 2009; Willerson J.T., et al., 2010; Assmus B., et al., 2012; Perin E.C., et al., 2012]. Так же они не содержат единой структуры, типа введения, конечных точек исследования, критериев включения и исключения и т.д.

Таким образом, необходимо разработать оптимальную комбинацию лечения больных ИБС, осложненной ишемической дисфункцией миокарда, не имеющих возможности для первичной или повторной прямой реваскуляризации, которая позволит увеличить отдаленную выживаемость, улучшить качество жизни и увеличить ее продолжительность. В соответствии с вышеизложенным, были сформулированы цель и задачи настоящего исследования.

**Цель исследования:** разработать стратегию комплексного подхода к лечению больных с ишемической дисфункцией миокарда с использованием наряду с современным медикаментозным лечением метода эндомиокардиальной клеточной кардиомиопластики мононуклеарной фракцией аутологичных клеток костного мозга, оценить эффективность данного подхода на основе анализа ближайших и отдаленных результатов.

**Задачи исследования:**

1. Дать оценку безопасности клинического применения метода эндомиокардиальной имплантации мононуклеарной фракции аутологичных клеток костного мозга у больных с ишемической дисфункцией миокарда.
2. Изучить эффективность влияния эндомиокардиальной имплантации мононуклеарной фракции аутологичных клеток костного мозга на клиническое течение заболевания, выраженность стенокардии и клиническую динамику ХСН.
3. Изучить изменения внутрисердечной гемодинамики и сократительной функции миокарда после эндомиокардиальной имплантации мононуклеарной фракции аутологичных клеток костного мозга по данным ЭХОКГ у включенных в исследование больных.
4. Изучить изменения перфузии миокарда по данным радионуклеидных методов исследования у больных с ишемической дисфункцией миокарда после эндомиокардиальной имплантации мононуклеарной фракции аутологичных клеток костного мозга.
5. Проанализировать изменение эндокардиального потенциала у больных с ишемической дисфункцией миокарда по данным электроанатомического картирования после эндомиокардиальной имплантации мононуклеарной фракции аутологичных клеток костного мозга.

6. Оценить влияние эндомиокардиальной имплантации мононуклеарной фракции аутологичных клеток костного мозга на качество жизни у больных с ишемической дисфункцией миокарда в отдаленном периоде.

**Разработана концепция:** повышения эффективности лечения больных с ишемической дисфункцией миокарда, направленной на улучшение клинико-функционального статуса, увеличение продолжительности и улучшение качества жизни, при комплексном подходе к лечению данной патологии с использованием, наряду с современной медикаментозной терапией - метода эндомиокардиальной имплантации мононуклеарной фракции аутологичных клеток костного мозга.

**Научная новизна исследования.** На основании анализа полученных результатов впервые:

- научно обоснована клиническая безопасность применения метода эндомиокардиальной имплантации мононуклеарной фракции аутологичных клеток костного мозга у больных с ишемической дисфункцией миокарда.
- установлено положительное влияние эндомиокардиальной имплантации мононуклеарной фракции аутологичных клеток костного мозга на клиническое течение заболевания, динамику функционального класса стенокардии напряжения и течение хронической сердечной недостаточности у больных с ишемической дисфункцией миокарда.
- дана оценка внутрисердечной гемодинамики и сократительной функции ЛЖ по данным ЭХОКГ у больных с ишемической дисфункцией после эндомиокардиальной имплантации аутологичных клеток костного мозга в отдаленном периоде наблюдения.
- дана оценка перфузии миокарда по данным радионуклеидных методов исследования у больных с ишемической дисфункцией после

эндомиокардиальной имплантации аутологичных клеток костного мозга в отдаленном периоде наблюдения. Установлено достоверное улучшение перфузии миокарда при использовании метода эндомиокардиальной имплантации мононуклеарной фракции аутологичных клеток костного мозга.

- дана оценка различным аспектам качества жизни у больных с ишемической дисфункцией миокарда в динамике, до и после использования метода эндомиокардиальной имплантации мононуклеарной фракции аутологичных клеток костного мозга.

- осуществлен сравнительный анализ клинико-функциональных показателей и качества жизни у больных ИБС с ишемической дисфункцией миокарда левого желудочка при изолированном медикаментозном лечении и при сочетании медикаментозного лечения с эндомиокардиальной имплантацией аутологичных клеток костного мозга.

**Отличие полученных новых научных результатов от данных, полученных другими авторами.** На сегодняшний день не существует достаточного количества данных о применении мононуклеарной фракции аутологичных клеток костного мозга у больных с ишемической дисфункцией миокарда. Предыдущие исследования были проведены на небольшом количестве больных с коротким сроком наблюдения, они не содержали единой структуры, конечных точек исследования, критериев включения и исключения, и их результаты порой носили противоречивый характер [Беленков Ю.Н., 2003; Kwong H.F., 2003; Fuchs S., 2003; Rodrigo S, 2011; Perin E.C., 2012].

Часть выполненных ранее исследований показали эффективность проведенных операций АКШ у больных с ишемической дисфункцией миокарда и стенокардией напряжения с последующим улучшением клинико-функционального класса и прогноза течения заболевания [Varnauskas E.

1995; Jones R. 2009]. Однако, на данный момент не существует достоверных отличий выживаемости по сравнению с медикаментозной терапией [Lloyd-Jones D, Adams R, et al., 2009].

Результатами настоящего исследования установлено, что в сравнении с больными получавшими только медикаментозную терапию, включение в комплекс лечения метода эндомиокардиальной имплантации мононуклеарной фракции аутологичных клеток костного мозга способствует улучшению клинико-функционального статуса больных с ишемической дисфункцией ЛЖ и улучшению сократительной функции миокарда, что проявляется приростом ФВ ЛЖ, уменьшением его объемных показателей, а также улучшением практически всех аспектов качества жизни в отдаленном периоде наблюдения. Сведений об этом в доступной литературе не найдено, что также позволяет отнести полученные результаты к новым научным данным.

**Практическая значимость работы.** Получены новые знания о клинической безопасности и эффективности использования метода эндомиокардиальной имплантации мононуклеарной фракции аутологичных клеток костного мозга при комплексном подходе к лечению больных с ишемической дисфункцией миокарда предусматривающем сочетание с современной медикаментозной терапией. Применение метода эндомиокардиальной имплантации мононуклеарной фракции аутологичных клеток костного мозга при ишемической дисфункции миокарда способствует снижению функционального класса стенокардии и хронической сердечной недостаточности, улучшению качества жизни больных. Результаты исследования показали, что электроанатомическое картирование может выполняться для оптимизации применения клеточной терапии в клинической практике.

**Область применения и внедрение результатов работы.** Все практические рекомендации, изложенные в диссертации, применяются в

клинической практике ФГБУ «Новосибирский НИИ патологии кровообращения имени академика Е.Н. Мешалкина» Минздрава России при лечении пациентов с ишемической сердечной недостаточностью. Выводы и рекомендации могут быть использованы в специализированных кардиологических, кардиохирургических центрах Российской Федерации.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 219 страницах машинописного текста и состоит из введения, 5 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего в себя 311 источников, в том числе 68 отечественных и 243 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 33 рисунками и 52 таблицами.

**Публикации по теме работы.** По теме диссертации опубликовано 32 работы, в том числе 15 статей в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень российских рецензируемых научных журналов рекомендованных ВАК для публикаций материалов диссертации, а также зарубежных журналах, входящих систему цитирования Web of Science, PubMed.

**Апробация работы.** Основные результаты доложены на: Конгрессе европейской ассоциации кардиологов («European Society of Cardiology» 2009, 2010, 2012), Научном конгрессе американского колледжа кардиологов («American College of Cardiology», США, 2010, 2011), Европейском конгрессе ассоциации кардио-торакальных хирургов («European Association of Cardiothoracic Surgeons», Швейцария, 2010), VI научных чтениях, посвященных памяти академика РАМН Е.Н. Мешалкина, Новосибирск, 2008, XII ежегодной сессии научного центра сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева РАМН с Всероссийской конференцией молодых ученых, Москва, 2008; Объединенном съезде кардиологов и кардиохирургов Сибирского Федерального Округа с международным участием, Томск, 2009, Международной конференции «Современная кардиология: эра инноваций», Томск, 2010, Всероссийской научно-практической конференции,

посвященной 20-летию Кузбасского кардиологического центра, «Актуальные проблемы сердечно-сосудистой патологии», Кемерово, 2010, V Всероссийском Съезде трансплантологов, Москва, 2010, XI Евразийском симпозиуме «Проблемы саногенного и патогенного эффектов эндо- и экзоэкологического воздействия на внутреннюю среду организма по вопросам фундаментальной и прикладной медицины» г. Чолпон-Ата. Киргизия, 2012, Ученом Совете ФГБУ «ННИИПК им. академика Е.Н. Мешалкина» Минздрава России, 2015.

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Эндомиокардиальная имплантация МФКМ является безопасным и клинически эффективным методом лечения у больных с ишемической дисфункцией миокарда.
2. Эндомиокардиальная имплантация МФКМ у больных ИБС с ишемической дисфункцией миокарда улучшает показатели внутрисердечной гемодинамики и сократительной функции миокарда.
3. Имплантация МФКМ улучшает перфузию миокарда в исследуемых группах, значимо влияет на прогноз продолжительности жизни больных с выраженной дисфункцией миокарда в отдаленном периоде на протяжении двух лет с последующим снижением статистической значимости отличий с медикаментозной группой.
4. Эндомиокардиальная имплантация МФКМ улучшает основные показатели качества жизни у больных независимо от тяжести исходной ишемической дисфункции миокарда.
5. Достижению наилучшего клинического эффекта способствует комплексный подход к лечению больных с ишемической дисфункцией миокарда с использованием, наряду с медикаментозной терапией, метода эндомиокардиальной имплантации МФКМ.

**Достоверность выводов и рекомендаций.** Выбранная тема и задачи исследования убедительно обоснованы. Поставленные задачи исследования

решены полностью, а цель достигнута. Достаточное число клинических наблюдений (155 пациентов с ХИБС), использование высокоинформационных и современных методик, комплексный подход к научному анализу с применением современных методов статистической обработки и современного программного компьютерного обеспечения, является свидетельством высокой достоверности выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертационной работе.

**Личный вклад автора в получении новых научных результатов данного исследования.** Автор лично проводила обследование и отбор пациентов с хронической ишемической болезнью сердца для оперативного лечения, занималась предоперационной подготовкой и послеоперационным ведением больных, осуществляла диспансерное обследование и лечение в отдаленном послеоперационном периоде. Провела анализ клинико-функциональных, лабораторных, инструментальных, электрофизиологических данных пациентов. Лично провела статистический анализ и интерпретацию данных, опубликовала эти результаты в центральной печати.

### **Особая благодарность**

Автор выражает сердечную благодарность научному консультанту руководителю Центра хирургии аорты и коронарных артерий д.м.н., профессору, заслуженному деятелю науки РФ Александру Михайловичу Чернявскому; д.м.н., профессору Евгению Анатольевичу Покушалову, сотрудникам отделения кардиохирургии аорты и коронарных артерий, сотрудникам кардиохирургического отделения нарушений ритма сердца, сотрудникам отделения функциональной диагностики ФГБУ «НИИПК им. академика Е.Н. Мешалкина» Минздрава России за оказанную помощь при выполнении данной работы.

## ГЛАВА 1

### **СОВРЕМЕННЫЕ КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ИШЕМИЧЕСКОЙ ДИСФУНКЦИИ МИОКАРДА. ДОСТИЖЕНИЯ. ПЕРСПЕКТИВЫ. (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)**

В структуре причин общей смертности населения болезни системы кровообращения в большинстве экономически развитых стран занимают первое место [Spodick D. H., 2000]. В Российской Федерации сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются причиной более чем половины всех случаев смерти, причем рост этого показателя неуклонно продолжает увеличиваться ежегодно. [Бокерия Л. А., 2002; Беленков Ю.Н., Оганов Р.Г., 2007; Грищенко М.Ю., с соавт. 2009].

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) является одним из главных факторов развития сердечной недостаточности (СН). Несмотря на очевидные достижения современной медицины, она продолжает оставаться одной из основных проблем среди заболеваний сердечно-сосудистой системы [Бокерия Л.А. с соавт., 1998, 2002; Беленков Ю.Н., 2002,2003]. Утрата части функционирующего миокарда вследствие инфаркта, повторяющихся ишемий, сопровождается комплексом структурных изменений, включающих как поврежденные, так и неповрежденные участки миокарда. Эти изменения в структуре и геометрии камер сердца, именуемые "ремоделированием сердца", часто предшествуют клиническому проявлению сердечной недостаточности, могут самостоятельно усугублять систолическую и диастолическую дисфункцию желудочков и отрицательно влиять на качество жизни и прогноз больных. (В.Г.Флоря с соавт., 1997). В строгой интерпретации "ремоделирование" означает процесс переустройства существующей структуры, когда к ней присоединяется новый материал либо она целиком изменяется. В более широком понимании ремоделирование сердца означает процесс комплексного нарушения структуры и функции

сердца в ответ на повреждающую перегрузку или утрату части жизнеспособного миокарда. Процесс ремоделирования сердца в первую очередь включает увеличение массы миокарда, дилатацию полостей, а также изменение геометрических характеристик желудочков (Капелько В.И. с соавт., 1997). Среди больных ИБС особо тяжелый контингент представляют больные с низкой сократительной способностью миокарда левого желудочка (ЛЖ) после перенесенных инфарктов миокарда (ИМ) [Бокерия Л.А. с соавт., 2005]. Вероятность неблагоприятного прогноза прогрессивно нарастает по мере снижения фракции выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ). Так, 5-ти летняя выживаемость больных ИБС с ФВ ЛЖ ниже 35%, которым проводили только медикаментозное лечение по данным различных исследователей, колеблется от 4% до 25% [Бокерия Л.А., с соавт., 2005].

До половины больных данной категории, госпитализированных по поводу СН, имеют нормальную систолическую функцию ЛЖ. Данные о прогнозе повторных госпитализаций этих больных противоречивы, но недавно было показано, что долгосрочный прогноз и риск повторных госпитализаций у них такой же, как при систолической дисфункции ЛЖ [Zile M.R., Brutsaert D.L., 2002].

В настоящее время общеизвестно, что традиционные методы фармакологического лечения направлены на защиту и поддержание деятельности сохранного миокарда, не вовлеченного в зону рубца. Методы прямой реваскуляризации миокарда, применяемые в настоящее время, не являются панацеей при лечении ИБС. В 20-30% после выполненных коронарных ангиопластик возникает рестенозирование коронарных артерий (КА) в течение шести месяцев. Несколько больший процент развития рестенозов регистрируется при эндартерэктомиях, лазерных интракоронарных аблациях и других физических методах, восстанавливающих просветы (КА). Близкие по характеру проблемы стоят

при коронарном шунтировании (КШ). Приблизительно в 25-30% случаев, калибр КА недостаточен для эффективного КШ [В.И. Бураковский, 1988; D. Effler 1971], более того часть КА подвержена диффузным изменениям, и они так же являются нешунтабельными. Не менее сложна и проблема эффективной помощи больным, перенесшим две и более операции АКШ и множественные ангиопластические процедуры [Кнышев Г.В. 1994, Salomon N. 1990, Verheul H. 1991]. Единственным способом радикального лечения остается применение тканевых трансплантатов сердца или сердечно-легочных комплексов. В мире ежегодно проводится 2,7—4,5 тыс. трансплантаций сердца и комплекса «сердце - легкие» [Taylor D.O., Edwards L.B., 2006, Trulock E.P., Edwards L.B., 2006]. Однако, такие операции очень травматичны, высок процент летальности, обязательна серьезная медикаментозная поддержка для предотвращения отторжения из-за иммунологической несовместимости, подходящий трансплантационный материал дефицитен, и очередь на такую операцию можно ожидать несколько месяцев, сокращая, тем самым, для многих шанс выжить.

Развитие молекулярной и клеточной биологии в конце ХХ - начале ХХI века позволило использовать клеточный материал в качестве средства для лечения многих заболеваний. В настоящее время клеточная терапия используется для лечения сахарного диабета (СД), различных форм печеночной недостаточности, болезни Паркинсона. Заместительная регенеративная клеточная терапия представляется наиболее перспективным инновационным методом в борьбе с функциональными и структурными изменениями миокарда.

Метод клеточной трансплантации в настоящее время считается наиболее перспективным для стимуляции регенерационно-репаративных процессов в миокарде. Выделяют 3 основных подхода к решению данной задачи - сущность первого подхода заключается в трансплантации клеток (ТП) в

миокард с целью заместить недостаток сократительных элементов в сердечной мышце. В научной литературе с 1995 года стали появляться публикации, описывающие на экспериментальных моделях положительный эффект трансплантированных в миокард клеток, призванных активно участвовать в систоле сердца: эмбриональных кардиомиоцитов [Li R.K, et al.,1996], скелетных миобластов [Murry C.E, et al.,1996;]; гладкомышечных клеток [Yoo K.J, Li R.K, Weisel R.D, 2000], дифференцированных в кардиомиогенном направлении мезенхимальных стволовых клеток костного мозга [Ларионов П.М., 2004; Караськов А.М.,2007; Tomita S, Li R.K, Weisel R.D, 1999 ]; генномодифицированных клеток [Murry C.E, Kay MA, Bartosek T, 1996 ]. Второй подход предусматривает применение метода ТП клеток с целью стимулировать репаративные процессы в миокарде. Возможность с помощью метода клеточной ТП добиться уменьшения размеров постинфарктного рубца, с улучшением его эластических свойств и уменьшением зоны постинфарктной аневризмы показана в экспериментальных работах [Sakai T, Li R.K, Weisel R.D,1999]. И наконец, третий подход ТП клеток преследует своей целью стимулировать рост новых сосудов для ликвидации ишемии миокарда (неоангиогенез). Интерес исследователей к стимуляции развития новых кровеносных сосудов в миокарде значительно вырос в последние годы. Рост новых сосудов - т.е. "неоангиогенез" - процесс, который может компенсировать дефицит перфузии ишемизированных областей. Неоангиогенез может быть реализован путем введения различных факторов роста, генной терапией, а также трансплантацией клеток предшественников сосудистого эндотелия и клеток, принимающих участие в регуляции роста капиллярных сетей [Sakai T, Li R.K, Weisel R.D,1999].

## **1.1 Ишемическая дисфункция миокарда: прогноз, стратегия лечения**

Несмотря на значительные достижения в лечении сердечно-сосудистых заболеваний, распространенность хронической сердечной недостаточности (ХСН) не только не снижается, но и неуклонно увеличивается, рост заболеваемости которой напоминает неинфекционную эпидемию (Беленков Ю.Н. и соавт., 2009; Тепляков А.Т., Куликова Н.В., 2010; Braunwald E., 1997; Redfield M.M., 2002).

Ишемическая болезнь сердца является одной из главных причин в развитии сердечной недостаточности. Повреждение сердечной мышцы во время острого инфаркта миокарда приводит к ремоделированию полости левого желудочка, происходят структурно-морфологические изменения в зоне повреждения, что в свою очередь приводит к ухудшению сократительной способности миокарда с дальнейшим развитием явлений сердечной недостаточности. Ранние изменения объема и геометрии ЛЖ имеют важное прогностическое значение для пациентов, перенесших ИМ. Даже относительно небольшое увеличение конечного систолического и конечного диастолического объемов ЛЖ после ИМ в 4-5 раз увеличивает риск смерти. Работы, проведенные в Институте клинической кардиологии им. Мясникова, а также другие источники показывают, что конечный систолический объем ЛЖ через 1 месяц после ОИМ является самым строгим предиктором выживаемости, превышающим значение фракции выброса. При позднем постинфарктном ремоделировании в процесс вовлекается оставшийся неповрежденным или сократительный миокард (Яновский Г.В. с соавт., 1991). Разграничение дисфункции желудочков на систолическую и диастолическую подчеркивает преимущественные нарушения процесса сокращения и расслабления миокарда. В исследованиях последних лет предлагается рассматривать систолическую дисфункцию, выражющуюся в

снижении сократимости миокарда, как следствие структурного изменения желудочков, в первую очередь их дилатации (The Lancet, 1998).

Согласно Европейским рекомендациям ACC/AHA, 2005, ХСН определяется как "патофизиологический синдром, при котором в результате того или иного заболевания сердечно-сосудистой системы происходит снижение насосной функции, что приводит к дисбалансу между гемодинамической потребностью организма и возможностями сердца". Под ишемической дисфункцией миокарда понимают комплекс структурно-функциональных изменений миокарда, обусловленных его ишемией, с последующей дилатацией камер сердца и возникновением ХСН. В последнее время представление о механизмах развития ХСН, обусловленной ишемией, значительно расширилось. В её возникновении и прогрессировании важная роль отводится процессам ремоделирования, гибернации (hibernation), «оглушения» (stunning), прекондиционирования (preconditioning) миокарда и другим факторам [Dzemali O., et al., 2009, Kumar S., et al., 2009, Ruzylo W., et al., 2004, Sliva K., et al., 2004]. Одной из ведущих причин формирования ХСН при ИБС является ремоделирование ЛЖ [Slezak J., et al., 2009]. Оно может быть обусловлено как острой (инфаркт миокарда (ИМ)), так и хронической ишемией миокарда. При полном прекращении кровотока в КА спустя примерно 20 мин возникает некроз соответствующего участка сердечной мышцы, при котором восстановление его сократительной функции становится невозможным. Во время острой локальной ишемии нарушается и глобальная сократительная функция желудочков, что, обусловлено накоплением в миокарде неорганических фосфатов, вызванным резким падением содержания аденоинтрифосфата (АТФ) и креатинфосфата. В последующем в зоне повреждения миокарда происходят процессы рубцевания и так называемого постинфарктного ремоделирования миокарда - динамического структурно-функционального переустройства миокарда и камеры ЛЖ, связанного с наличием участка постинфарктного некроза или

рубца, приводящего к нарушению его геометрии и развитию систолической и диастолической дисфункции [Dzemali O., et al., 2009].

Под термином станированный (оглушенный) миокард (stunned myocardium) понимают состояние постишемической транзиторной (обратимой) контрактильной дисфункции миокарда, которая возникает и сохраняется после реперфузии, несмотря на стойкое восстановление нормального коронарного кровотока и отсутствие необратимых изменений в кардиомиоцитах [Kloner R.A., et al., 1998]. После реперфузии происходит постепенное отсроченное восстановление сократительной функции миокарда, зависящее от длительности и тяжести ишемического повреждения.

Под термином гибернирующий (спящий) миокард (hibernating myocardium) понимают состояние его персистирующей дисфункции вследствие гипоперфузии с возможностью полного или частичного восстановления функции после реваскуляризации [Sliva K., et al., 2004]. При гибернации миокарда тканевая перфузия достаточна для поддержания ионных потоков и существования кардиомиоцитов, но не достаточна для их нормальной сократимости, кардиомиоциты остаются жизнеспособными в течение длительного времени, и даже через несколько лет при устраниении ишемии их функция может восстановиться.

Определенное значение в развитии ХСН при ИБС имеет феномен ишемического прекондиционирования, под которым понимают изменения механических и электрофизиологических свойств участка миокарда при повторяющихся эпизодах его ишемизации. Впервые феномен ишемического прекондиционирования был обнаружен Lange R. et al., 1984.

При выборе лечебной тактики у пациентов с низкой ФВ ЛЖ, при невозможности выполнения хирургического лечения из-за тяжести состояния, на сегодняшний день медикаментозное лечение современными

группами препаратов является основным. Однако лекарственные препараты, медицинские интервенции, не всегда эффективны и доступны на тяжелых стадиях ХСН. В результате проведенных в последние десятилетия научных исследований, разрабатываются различные новые технологии лечения ИБС. В частности, с начала 2000-х годов проводятся активные исследования возможностей применения различных типов стволовых клеток (СК) для терапии данной патологии

## **1.2 Клиническая значимость неоангиогенеза при ИБС**

Ятрогенный неоангиогенез представляет собой новую тактику улучшения перфузии ишемизированных тканей с помощью усиления естественных, но недостаточных процессов неоваскуляризации. Разработке этой лечебной тактики способствовало развитие современных представлений о молекулярных и клеточных механизмах регуляции роста и ремоделирования кровеносных сосудов. Толчок к интенсивному исследованию этих механизмов был дан Folkman J., предложившим гипотезу о том, что прогрессирующее развитие злокачественных опухолей зависит от их васкуляризации [Folkman J., 1971]. Было показано, что опухоль продуцирует в большом количестве фактор, стимулирующий рост сосудов, который вскоре после этого Svet-Moldavsky G.J, Chimishkyan KL. предложили использовать для реваскуляризации ишемизированного миокарда и лечения ИМ [Svet-Moldavsky G.J, Chimishkyan K.L., 1977]. В дальнейшем большое количество экспериментальных и некоторые небольшие нерандомизированные исследования показали огромный терапевтический потенциал данной концепции. Однако, по данным больших плацебо-контролируемых клинических исследований не подтвердилась однозначная эффективность стимуляции ростовыми факторами направленного неоваскулогенеза в ишемизированном миокарде.

Рост и образование сосудов в постнатальном периоде развития организма осуществляется через ангиогенез, артериогенез и васкулогенез. Ангиогенез представляет собой образование новых капилляров от посткапиллярных венул, которое осуществляется через активацию эндотелиальных клеток (ЭК), экспрессию в них протеаз, деградацию внеклеточного матрикса, пролиферацию и миграцию этих клеток, образование ими первичных высокопроницаемых сосудистых структур, последующую стабилизацию и "взросление" этих структур за счет привлечения перицитов и гладкомышечных клеток (ГМК) и организации их в сложную трехмерную сосудистую сеть [Головнева Е.С., с соавт., 2003; Carmeliet P., 2000]. Основным стимулом к ангиогенезу при физиологических и патологических состояниях является недостаток кислорода (гипоксия или ишемия), который через активатор транскрипции факторов ангиогенеза – индуцируемый гипоксией фактор-1 (HIF-1), индуцирует экспрессию многих ангиогенных факторов и прежде всего основного регулятора ангиогенеза как в эмбриональном, так и в постнатальном периоде развития организма – фактор роста (ФР) эндотелия сосудов (VEGF) и его рецепторов. VEGF избирательно стимулирует пролиферацию и миграцию ЭК, их предшественников и моноцитов, экспрессирующих рецепторы к нему, увеличивает сосудистую проницаемость, способствуя пропотеванию белков плазмы в околососудистое пространство, которое необходимо для миграции ЭК, индуцирует экспрессию эндотелиальной NO-синтазы и образование NO, что способствует вазодилатации и стимулирует экспрессию протеаз, разрушающих связи между ЭК и внеклеточным матриксом, что необходимо для направленной миграции клеток. В процессе стабилизации и "взросления" вновь образованной незрелой сосудистой сети участвует ряд факторов: ангиоэтин-1, подавляющий пролиферацию ЭК, уменьшающий сосудистую проницаемость, способствующий привлечению перицитов; тромбоцитарный ФР (PDGF), привлекающий перициты и ГМК; трансформирующий ФР-бета 1 (TGF-beta 1), стимулирующий синтез белков матрикса. Процесс ангиогенеза

строго регулируется ФР во времени и пространстве, и это необходимо учитывать при планировании тактики терапевтического ангиогенеза. Недостаточный физиологический ангиогенез, обусловленный недостаточной продукцией ФР или экспрессией их рецепторов, либо увеличенной продукцией его ингибиторов, может способствовать нарастанию тяжести ишемических заболеваний (ИБС, хронической ишемии нижних конечностей). Ангиогенез приводит к увеличению плотности капиллярной сети в ишемизированных тканях и уменьшению периферического сосудистого сопротивления, что необходимо для обеспечения перфузии тканей, однако без артериогенеза он недостаточен для полноценной реваскуляризации.

Артериогенез – формирование коллатеральных сосудов из нефункционирующих артериолярных соединений – представляет собой наиболее эффективный процесс реваскуляризации, обеспечивая кровоток в обход места окклюзии. Важнейшим стимулятором артериогенеза является увеличение напряжения сдвига выше места окклюзии, обусловленное увеличением кровотока, что способствует экспрессии молекул адгезии ЭК и последующей аккумуляции моноцитов в стенке сосуда, секretирующих большое количество ФР, из которых основными регуляторами артериогенеза являются ФР фибробластов (FGF), а также PDGF, VEGF и CXС-хемокины [Герасимов Ю.В., с соавт., 1986; Wustmann K, et al., 2003]. В многочисленных работах показана значительная индивидуальная вариабельность состояния естественных механизмов неоваскуляризации, вероятно, генетически детерминированных, что может влиять и на эффективность ангиогенной терапии [Schultz A., et al., 1999; van Royen N, et al., 2004; Panchal V., et al. 2004].

Васкулогенез – это формирование *in situ* кровеносных сосудов из прогениторных ЭК. Васкулогенез тесно ассоциирован с ангиогенезом и является обязательным участником формирования новых сосудистых отростков и неоваскуляризации, как физиологической (в ишемизированных

тканях) [Pavan Atluri M.D., 2008], так и патологической (в опухолях) [Smadja D.M., et al., 2007; Dong C, 2007]. Цель терапевтического ангиогенеза – обеспечить реваскуляризацию ишемизированных тканей за счет стимуляции естественных процессов образования и роста сосудов. Стратегия ангиогенной терапии включает в себя снабжение этих тканей экзогенными факторами роста в виде рекомбинантных белков или генетических конструкций, стволовыми или прогениторными клетками, мобилизацию эндогенных стволовых и прогениторных клеток из костного мозга или тканевого депо, а также сочетание этих воздействий.

### **1.3 Терминология и виды стволовых клеток, их применение в клинической практике при ИБС**

Миокардиальная репарация по современным представлениям может рассматриваться как результат трех процессов: имплантация клеток, восстановление или реконструкция (активация резидентных кардиальных стволовых клеток (СК) или других СК через паракринные или аутокринные механизмы, модуляция апоптоза, воспаления, ангиогенеза или клеточного метаболизма) и регенерация (прогениторные или стволовые клетки встраиваются и формируют зрелые клеточные типы) [Lim H, 1999; Murry C.E, 2005; Gersh B.J., et al., 2009; Forrester J.S., 2009]. Традиционно кардиомиоциты считаются зрелыми дифференцированными клетками, отвечающими на повреждение гипертрофией, а не гиперплазией [Mathur A., 2004]. Однако в недавних клинических исследованиях был показан регенеративный потенциал кардиомиоцитов [Bergmann O., et al., 2009].

Термин «стволовые клетки» был введен в 1908 году русским гистологом, профессором военно-медицинской академии Санкт-Петербурга А.А. Максимовым. Исследуя развитие клеток крови, он обнаружил группу клеток, каждая из которых при делении обладает двумя разными функциями: одна трансформируется в ту или иную клетку периферической крови, вторая —

продолжает деление. Поскольку при схематическом изображении процесса делящиеся клетки формируют подобие ствола, ученый и решил назвать клетки-предшественницы стволовыми.

Первые эксперименты по практическому использованию стволовых клеток были начаты еще в начале 1950-х годов. Только в конце 60-х были получены убедительные данные о возможности применения трансплантации костного мозга при лечении острых лейкозов. В 1981 году американскому ученому Мартину Эвансу впервые удалось выделить недифференцированные плюрипотентные линии СК из эмбриобласта (внутренней клеточной массы) бластоциты мыши. В 1998 году американскими учеными Джеймсом Томсоном и Джоном Беккером удалось выделить человеческие эмбриональные стволовые клетки и получить их первые линии. 1999 год – Журнал «Science» признал открытие эмбриональных стволовых клеток третьим по значимости событием в биологии после расшифровки двойной спирали ДНК и программы «Геном человека» [Thompson C.A., Nasseri B.A. et al 2003].

Таким образом, СК – популяция незрелых тканевых клеток-предшественников, способных к самообновлению, формированию новой ткани, либо её замещению. Стволовые клетки отличаются от других типов клеток. Все стволовые клетки, независимо от их происхождения, обладают тремя важными свойствами - они делятся и самообновляются, не обладают какими-либо специфическими функциями и могут давать начало другим специализированным клеткам.

Лекарственные препараты, медицинские интервенции и трансплантация сердца, являющиеся распространенными современными методами больных с ССЗ, не всегда эффективны и доступны на тяжелых стадиях СН. Для преодоления этой ограниченности, в результате проведенных в последние десятилетия научных исследований, разрабатываются различные новые

технологии лечения ИБС. В частности, с начала 2000-х годов проводятся активные исследования возможностей применения различных типов стволовых клеток для терапии данной патологии [Jackson K.A., 2001; Abdel-Latif A., et al. 2007]. Стволовые клетки обладают не только способностью к самообновлению, но также и мультипотентностью, они могут дифференцировать в различные типы клеток, включая кардиомиоциты.

### **1.3.1. Возможности применения эмбриональных стволовых клеток**

Первые линии мышиных эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) были получены M. Evans и M. Kaufman (1981). B. Томсон с коллегами (1995) модифицировав технологию выделения мышиных клеток, получил линию ЭСК приматов, а в 1998 г. — и линию клеток человека. В нашей стране ЭСК получены в 2003 г. в Институте биологии гена РАН и в Институте цитологии РАН [Бокерия Л.А., 2005]. С тех пор ЭСК рассматриваются как средство регенеративной и заместительной клеточной терапии, в том числе и миокарда, однако только в 90-х годах XX в. начались широкие исследования способов направленной дифференцировки ЭСК в клетки миокарда с целью их дальнейшего использования для оптимизации его регенерации [Шевченко Ю.Л., 1999; Mummary C. et al., 2002; Xu C., 2002]). При соблюдении определенных правил культивирования ЭСК могут осуществлять неограниченное количество митотических делений и сохранять способность дифференцироваться в любой вид соматической клетки, в том числе и в кардиомиоциты [Klug et al., 1996; Gryshchenko O. et al., 2000, Mummary C. et al., 2002; Wang J.S et al.; 2000, Xu C., 2002]. В 2001 г. удалось дифференцировать человеческие ЭСК в кардиомиоциты, обладающие специфическими структурными и функциональными характеристиками [Levenberg S., et al., 2002].

ЭСК полученные из эмбриональных тканей обладают огромным потенциалом для органной регенерации, являются прототипами СК [Segers

V.F, 2008; Beltrami A, et al., 2003], могут дифференцироваться в различные типы клеток, включая кардиомиоциты. Однако их способность к плюрипотентной пролиферации лимитируется их неопределенным терапевтическим потенциалом, сопряжена с высоким риском тератом, аритмогенностью субстрата [Huber I., et al., 2007; Tomescot A., et al., 2007]. Ограничением клинического использования эмбриональных клеток так же является их иммуногенность вследствие их аллогенного происхождения [Sarić T, 2008]. Более того этические и социальные аспекты затрудняют их преклиническое и клиническое использование [Passier R., 2008; Murry C.E, 2008].

### **1.3.2 Региональные стволовые клетки**

Региональные СК (мультипотентные СК), немногочисленная популяция частично коммитированных клеток, являющихся предшественниками дифференцированных клеток, типичных для тканей в которых они располагаются. Способны на протяжении всей жизни организма, в том числе и на этапе эмбриогенеза, поддерживать соответствующий клеточный компартмент [Репин В.С., 2002]. СК способны к длительному пребыванию в покоящемся состоянии (фазе G<sub>0</sub> клеточного цикла), а при стимуляции - к самовоспроизведению (практически неограниченному числу симметричных делений с воспроизведением дочерних клеток без потери мультипотентности) либо к ассиметричным митотическим делениям с воспроизведением унипотентных (частично дифференцированных) дочерних клеток [Li C.L., 1995; Репин В.С., 2002]. СК способны мигрировать в пределах ткани, из которых они происходят и вне ее [Huss R.N., 2000].

Региональные СК (кожи, сосудов, нервной ткани и других) находятся в соответствующих тканях и дифференцируются в клетки этих тканей. Выделяют несколько видов региональных СК. Нейрональные СК в головном мозге (NSC), которые дают начало трем основным типам клеток: нервным

клеткам (нейронам) и двум группам не нейрональных клеток - астроцитам и олигодендроцитам. СК кожи, размещенные в базальных пластиах эпидермиса и возле основы волосяных фолликулов, могут давать начало кератиноцитам, которые мигрируют на поверхность кожи и формируют защитный слой кожи. СК скелетной мускулатуры - выделяют из поперечно полосатой мускулатуры, они способны к дифференцировке в клетки нервной, хрящевой, жировой и костной тканей, поперечнополосатой мускулатуры. Последние исследования показывают, что клетки скелетной мускулатуры, это не что иное, как мезенхимные СК, локализованные в мышечной ткани. СК миокарда - способны дифференцироваться в кардиомиоциты и эндотелий сосудов. СК жировой ткани - обнаружены в 2001 году, проведенные с тех пор дополнительные исследования показали, что эти клетки могут превращаться и в другие типы тканей, из них можно выращивать клетки нервов, мышц, костей, кровеносных сосудов или, по крайней мере, клетки, имеющие свойства вышеперечисленных. Стромальные клетки спинного мозга (мезенхимальные СК) дают начало разным типам клеток: костным клеткам (остеоцитам), хрящевым клеткам (хондроцитам), жировым клеткам (адипоцитам), а также другим типам клеток соединительной ткани.) Эпителиальные СК пищеварительного тракта расположены в глубоких складках оболочек кишечника и могут давать начало разным типам клеток пищеварительного тракта.

В настоящее время по способу получения выделяют две группы СК: аллогенные СК (полученные из донорского материала), аутологичные или собственные СК. В кроветворной ткани взрослого человека одна СК приходится на 2-10 млн. коммитированных гемапоэтических клеток (т.е. клеток разной степени дифференцировки). С возрастом в костном мозге уменьшается не только общее количество гемапоэтических СК, но особенно количество мезенхимальных СК. Так, если сразу после рождения в костном мозге на 10000 гемапоэтических СК приходится одна стромальная СК, то у

подростков этих клеток уже в 10 раз меньше; к 50 годам на 500000 кроветворных СК – приходится 1 стромальная СК, а в 70 лет 1 стромальная СК приходится на 1 млн. гемопоэтических СК.

Сегодня предметом актуальных споров и обсуждений является такое свойство региональных СК, как «пластичность», т.е. способность к редифференцировке с изменением спектра дифференцировочного потенциала. Согласно общепринятым представлениям коммитирование и дифференцировку клеток рассматривают как многоступенчатый, односторонний и необратимый процесс [Prockop D.G., 1997]. Фенотип региональных СК различается в зависимости от органной принадлежности, но одни и те же СК, мигрируя в другой орган, могут менять фенотип и дифференцировочный потенциал под влиянием нового микроокружения. [Verfaillie C.M., 2000]. В большинстве случаев пластичность СК проявляется в экспериментах моделирующих патологический процесс. Так вовлечение ГСК в процесс неоваскуляризации описано на ишемической модели [Asahara N., et al., 1999]. Установление пластичности СК стимулирует поиск новых неординарных решений по использованию региональных СК в клеточной трансплантологии, в том числе и для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы.

### **1.3.3 Стволовые клетки костномозгового происхождения**

Красный костный мозг (КМ) взрослых млекопитающих, и человека в том числе, содержит СК. Среди них выделяют гемопоэтические СК, способные пролиферировать и дифференцироваться в элементы крови, и мезенхимальные стромальные стволовые клетки (МСК), которые могут развиться в мезенхимальные ткани: мозг, хрящ, мышцы, связки, сухожилия, жировую ткань, нейроны [Герасимов Ю.В. и др., 1986; Лурия Е.А. и др., 1996; Фридленштейн А.Я. и др., 1970; Ashton B.A. et al, 1980; Friedenstein A.J et al, 1987; Hung S.C. et al, 2002; Klug M.G. et al, 1996; Mackenzie T.C. et al,

2001; Pittenger M.F. et al, 1999; Prockop D.J. et al, 1997; Quirici N. et al, 2001; Sanchez-Ramos J. et al, 2000]; эндотелиальные прогениторные клетки, которые дифференцируются в ЭК сосудов, однако ряд авторов рассматривает ЭПК в рамках МСК.

Для выделения СК данных видов используются различные методики. Полученный с помощью трепанобиопсии костный мозг отмывают от мегакариоцитов и эритробластов, а затем с помощью проточной цитофлюметрии освобождают материал от гранулоцитарного ростка и определяют количество клеток в 1 мл полученной суспензии. Такой материал получил название «мононуклеарная фракция костного мозга» (по сути «лейкомассы»), в которой на 100 тыс. мононуклеаров содержится 1 истинная МСК (у лиц старше 50 лет — на 500 тыс. мононуклеаров), а также и ЭПК. Кроме того, эта суспензия содержит большое количество биоактивных веществ, ФР и дифференцировки. Для выделения фракции МСК необходимо длительное и дорогостоящее культивирование мононуклеарной фракции в течение 1,5 мес на специализированных питательных средах. Для получения чистой популяции ЭПК требуется культивирование с ЭСФР, а для получения чистой популяции кардиомиоцитов — с 5-азацитидином [Orlic D., 2002].

Токсичность и терапевтические возможности аутологичных СК костномозгового происхождения были оценены на экспериментальной модели ИБС у собак Hamano et al., 2002. Через тридцать дней после лигирования ПНА была произведена имплантация аутологичных СК костномозгового происхождения как в инфарцированный миокард, так в перииинфарктную зону и здоровый миокард. Животным контрольной группы выполнялась инъекция фосфатного буфера в соответствующие зоны миокарда. Оценка функции миокарда и локальной сократимости была произведена по данным ЭХОКГ через тридцать дней после имплантации СК. Оценка процессов ангиогенеза проводилась с помощью подсчета

микрососудов с использованием световой микроскопии. Значительное увеличение толщины стенки в месте инъекции и плотности микрососудов было выявлено только в перирубцовой зоне миокарда животных исследуемой группы. Других различий между группами выявлено не было. Также не выявлено ни системной, ни локальной токсичности СК [Hamano K. et al, 2002].

Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) являются предшественниками целого ряда тканей человека и имеют широкий спектр возможного применения в трансплантационной медицине, обнаружены и выделены из костного мозга, жировой и мышечной тканей, плаценты и пупочного канатика [Majumdar M.K., 2003]. Ряд исследований демонстрирует способность МСК дифференцироваться в функциональные кардиомиоциты и сосудоподобные структуры [Makino S. et al, 1999; Min J-Y. et al, 2002; Shake J.G. et al., 2002; Toma C. et al, 2002; Thompson C.A. et al, 2003], приводя к улучшению функции левого желудочка и препятствуя прогрессированию ремоделирования [Schuleri K.H, 2008; Bartunek J, et al, 2011, 2012]. Они дифференцируются в кардиомиоциты и ЭК *in vivo* после трансплантации, как в неповрежденное сердце, так и после моделирования инфаркта миокарда. Иммуногистохимические характеристики этих клеток четко определены, они позитивны как для специфических маркеров сердца и эндотелия, так и белков соединительной ткани. МСК представляют активно изучаемый тип СК, перспективных для восстановления поврежденной ткани миокарда.

Важным терапевтическим эффектом трансплантации МСК при ИМ является их паракринный эффект. МСК секретируют многочисленные цитокины и ростовые факторы, стимулирующие выживание, рост и дифференцировку других клеток в зоне ИМ, включая резидентные сердечные СК [Aggarwal S., 2005; van Ramshorst et al., 2009]. Более того, МСК являются иммунопривилегированными клетками, следовательно, аллогенные МСК

могут успешно применяться наряду с аутологичными МСК. В 1999 г. Makino и соавт. получили кардиомиогенную клеточную линию из МСК костного мозга мышей путем обработки МСК 5-азацитидином *in vitro*. Было показано, что в этом случае примерно 30% клеток дифференцировались в кардиомиоциты, экспрессировавшие ряд специфических генов и имевшие фенотип, сходный с таковым у фетальных желудочковых кардиомиоцитов. Аналогичные результаты продемонстрировали Tomita и соавт. (1999), вызывавшие криоповреждение миокарда воздействием жидкого азота. Другими исследователями было показано, что МСК, наряду с образованием кардиомиоцитов, формировали ГМК и ЭК, что также способствовало улучшению функции сердца. В 2001 году Wang и соавторы выдвинули гипотезу о том, что микроокружение в миокарде создает определенные условия и сигналы для кардиомиогенной дифференцировки МСК [Wang J.S., 2001].

МСК обладают рядом свойств, которые делают их предпочтительными для трансплантации пациентам, страдающим ИБС: МСК при локальном или системном введении способны к хоумингу – миграции в мишеннюю ткань, в поврежденные участки сердечной мышцы, они иммунопривилегированы, апоптоз пересаживаемых МСК ниже, чем у многих других видов СК; МСК способны дифференцироваться в кардиомиоциты, между образующимися из МСК кардиомиоцитами присутствуют вставочные диски со щелевыми контактами для проведения потенциалов возбуждения к пересаженным клеткам от кардиомиоцитов хозяина; трансплантируемые МСК обладают мощным паракринным эффектом.

В то же время для МСК не было описано случаев реакции «трансплантат против хозяина», что имеет место при пересадках костного мозга из-за образования иммунокомpetентных клеток, не толерантных к тканям реципиента [Плотников Е.Ю., с соавт., 2009; Grauss W.Robert, 2007].

Наконец, МСК могут быть получены не только из костного мозга, но и из жировой ткани [Tomita S, Li R.K, 1999; Planat-Bénard V, Menard C, 2004; Planat-Benard V, Silvestre J.S, 2004; Mazo M, 2008]. В большинстве случаев другие способы получения МСК не столь эффективны, как выделение из костного мозга, однако такие клетки обладают всеми фенотипическими характеристиками МСК и мультипотентностью.

Стволовые клетки костномозгового происхождения, стимулированные ростовыми факторами, гранулоцитарным колонистимулирующим фактором, способны достигать зоны инфаркта, как и к дальнейшему размножению, дифференцировке и миокардиальной репарации. В этом отношении, терапевтическое использование мононуклеарной фракции костного мозга может быть более полезным и перспективным, чем применение какого-либо одного типа клеток [Amado L.C, 2006]. Эффект от применения более гетерогенной мононуклеарной фракции костного мозга, которая содержит небольшое количество СК, может также указывать на участие множества факторов сосудистого роста и цитокинов костномозгового происхождения, которые тоже регулируют клеточный рост и регенерацию через механизм клеточной секреции.

Для полноценной регенерации миокарда СК должны не просто дифференцироваться в кардиомиоциты, а еще и полностью интегрироваться в миокард с образованием соответствующих электрических и цитоплазматических связей. Иначе даже дифференцировавшиеся в кардиомиоциты клетки, не включившись в единый функциональный синцитий сердечной мышцы, не только не улучшат функционирование поврежденного миокарда, но могут стать источниками аритмий [Chang M.G., Tung L., 2006; Shang L.L., Dudley S.C. J, 2006], угрожающих жизни реципиента.

Гемопоэтические СК (гемопоэтическая фракция костного мозга CD34+, lin-, c-kit+) претерпевают процесс самообновления, дифференцируются в специализированные унипотентные клетки, выделяются из костного мозга в кровоток и подвергаются апоптозу. Клеточная терапия ГСК применяется при гемобластозах, онкологических заболеваниях и заболеваниях иммунной системы. На сегодняшний день нет единого мнения, относительно способности ГСК дифференцироваться в кардиомиоциты. Например, C. Murry и соавт. (2004) вводили ГСК интрамиокардиально в нормальную сердечную мышцу и в область ИМ на модели мышей. Методом контроля миграции клеток являлись различные генные технологии. Результатом данного исследования было утверждение, что ГСК не дифференцируются в кардиомиоциты [Strauer B.E.,2002; Schachinger V., 2004; Britten M.B., 2003]. Однако в ряде работ была показана возможность дифференцировки выделенных из аспираата костного мозга ГСК в миоциты, а также их неоваскулогенный потенциал [Rehman J, 2003, Gersh B.J.; 2009, Orlic D., 2001].

### **1.3.4 Скелетные миобласти**

Скелетная мышечная ткань, в отличие от других видов мышечной ткани, способна регенерировать и самообновляться в связи с наличием незрелых клеток-сателлитов или миобластов (однако данный тип клеток не является по сути стволовыми). *In vitro* скелетные миобласти формируют мышечные трубочки, которые экспрессируют характерные для скелетной мускулатуры генные последовательности, в том числе миогенин — фактор транскрипции генов белков скелетной мускулатуры. M. Scorsin и соавт. (1997) в эксперименте на модели крыс показали, что эффективность миобластов можно сравнить с эффектом действия фетальных кардиомиоцитов в отношении улучшения функции сердца (контроль ЭхоКГ) при перевязке КА [Scorsin M.,1997]. Наблюдалась строгая корреляция между количеством

введенных миобластов и улучшением ФВ ЛЖ. Следует отметить, что скелетные миобласти устойчивы к ишемии, и это позволяет им выживать и функционировать в ишемизированном миокарде с обедненным кровотоком. [Taylor D. A., 1998; Agbulut O, et al., 2004; Abraham M.R., 2005]. Подобный феномен чаще всего и наблюдается у больных ИБС с ХСН. В дальнейшем, во многих исследованиях были продемонстрированы аналогичные результаты, H. Reinecke и соавт. (2000) поставили под сомнение способность скелетных миобластов дифференцироваться до кардиомиоцитов [Reinecke H., 2000]. Однако позже выполненные работы показали возможность применения скелетных миобластов в качестве кандидатов для клеточной кардиомиопластики [Menasché P., 2007, 2008; Siminiak T, 2005]. Применение скелетных миобластов в качестве источника клеточной кардиомиопластики представляет собой прекрасную перспективу: простая методика лабораторного выделения с помощью биопсии мышцы, отсутствие иммунного ответа при трансплантации, а также этических проблем. Однако существует большое количество вопросов. Во-первых, необходимо установить, способны ли скелетные миобласти формировать межклеточные связи с окружающими кардиомиоцитами, чтобы эффективно функционировать в качестве синцития. Во-вторых, трансплантация скелетных миобластов резко увеличивает число случаев развития, угрожающих жизни желудочковых нарушений ритма как в исследованиях на животных, так и в клинических исследованиях I фазы вследствие природной электрической нестабильности миоцита [Menasché P, Alfieri O., 2008]. Во многих исследованиях это привело к необходимости имплантировать пациентам кардиовертеры-дефибрилляторы перед началом клеточной терапии. В-третьих, скелетная мышца морфологически отличается от сердечной мышцы, она не может поддерживать ритмичное сокращение и способна к развитию тетании и внезапной слабости. Впервые отмытые и специально подготовленные аутологичные миобласти из бедренной мышцы были введены в перирубцовую зону в 2000 г. профессором P. Menasche во

время операции АКШ [Menasche P., 2003]. Трансплантированные миобласти прижились в зоне ИМ, а больные отметили улучшение общего самочувствия. Однако высокая частота развития тяжелых нарушений ритма заставляла задуматься о целесообразности этого метода клеточной терапии. Интересными представляются результаты исследования, проведенного Smits Р.С. с соавторами в 2003 г. Интрамиокардиально вводились аутологичные скелетные миобласти в область рубца у 5 больных с ИКМП, перенесших обширный ИМ передней стенки ЛЖ. Выполняли биопсию четырехглавой мышцы бедра, клетки культивировали по стандартной методике, затем вводили в область рубца с помощью системы электромеханического картирования NOGA. Через 6 месяцев наблюдения были получены следующие результаты: увеличение ФВ ЛЖ через 3 месяцев с  $36\pm11$  до  $41\pm9\%$  и через 6 месяцев до  $45\pm8\%$  и толщины стенки миокарда в области инъекции по данным МРТ сердца. В 2004 г. были опубликованы данные исследования, изучавшего применения трансплантации аутологичных миобластов одновременно с ТЛАП [Siminiak T., 2005]. В исследовании участвовали 10 пациентов с ИМ в анамнезе любой локализации. С помощью нагрузочной ЭХОКГ с добутамином определяли области акинеза и дискинеза, и именно в данные зоны вводились аутологичные миобласти, полученные с помощью биопсии бедренной мышцы и культивированные стандартным методом. В результате ФВ ЛЖ увеличилась с 25 до 40% (в среднем до 35,2%) после процедуры, а затем с 29 до 47% (в среднем до 42%) через 4 мес. наблюдения, что и сохранялось до конца исследования. Однако у 2 пациентов в послеоперационном периоде развился эпизод желудочковой тахикардии, а еще у 2 больных — через 2 нед после применения клеточной терапии привело к необходимости применения профилактических доз амиодарона. Таким образом, для окончательного решения вопроса об эффективности клеточной кардиомиопластики с использованием скелетных миобластов необходимо проведение большого количества дополнительных исследований. Однако высокий риск фатальных желудочковых нарушений

ритма сердца создает большие потенциальные сложности в ведении этих больных. Необходимость имплантации им кардиовертеров-дефибрилляторов ставит под сомнение целесообразность разработки этого направления.

В открытом рандомизированном исследовании I фазы CAUSMIC проводилась оценка возможности и эффективности интрамиокардиальной доставки аутологичных скелетных миобластов с помощью системы электромеханического картирования и катетеризации у 23 пациентов с ИКМП (ИМ в анамнезе, ФВ $\leq$ 40%, ФК II—IV по классификации NYHA) [трайл CAUSMIC, 2007]. Скелетные миобlastы были получены с помощью биопсии мышц бедра. В качестве основного критерия оценки рассматривали безопасность метода, а дополнительным критерием являлась эффективность метода, оцененная на основании качества жизни, жизнеспособности миокарда и улучшения функции сердца. По завершении исследования было отмечено снижение ФК XCH (NYHA) через 6 и 12 мес. после процедуры. Следует отметить, что при контрольном электромеханическом картировании с помощью NOGA XP выявляются жизнеспособность и улучшение перфузии миокарда не только в области инъекции, но и в окружающих тканях. Осложнений не отмечалось. В свете таких положительных результатов началось большое исследование II фазы, в которое планируется включить 165 пациентов.

Необходимо отметить, что в отличие от предыдущих исследований, в опубликованных результатах нет упоминания о частоте желудочковых нарушений ритма и необходимости имплантации кардиовертеров-дефибрилляторов, что вызывает определенные сомнения, так как причиной нарушений ритма являются сами миобlastы, обладающие электрической нестабильностью [Dib N, et al., 2009]. В двойном слепом плацебо-контролированном исследовании MAGIC, результаты второй фазы которого были обнародованы в 2008 году, так же показаны положительные

результаты, улучшении качества жизни, достоверное увеличение ФВ ЛЖ [Menasché P, 2008], однако в данном исследовании всем пациентам имплантировался кардиовертер-дефибриллятор. Таким образом, несмотря на легкий способ выделения миобластов, аутологичность субстрата, отсутствие моральных и этических вопросов и положительные результаты экспериментальных и клинических работ, применение скелетных миобластов как источника материала для клеточной кардиомиопластики в терапии ССЗ, вероятнее всего, не целесообразно в связи с электрической нестабильностью самой клетки, а также высоким риском развития внезапной смерти и трудностями ведения таких пациентов (необходимость имплантации кардиовертеров-дефибрилляторов).

### **1.3.5 Стволовые клетки сердца**

В ряде недавних исследований было описано существование в миокарде «взрослых» млекопитающих популяции собственных СК. До этого существование СК сердца подвергалось сомнениям, поскольку сердечная мышечная ткань считалась полностью постмитотической тканью. Однако в ряде работ было описано присутствие в сердце пула делящихся клеток [Barile L, 2007; Bearzi C, 2007], которые были охарактеризованы по фенотипическим признакам и мультипотентности как стволовые. Данная субпопуляция клеток (Sca-1+, lin-, CD45-, CD31+, CD38+ c-kit+), располагалась в месте повреждения ткани и предположительно была в момент повреждения [Beltrami A.P., 2003; Li Z, 2009]. Клетки данной субпопуляции могут дифференцироваться в гладкомышечные ЭК и собственно кардиомиоциты, а трансплантация их мышам с инфарктом миокарда приводит к восстановлению органа [Bearzi C, 2007, Li Z, 2009; Fransoli J, 2008]. Были выделены СК миокарда взрослых мышей, а затем и человека. Клетки экспрессировали маркеры стволовых клеток c-kit, Sca и MDR, обладали высокой пролиферативной активностью и были способны

дифференцироваться в кардиомиоциты *in vivo* и *in vitro* [Beltrami A.P., 2003]. Появились первые данные о возможности выделения этих клеток и наращивания их *in vitro*, при этом не теряется их способность дифференцироваться, что делает возможным использование их в будущем для терапии ИМ [Gersh B.J., 2009; Kim B.O, 2005].

Следует отметить, что D. Orlic и соавт. (2001) выявил, что трансплантиация клеток lin-/c-kit+ способствовала регенерации миокарда, эндотелия и гладких мышечных клеток, а также улучшению сердечной деятельности у мышей с артериальной окклюзией; конечное диастолическое давление ЛЖ уменьшилось на 36%, а новые миоциты экспрессировали уже упомянутые MEF-2, GATA- 4 и коннексин [Orlic D., 2001].

### **1.3.6 Стволовые клетки периферической крови**

Доказано, что в периферической крови постоянно циркулирует определенная популяция СК — как правило, клетки CD34+. В исследованиях с использованием данного вида клеток в качестве источника клеточной терапии также демонстрированы положительные результаты. Например, в 2006 г. мексиканские ученые обнародовали предварительные результаты исследования по интрамиокардиальной трансплантации СК периферической крови у больных ИКМП и ДКМП без возможности альтернативной немедикаментозной терапии. В исследовании принимали участие 39 пациентов (34 мужчины, 5 женщин) в возрасте от 35 лет до 71 года, с терминальной стадией ИКМП (34 больных) и ДКМП (5 пациентов). Стволовые клетки выделяли из периферической крови посредством гемафореза, а затем вводили интрамиокардиально. Исследование закончили 27 пациентов (у 7 развились эпизоды фибрилляции желудочков, при которых потребовалась дефибрилляция, 2 пациентов скончались в предоперационный период от несовместимых с жизнью нарушений ритма). Были получены следующие результаты: уменьшение ФК ХСН (NYHA) (исходно III ФК,

после вмешательства — II ФК в 5 случаях, I ФК в 15 случаях), прирост ФВ ЛЖ (с  $37,7 \pm 14,2$  до  $42,2 \pm 5,9$ ).

### **1.3.7. Генномодифицированные клетки.**

Генетически измененные клетки могут формировать мышечный фенотип в несократимых клетках, например, в фибробластах или МСК, экспрессировать необходимые ростовые факторы, и вещества, которые также улучшают функцию КМЦ миокарда реципиента, а также обладать ангиогенным потенциалом. Учитывая весьма существенный вклад паракринных эффектов в неоваскуляризацию, до сих пор остается дискутабельным вопрос, что именно: секреторная активность клеток или их дифференцировочные свойства, определяют ангиогенную и тканепротективную эффективность.

Введение в клетки генов ангиогенных и антиапоптотических факторов позволяет уменьшить гибель клеток после трансплантации, а также количество вводимых клеток, необходимое для достижения эффекта. Возможность *in vitro* помещать в клетки генетические конструкции, отбирать и вводить определенное количество модифицированных клеток позволяет преодолеть проблему низкой эффективности трансфекции при прямой генной терапии и проблему иммунного ответа при использовании аденоовирусных векторов. Кроме того, появляется возможность относительно точно дозировать терапевтический эффект за счет определенного количества вводимых клеток. Von Degenfeld G и соавт., было показано, что скелетные миобласти, трансдуцированные с помощью ретро- или аденоовируса геном VEGF-165, более эффективно стимулировали ангиогенез и миогенез и улучшали сократительную функцию ЛЖ на моделях постинфарктной сердечной недостаточности, чем немодифицированные клетки [von Degenfeld G, 2003]. Использование модифицированных предшественников ЭК, гиперпродуцирующих VEGF, позволило в 30 раз сократить количество клеток, необходимое для достижения желаемого эффекта [Iwaguro H, 2002].

Наиболее впечатляющие результаты получены при введении в сердце мыши модифицированных ретровирусной конструкцией мезенхимальных клеток костного мозга, конститутивно экспрессирующих Akt-киназу—внутриклеточную сигнальную молекулу, опосредующую пролиферативные и антиапоптотические сигналы. Модифицированные клетки значительно лучше восстанавливали функцию сердца после ИМ, чем немодифицированные [Noiseux N, et al., 2006]. Первоначально предполагали, что этот эффект обусловлен уменьшением апоптотической гибели введенных клеток; однако позднее было показано, что экспрессия Akt-киназы в несколько раз увеличивала экспрессию ФР клетками и, вероятнее всего, усиление паракринных влияний обусловило повышение терапевтической эффективности модифицированных клеток. Улучшить выживание клеток после введения в поврежденную и ишемизированную ткань и терапевтический эффект клеточной терапии позволяет предшествующая терапия факторами роста, стимулирующая ангиогенез [Retuerto M.A, 2007]. Так же многообещающим является возможность эктопической индукции ядерного перепрограммирования клеток соматических тканей [Jaenisch R, 2008; Yamanaka S. 2007; Yu J, 2007], таких как фибробласты [Nakagawa M, 2008; Takahashi K, 2007], адипоциты [Sun N, 2009] в клетки, обладающие плорипotentным потенциалом, способные дифференцироваться в клетки с кардиогенным потенциалом.

#### **1.4 Слияние клеток и понятие «хоуминг» эффект**

В последнее время появился ряд работ, демонстрирующих возможность слияния СК с нейральными предшественниками, гепатоцитами и кардиомиоцитами [Alvarez-Dolado M., Pardal R., 2003; Vassilopoulos G., Wang P.R., 2003; Garbade J., Schubert A., 2005]. Трансплантированные прогениторные клетки сердца тоже не только дифференцируются в кардиомиоциты, но и сливаются с ними в сердце, возвращая им способность

к пролиферации [Oh H., Bradfute S.B., 2003]. Более того, показана возможность спонтанного слияния неонатальных кардиомиоцитов с различными типами стволовых и прогениторных клеток: ЭК пуповинной вены H0VEC, мезенхимальными и гемопоэтическими клетками костного мозга, эндотелиальными прогениторными клетками [Matsuura K., Wada H., 2004]. При сокультивировании кардиомиоцитов *in vitro* с H0VEC или фибробластами сердца происходило их слияние с образованием гетерокарионов, в которых наблюдалась экспрессия как маркеров кардиомиоцитов, так и клетки-партнера. Однако затем фенотип кардиомиоцита начинал преобладать. При слиянии непролиферирующие кардиомиоциты возвращались в клеточный цикл и начинали экспрессировать Ki-67 — маркер пролиферирующих клеток [Matsuura K., Wada H., 2004].

Аналогичные данные получены при исследовании экспрессии мРНК кардиоспецифичного р-миозина в совместной культуре неонатальных крысиных кардиомиоцитов и человеческих мононуклеаров костного мозга [Garbade J., Schubert A., 2005]. Клетки исследовались методом ПЦР отдельно взятой клетки (single-cell PCR), что позволило отличать трансдифференцировку клеток от слияния. Было показано, что около 6% человеческих клеток экспрессировали мРНК и человеческого и крысиного р-миозина, то есть появление кардиофенотипа индуцировалось слиянием. Однако около 9% клеток экспрессировало только человеческий р-миозин, то есть имела место истинная трансдифференцировка. Похожие данные получены на гемопоэтических клетках [Nygren J.M., Jovinge S., 2004; Zhang S., Wang D., 2004]. В этих исследованиях появление кардиомиоцитов из СК путем слияния было либо очень редким явлением [Nygren J.M., Jovinge S., 2004], либо происходило наравне с истинной трансдифференцировкой, не связанной со слиянием [Zhang S., Wang D., 2004].

Таким образом, несмотря на появление значительного числа исследований по слиянию СК с кардиомиоцитами, этот механизм нельзя считать основным путем регенерации миокарда при клеточных трансплантациях, поскольку многие современные работы указывают на наличие дифференцировочной пластиичности СК, не основанной на слиянии. Показано, что привнесенные в миокард клетки выделяют различные биологически активные вещества: ростовые факторы, цитокины и др. Особенно это касается СК (в том числе и фетальных), основные эффекты от имплантации которых выражаются в мощной индукции репаративных процессов в месте повреждения [Leor J, Patterson M, 1996]. В то же время, микроокружение, в которое попадают введенные клетки, также оказывает влияние на их развитие. По результатам многочисленных исследований, СК, вводимые в кровоток способны мигрировать и локализоваться в зоне ишемии миокарда без участия экзогенных индуцирующих факторов «направляющих» факторов. [Barbash, I., 2003; Suzuki G., 2009]. Вероятнее всего такая миграция происходит благодаря участию внутренних биологически активных веществ, выделяемых поврежденной тканью (возможно воспалительных цитокинов). Под действием этих веществ, стволовые клетки способны пройти по кровотоку к месту повреждения и начать восстановительный процесс (препятствовать некрозу и апоптозу собственных кардиомиоцитов, стимулировать гибернирующий миокард и дифференцироваться в кардиомиоциты).

Однако обнадеживающие результаты экспериментальных исследований не всегда могут быть экстраполированы на человека. Например, было показано, что мобилизация СК костного мозга с помощью гранулоцитарно-колониестимулирующего фактора дает возможность СК костного мозга, используя эффект "хоуминга", восстанавливать функцию поврежденного сердца [Orlic D., Kajstura J., 2001]. Однако клинические испытания этого нового метода не подтвердили эффективность такого подхода.

## 1.5 Современные клеточные технологии, клиническая эффективность при ИБС

Из различных направлений клеточной терапии трансплантация прекультивированных МСК аутологичного костного мозга является наиболее перспективным [Шумаков В.И. с соавт., 2002; Потапов И.В. с соавт, 2002; Kocher A.A et al, 2001; Wollert K.C, 2004; Erbs S, 2007; van Ramshorst J, 2009]. Эти клетки, будучи аутологичными для реципиента, снимают с врача этические, юридические и организационные проблемы получения донорских клеток, а также устраниют необходимость иммunoисупрессивной терапии, которая обычно требуется после трансплантации эмбриональных и фетальных клеток [Beltrami A.P., 2001; Jih-Shiuan Wang et al., 2001]. Комбинация клеток с различными биосовместимыми материалами для механической поддержки структуры трансплантата позволяет использовать такие конструкции для замещения различных дефектов в миокарде, например, при травмах сердца или для профилактики образования постинфарктных аневризм [Боярских У. А., 2006].

Наиболее приемлемым источником клеток для целей трансплантации является аутологичный костный мозг, в котором имеется значительное количество стволовых гемопоэтических и мезенхимальных стволовых клеток (ГСК и МСК). Ранее в экспериментах на животных было показано, что ГСК обладают свойством пластичности, обеспечивающее им трансдифференцировку в кардиомиогенном направлении при попадании в специфическое микроокружение [Orlic D., Kajstura J., 2001; Strauer B.E., Brehm M., 2002; Deb A., Wang S., 2003; Yeh T.H., Zhang S., Wu H.D., 2003]. Однако рядом авторов это утверждение было опровергнуто: была показана возможность слияния ГСК с взрослыми кардиомиоцитами и образования химерных клеток; при этом у исследователя создается впечатление, что ГСК

трансдифференцируются в кардиомиоциты [Balsam L.B., 2004; Nygren J.M., Jovinge S., 2004].

Кроме того, применение клеток КМ достоверно улучшает перфузию миокарда путем стимуляции неоангиогенеза [Hamano K., Nishida M., 2001; Kamihata H., Matsubara H., 2001; Stamm C., Westphal B., 2003; Tse H.F., Kwong Y.L., 2003; Шумаков В.И., Казаков Э.Н., 2003]. Важнейшим свойством СК КМ является секреция биологически активных веществ, обладающих антиапоптотическим и ангиогенетическим эффектом [Залесский В. Н., 2002; Kajstura J., 1996; Brockes J. P., 2001; Chavakis E., Dimmeler S., 2002; Dimmeler S, Zeiher AM. 2004; Kinnaird T., Stabile E., 2004]. Также из костного мозга можно получить фракции клеток с выраженным свойством стимулировать неоангиогенез и активно участвовать в росте новых сосудов – так называемых эндотелиальных прогениторных клеток. Экспериментальные [Kawamoto A, Gwon HC, 2001; Kocher A.A, Schuster M.D, 2001; Quirici N, Soligo D, 2001] и клинические [Pagani F.D, DerSimonian H, 2003] исследования показали высокую эффективность применения этих клеток.

В Германии, России, Франции, США и Китае уже проводятся ТП клеток костного мозга [Strauer B.E., 2002; Шумаков В.И., Казаков Э.Н., 2003; Stamm C., Westphal B.,2003; Schachinger V, Assmus B, 2004], аутологичных миобластов [Hagege A.A, Carrion C, 2003; Menasche P, Hagege A., 2003; Pagani F., DerSimonian H, 2003] пациентам с ИБС и кардиомиопатиями. Большинство исследователей отмечают безопасность применения аутологичного материала, его низкую аритмогенность; однако после ТП миобластов в некоторых случаях были аритмии [Menasche P., 2003; Smits P.C., van Geuns RJ, 2003], иногда с летальным исходом [Бокерия, Л.А.,2006], поэтому использование этого вида клеток для ТП в миокард нежелательно. Однако интерпретация результатов клеточной ТП до настоящего времени затруднена по различным причинам: неоднородность групп пациентов,

комбинация клеточной терапии с медикаментозным и хирургическим лечением.

За последние годы было проведено большое количество клинических исследований с использованием МСК в качестве источника клеточной терапии. Ввиду многочисленности работ ниже будут приведены результаты лишь самых последних исследований по оценке эффективности применения трансплантации СК преимущественно у больных ИБС с рефрактерной стенокардией или ХСН. В литературе встречается много сообщений о комбинированном использовании клеточной кардиомиопластики и какого-либо вида хирургического вмешательства. В 2004 г. были опубликованы результаты исследования TOPCARE-AMI проводимого под руководством V. Schachinger [Schachinger V., et al., 2004]. Анализ результатов позволил выявить наибольшее увеличение ФВ ЛЖ у пациентов с изначально самыми низкими значениями этого показателя. Большим недостатком этого исследования является применение двух односторонних методов лечения (реваскуляризация и клеточная терапия). Положительные результаты могут быть обусловлены как эффектом реваскуляризации, так и клеточной терапией. Chen и коллеги [Chen S., et al, 2004] рандомизировали 69 пациентов после ИМ, которым выполнялось интракоронарное введение аутологичных МСК. Они продемонстрировали значительное улучшение глобальной и региональной функции ЛЖ и уменьшение дефекта перфузии, что говорит о способности МСК регенерировать инфарцированный миокард, либо препятствовать ремоделированию ЛЖ.

Применение клеточной кардиомиопластики у больных с ХСН исследовалось в рандомизированном перекрестном исследовании TOPCARE-CHD, проведенном под руководством B. Assmus [Assmus B., 2006]. В исследовании участвовали 75 пациентов, перенесших острый ИМ более 6 лет назад и получающих постоянную адекватную медикаментозную терапию.

Больные были разделены на 3 группы: в 1-й группе интракоронарно вводили СК костного мозга, во 2-й — ЭПК периферической крови, а в 3-й группе — плацебо. Несмотря на то, что в группе больных МСК отмечалось увеличение ФВ ЛЖ только на 2,9 %, результаты этого исследования можно признать неожиданными. Во-первых, эффект интракоронарного введения СК превзошел аналогичные результаты от введения ЭПК периферической крови. Во-вторых, контроль за адекватностью медикаментозной терапии привел к положительным результатам и в группе плацебо. Таким образом, по мнению A. Rosenzweig, СК костного мозга, вероятнее всего, дают более сложные эффекты, чем просто акселерация замещения ишемизированной ткани после ИМ [Rosenzweig A., 2006].

В 2003 г. были опубликованы результаты первого российского исследования по применению аутологичных МСК для восстановления сократительной функции миокарда [Шумаков В.И., 2003]. Целью исследования было выявление зон накопления МСК при различных способах введения (интракоронарном и интрамуральном) и оценка влияния данной терапии на показатели миокардиальной перфузии и сократительной функции сердца у больных с ХСН. В исследование были включены 8 больных ХСН (5 с ИКМП, один больной ИБС, один больной с дилатационной кардиомиопатией — ДКМП, один больной с острым ИМ передней стенки ЛЖ). Продолжительность исследования составила 1 мес. Эффективность трансплантации МСК оценивали с помощью перфузионной сцинтиграфии миокарда и радионуклидной вентрикулографии, оценки ФК СН по NYHA. По результатам исследования у наблюдавших больных отмечались снижение ФК ХСН, увеличение толерантности к физической нагрузке, тенденция к увеличению ФВ ЛЖ. Однако малочисленность, разнородность исследуемой группы, малый срок наблюдения, косвенность полученных результатов не позволяют сделать конкретных выводов и свидетельствуют об описательном характере этого исследования. Однако в ряде исследований, опубликованных

в литературе, имеются противоречивые данные относительно эффективности клеточной терапии. В исследовании BOOST (Bone marrow transfer to enhance ST-elevation infarct regeneration) оценивалась эффективность интракоронарной трансплантации клеток костного мозга после ИМ.

На настоящее время одно из самых продолжительных исследований по оценке применения клеточной кардиомиопластики — длительность наблюдения составила 18 мес. [Meyer G.P., Wollert K.C., 2006]. В исследование были включены 60 больных, которые после стентирования инфаркт-образующей артерии были рандомизированы на 2 группы: группу клеточной терапии (введение через 5 дней после острого ИМ) и группу контроля с оптимальной схемой лечения после острого ИМ. Через 6 и 18 мес выполняли МРТ сердца, при этом в группе контроля глобальная сократительная функция сердца увеличилась на 0,7 и 3,1% соответственно, а в исследуемой группе — на 6,7 и 5,9% соответственно.

Таким образом, скорость восстановления сократительной функции ЛЖ была значительно выше в группе контроля через 18 мес. ( $p=0,01$ ), т.е. однократное введение суспензии СК костного мозга не обеспечило длительного улучшения систолической функции ЛЖ после ИМ, что было продемонстрировано в других, менее продолжительных, исследованиях. Детальный анализ позволил выявить, что увеличение глобальной сократительной функции у больных происходило в основном за счет повышения сократимости перирубцовых зон миокарда ЛЖ. Однако доказуемость эффекта клеточной кардиомиопластики после реваскуляризирующих процедур весьма проблематична. Восстановление функции гибернирующего миокарда после стентирования инфаркт-образующей артерии также должно приводить к улучшению глобальной сократительной функции миокарда, причем этот процесс происходит с течением времени.

В другом исследовании 86 пациентам с ишемической кардиомиопатией выполнена интракоронарная инфузия мононуклеарной фракции аутологичного костного мозга, либо клеток-предшественников периферической крови с использованием временной окклюзии артерии. Процедура прошла без осложнений [Assmus B. et al, 2004.]. Через 3 месяца, ФВ ЛЖ в группе пациентов, которым имплантировалась МФ, увеличилась на 3%, но достоверно не увеличилась в группе с клетками периферической крови.

В 2008 году А.В. Фомичевым с соавторами было проведено исследование метода трансмиокардиальной лазерной васкуляризации (ТМЛР) в сочетании с имплантацией аутологичных клеток костного мозга. В рамках данной работы обследован 51 пациент. Методом случайной выборки больные были разделены на две группы: в I группу вошли 35 пациентов с диффузным, преимущественно дистальным поражением коронарного русла, которым выполняли ТМЛР в сочетании с имплантацией мононуклеарной фракции аутологичного костного мозга во время операции АКШ; во II группу вошли 28 человек с аналогичным поражением коронарного русла, которым выполняли только АКШ. В ходе исследования показано, что ТМЛР в сочетании с имплантацией СК является безопасной процедурой. Метод не оказывал аритмогенного действия и не вызывал повторных инфарктов. Послеоперационный период обследованных больных протекал без осложнений. Данные ЭХОКГ и рентгенологического обследования также не обнаружили интрамиокардиальных опухолей, неопластических процессов другой локализации. В результате количественной оценки маркеров повреждения миокарда и маркеров системного воспаления выявлено, что непосредственно процедура ТМЛР в сочетании с имплантацией СК не вызывает повреждения миокарда и явлений системного воспаления.

Улучшение клинического состояния проявлялось в статистически достоверном снижении ФК ХСН (NYHA) (с  $2,57 \pm 0,55$  до  $1,76 \pm 0,74$ ), ФК

стенокардии напряжения (с  $2,8 \pm 0,7$  до  $0,23 \pm 0,4$ ) при менее выраженном снижении этих показателей в группе контроля. При сравнении динамики ФК сердечной недостаточности в основной и контрольной группах авторы отмечали, что при сопоставимых исходных показателях в отдаленном периоде отмечается более выраженное снижение ФК (NYHA) в I группе ( $p=0,009$ ).

### **1.5.1 Терапия факторами роста**

Остается недостаточно определенным вопрос о механизмах положительного эффекта клеточной терапии. Стволовые и прогениторные клетки, обладая мощным дифференцировочным потенциалом, способны стимулировать процессы ангиогенеза, восстановление поврежденного миокарда и его функции. Предположение, что клеточная терапия может стимулировать процессы неоваскулогенеза и репарации поврежденного миокарда за счет своих паракринных механизмов, а также отсутствие отрицательных аспектов, связанных с забором и выделением клеток породило большое количество экспериментальных и клинических исследований по генной терапии и терапии ростовыми факторами [Tse HF., 2003,2007] Возможность неоваскуляризации ишемизированных тканей с помощью VEGF (инсулиноподобный фактор роста) и EGF (эпидермальный фактор роста) была доказана в многочисленных экспериментальных работах с помощью гистологических, ангиографических, радионуклидных методов на моделях ишемии миокарда и скелетных мышц у грызунов (мыши, крысы, кролики), собак, свиней и овец [Yla-Herttula S, 2007; Rissanen T., 2007]. Эти факторы роста использовали как в виде рекомбинантных белков, так и конструкций в плазмидном или аденоовирусном векторе.

В двух исследованиях VIVA и FIRST, в которых тестировали внутрикоронарное введение рекомбинантных факторов роста (VEGF в исследовании VIVA у 178 больных ИБС, не являющихся оптимальными

кандидатами для хирургической или эндоваскулярной реваскуляризации; FGF-2 в исследовании FIRST у 337 аналогичных больных) не удалось обнаружить различий с результатами в группах плацебо через несколько месяцев после процедуры [Henry T.D, 2003]. Альтернативой терапии рекомбинантными белками может быть генная терапия. В отличие от рекомбинантных белков генетические конструкции работают в ткани-мишени от одной до нескольких недель и обеспечивают менее резкое и более длительное повышение содержания ангиогенного фактора, что позволяет избежать частых и многократных инъекций или инфузий. Генная терапия имеет и свои недостатки, связанные с введением чужеродного генетического материала и возможностью иммунного ответа при использовании для доставки генов аденоизвирсных векторов. В многочисленных экспериментальных работах [Yla-Herttuala S, 2007; Rissanen T., 2007; Tractuev D, 2007], на моделях хронической ишемии миокарда и ИМ были получены бесспорные доказательства стимуляции как ангио-, так и артериогенеза, а также улучшения функции и перфузии миокарда или скелетных мышц при использовании плазмидных и аденоизвирсных конструкций, содержащих кодирующую часть генов факторов роста. Двойные слепые плацебо-контролируемые исследования (фазы II/III) по генной терапии для стимуляции ангиогенеза дали смешанные результаты [Yla-Herttuala S, 2007; Rissanen TT, 2007; Tirziu D, 2005; Springer M.A, 2006]. В исследовании EVROINJECT-1 (плазмиду с VEGF-165 вводили в зону гибернирующего миокарда трансэндокардиально с помощью катетера NOGA под контролем электромеханического картирования полости левого желудочка у 80 больных ИБС с III–IV классом стенокардии) через 3 мес не было обнаружено различий с группой плацебо по величине дефекта перфузии. Эффективность трансэндокардиального способа введения генетических конструкций тестировали еще в двух работах – GENASIS и NOVA [Rissanen T., 2007], которые были остановлены из-за осложнений, связанных с внутримиокардиальными инъекциями. Эффективность внутрикоронарного

введения генетического материала – аденоовирусной конструкции с геном FGF-4 – тестировали в серии контролируемых клинических исследований AGENT-1, 2, 3 и 4 [Rissanen T., 2007; Tirziu D., 2005]. Хотя в первых работах (AGENT-1 – 79 больных, AGENT-2 – 85 неоперабельных больных ИБС) при использовании большой дозы аденоовирусной конструкции отмечено увеличение толерантности к физической нагрузке и уменьшение дефектов перфузии, в следующем международном многоцентровом исследовании AGENT-4 (116 больных) различий с контрольной группой по увеличению толерантности к физической нагрузке не обнаружено, а аналогичное исследование AGENT-3 (416 больных) было остановлено из-за большого разброса значений толерантности к физической нагрузке в группах, что не позволяют получить достоверные различия. Однако при последующем анализе данных, полученных в разных подгруппах больных, было установлено, что генная терапия достоверно увеличивала толерантность к физической нагрузке в сравнении с контролем у пациентов старше 55 лет и с более тяжелой формой стенокардии (IV ФК).

### **1.5.2 Аутологичные мононуклеарные стволовые клетки костного мозга**

Неселектированная мононуклеарная фракция костного мозга была использована в нескольких небольших исследованиях у пациентов с патологией коронарного русла, которым не представлялось возможным выполнить стандартное АКШ. В первом исследовании, пятеро пациентов подверглись АКШ в сочетании с трансэпикардальным введением СК в нешунтируемую ишемизированную область миокарда. Все пациенты имели неосложненное послеоперационное течение. Не выявлены случаи нарушения ритма, так же как не отмечено интрамиокардиальной кальцификации и опухолевой трансформации в течение 1 года после операции, что указывает

на безопасность метода. Миокардиальная перфузия в месте воздействия улучшилась у троих пациентов [Hamano K et al, 2001].

В трех других исседованиях, мононуклеарная фракция аутологичного костного мозга имплантировалась трансэндокардиально с использованием электромеханического картирования [Perin E.C et al, 2004, 2009, 2011, 2012]. Не отмечено каких-либо осложнений, связанных с методикой, также не выявлено стойких желудочковых аритмий через 1 год после операции. Зарегистрирована одна внезапная смерть через 14 недель после операции. Хотя внезапная (сердечная) смерть является типичным осложнением у пациентов с тяжелой ИБС, нельзя исключать возможность возникновение этого осложнения вследствие клеточной имплантации. Улучшение клинического течения, объёмных характеристик, региональной тканевой перфузии и сократительной функции ЛЖ документировано после интрамиокардиального введения СК.

В опубликованном клиническом трайле Strauer et al. выполнили инфузию СК костномозгового происхождения в инфаркт-зависимую артерию через 7 дней после ИМ 10 пациентам. Контрольная группа включала 10 пациентов после ИМ без инфузии СК. В основной группе было выявлено значительное улучшение миокардиальной перфузии и локальной сократимости ЛЖ.

В 2003 г. были опубликованы результаты совместного американо-бразильского проспективного нерандомизированного открытого исследования трансэндокардиального введения аутологичных мононуклеаров костного мозга больным с терминалной стадией ХСН с целью оценки безопасности метода и возможности стимуляции процессов ангиогенеза, улучшения перфузии и сократимости миокарда [Emerson C., 2003]. Принимавшие участие в исследовании пациенты ( $n=21$ ) были разделены на группу контроля и группу клеточной терапии. Аутологичные мононуклеары костного мозга вводили с помощью системы

электромеханического картирования NOGA. Через 4 мес после процедуры в группе клеточной терапии отмечались достоверное увеличение ФВ ЛЖ с 20 до 29% и уменьшение конечного систолического объема ЛЖ. Положительная динамика также была выявлена при оценке сократимости и перфузии миокарда по результатам контрольной однофотонной эмиссионной томографии (ОЭТ) и повторного электромеханического картирования ( $p<0,0005$ ).

Подобное исследование было проведено S. Beeres [Beeres S., Bax J., 2006]. Применялись аутологичные мононуклеарные клетки костного мозга у больных рефрактерной стенокардией и ишемической кардиомиопатией. В исследование были включены 25 больных, страдающие ИБС, стенокардией III—IV ФК, получающие современную адекватную медикаментозную терапию в отсутствие возможности реваскуляризации в связи с дистальным типом поражения сосудистого русла. Срок наблюдения составил 12 мес.; контрольное обследование проводилось через 3, 6 и 12 мес. после клеточной кардиомиопластики. У всех больных оценивали степень ишемии миокарда и размеры участка ишемии с помощью ОЭТ, а затем с помощью установки электромеханического картирования NOGA прицельно интрамиокардиально вводили суспензию мононуклеарных СК. К концу исследования отмечались уменьшение ФК стенокардии; улучшение качества жизни, определяемое с помощью Сиатльского опросника по стенокардии (через 3 мес. с  $53\pm10$  до  $71\pm11\%$ , через 6 мес. до  $72\pm14\%$ , через 12 мес. до  $68\pm14\%$ ;  $p<0,01$ ); уменьшение количества зон ишемии, определяемое с помощью позитронноэмиссионной томографии, на общую площадь миокарда (через 3 мес с  $4,7\pm3,3$  до  $2,1\pm2,6$ , через 12 мес до  $1,6\pm2,5$ ); увеличение ФВ ЛЖ (через 3 мес с  $47\pm13$  до  $53\pm17\%$ , через 12 мес до  $51\pm17\%$ ); улучшение локальной сократимости ЛЖ (через 3 мес. с  $5,9\pm1,7$  до  $6,6\pm2,2$  мм, через 12 мес. до  $6,4\pm2,0$  мм). Один пациент умер спустя 7 мес. после клеточной терапии от геморрагического инсульта. Таким образом, вероятнее всего, аутологичные

МСК и их мононуклеарный пул являются вариантом СК, самым эффективным и удобным для использования в современной клинической практике и в современном обществе в качестве оптимального источника клеточной терапии.

Fuchs S. и соавт. (2001) изучали безопасность и возможность трансэндокардиальной трансплантации аутологичных клеток костного мозга (мононуклеарной фракции) больным с рефрактерной стенокардией и ишемией [Fuchs S., 2001]. Всего наблюдали 27 пациентов в течение 12 мес. Каждому проводили трансэндокардиальную инъекцию суспензии клеток CD34+ в ишемизированную зону миокарда. Через 3 мес. было отмечено уменьшение ФК стенокардии и увеличение толерантности к физическим нагрузкам. Подобное исследование провели и итальянские ученые, однако их результаты не были столь обещающими. В исследовании принимали участие 10 пациентов, страдающих ИБС (стенокардия III—IV ФК), длительность наблюдения 12 мес [Briguori C., 2006]. Всем больным проводили электромеханическое картирование, после чего интрамиокардиально вводили аутологичные клетки костного мозга. Через 12 мес. у большинства пациентов существенно улучшилось качество жизни, однако уменьшение ФК стенокардии было отмечено только у 2 больных, у 4 из 8 пациентов отмечалось улучшение перфузии миокарда, оцененное при повторном электромеханическом картировании.

Группа американских ученых под руководством A. Patel (2005) провела проспективное рандомизированное исследование по оценке эффективности хирургического лечения ИБС в сочетании с субэпикардиальной трансплантацией аутологичных СК костного мозга (CD34+) для лечения ХСН [Patel A.N., Geffner L., 2005]. В исследовании принимали участие 20 пациентов с ишемической кардиопатией (ФВ ЛЖ <35%), длительность наблюдения составила 12 мес. В группе контроля проводилось лишь

хирургическое вмешательство (АКШ) в комбинации с современной терапией ХСН. Критерием оценки в исследовании была глобальная сократительная функция миокарда. Если в начале исследования в контрольной и основной группах ФВ ЛЖ составляла  $30,7 \pm 2,5$  и  $29,4 \pm 3,6\%$  соответственно, то через 1 мес после вмешательства —  $36,4 \pm 2,6$  и  $42,1 \pm 3,5\%$ , через 3 мес -  $36,5 \pm 3,0$  и  $45,5 \pm 2,2\%$ , а через 6 мес —  $37,2 \pm 3,4$  и  $46,1 \pm 1,9\%$  ( $p < 0,001$ ).

Однако, несмотря на обнадеживающие результаты, остается неясным вклад каждой из процедур в полученный эффект. H. Dohmann и соавт. (2005) проанализировали патологоанатомические, морфометрические и иммуноцитохимические параметры материала, полученного при вскрытии тела больного с рефрактерной ИБС и ХСН ишемического генеза, который скончался через 11 мес. после клеточной кардиомиопластики (трансэндокардиальное введение аутологичных мононуклеаров костного мозга) [Dohmann H.F., 2005]. Анализу подвергались 3 участка миокарда: переднебоковая стенка ЛЖ (область проведения клеточной терапии), область межжелудочковой перегородки (миокард с сохраненной нормальной перфузией) и заднебазальная стенка ЛЖ (зона обширного рубца, клеточная терапия не проводилась). В месте инъекции СК признаков поражения миокарда не выявлено. Плотность капилляров на  $1 \text{ см}^3$  ткани была выше в переднебоковой области в отличие от задней стенки ЛЖ. Кроме того, в зоне введения СК отмечалась гиперплазия интрамуральных клеток и адвенции. Таким образом, в зоне применения клеточной терапии был продемонстрирован активный процесс ангиогенеза. При анализе отрицательных результатов исследований с применением МСК достаточно показательным является немецкое исследование, проведенное под руководством F. Kuethe и соавт. (2005) с использованием интракоронарной трансплантации аутологичных мононуклеаров костного мозга у больных ИКМП [Kuethe F., 2004]. Данная работа носила статус предварительного исследования, в котором принимали участие 5 больных с ИКМП после

переднего ИМ давностью  $1,3 \pm 0,5$  года. Срок наблюдения за больными 12 мес. Методы контроля клинического состояния пациента: катетеризация ЛЖ, ЭХОКГ через 3 и 12 мес, нагрузочной ЭХОКГ с добутамином и кардиопульмональное тестирование через 3 и 12 мес после терапии. Через год наблюдения значительного улучшения глобальной сократительной функции миокарда, уменьшения зоны рубца или повышения толерантности к физическим нагрузкам достоверно не отмечалось. Однако достоверность полученных результатов вызывает сомнения ввиду малочисленности исследуемой группы. Кроме того, определенные сомнения в эффективности вызывает интракоронарная доставка СК в миокард. До настоящего времени нерешенным остается вопрос об эффективности подобной транспортировки СК, обусловленный невозможностью оценить количество клеток, закрепляющихся в миокарде. Таким образом, введение МСК является наиболее эффективным и доступным видом клеточной терапии при лечении больных с ХЧН [Wang S-H, 2009; 2010; Turan RG, et al., 2011]. Однако их дорогостоящее культивирование привело к более широкому применению альтернативного вида клеток — мононуклеарной фракции костного мозга. Эффективность клеточной терапии также, вероятно, зависит от метода введения СК. Наиболее положительные результаты отмечаются при интрамиокардиальном введении клеток. [McClelan R, 2005].

### **1.5.3 Эпителиальные прогениторные клетки (клетки-предшественники эндотелиальных клеток)**

Клетки данного вида локализуются в костном мозге, являются унипотентными клетками (дифференцируются только в клетки эндотелия сосудов) и под действием определенных биоактивных молекул (VEGF и MCP) выводятся в кровоток, мигрируют к месту повреждения и способствуют неоангиогенезу, что было продемонстрировано у больных с ИМ [Shintani S., 2001]. По сути, они являются мононуклеарами CD34+.

Преимущество применения клеток данного вида обусловлено низкой иммуногенностью, так как материал всегда аутологичный. В настоящее время разработаны методы культивирования ЭПК *ex vivo*, однако это может привести к подавлению «хоуминг» - эффекта и снижению эффективности клеточной терапии [Hristov M., 2003]. Целесообразно оценить возможности введения комбинированного препарата СК, состоящего из аутологичных МСК, которые дифференцировались бы в тканеспецифические кардиомиоциты, и ЭПК, которые бы способствовали неоангиогенезу. Подобное исследование было проведено греческими учеными в 2005 г. (интракоронарная трансплантация аутологичных МСК и ЭПК в лечении больных с постинфарктным кардиосклерозом) [Katritsis D.G., 2005]. В исследовании участвовали 11 пациентов с передне-перегородочным ИМ в анамнезе и 11 больных из группы контроля. Методами контрольной оценки перфузии и сократимости миокарда являлись нагрузочная ЭхоКГ и сцинтиграфия миокарда в покое. Через 6 мес. наблюдения у 5 больных из основной группы было отмечено улучшение сократительной функции миокарда в одном или более нежизнеспособных сегментах ишемизированной зоны. В октябре 2007 г. было опубликовано сообщение о начале нового исследования ACT34-CMI (Autologous Cellular Therapy CD34-Chronic Myocardial Ischemia Trial). Это первое рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование II фазы у взрослых пациентов, направленное на изучение эффективности, устойчивости и безопасности введения СК CD34+ периферической крови с целью улучшения клинической симптоматики и исходов у больных с ИКМП, получающих максимальные дозы современной медикаментозной терапии, у которых невозможно выполнение реваскуляризирующих процедур [A 12-Month Follow-Up Study to Protocol 24779, 2007]. Методика исследования заключалась в подкожном введении Г-КСФ для мобилизации клеток CD34+ в кровоток (ЭПК). Затем осуществлялся забор крови, отделение СК по стандартной методике, электромеханическое картирование зоны ишемии с помощью системы

NOGA ХР и интрамиокардиальное введение приготовленной суспензии в заинтересованные зоны миокарда. Длительность исследования составила 12 мес.

### **1.6 Методы доставки стволовых клеток к ишемизированному миокарду**

Выбор адекватного способа доставки СК к поврежденному органу – очень важная предпосылка успешной реваскуляризации и репарации миокарда. Прямое внутримышечное введение СК (трансторакальное) было одним из первых широко используемых методов клеточной кардиомиопластики. Основным достоинством данного вида введения является прямая визуализация поврежденного участка миокарда и возможность безошибочно обработать суспензией СК область ишемии или рубца.

Первое клиническое подтверждение безопасности трансплантации СК костномозгового происхождения было получено Hamano et al. В это пилотное исследование были включены 5 пациентов, которым выполнялась локальная имплантация мононуклеарной фракции аутологичного костного мозга в сочетании со стандартным АКШ [Hamano K. et al, 2001]. Забор костного мозга производился во время операции, СК имплантировались в нешурупаемые ишемизированные зоны миокарда. Группа контроля состояла из тридцати пациентов, которым выполнялась стандартная операция АКШ в тот же самый период. Все пациенты имели неосложненный ранний послеоперационный период без впервые возникших аритмий и кровотечений. Значимое улучшение перфузии было документировано у 60% пациентов через год после операции (по данным сцинтиграфии миокарда). Однако данная методика предполагает наличие хирургического вмешательства с торакотомией, поэтому сегодня целесообразно использование данной методики только в комбинации с АКШ. Внутривенное введение СК — наиболее простой и безопасный способ введения, однако

эффективность клеточной кардиомиопластики вызывает сомнения, так как возникает огромное количество вопросов. Например, сколько времени необходимо для миграции клеток к месту повреждения? Какое количество клеток выживет и сохранит способность к дифференцировке? Какое количество клеток достигнет области ишемизированного миокарда благодаря «хоуминг» - эффекту, а не окажется в другом органе, где также возможно наличие тканевого повреждения? Поэтому в настоящее время положительные результаты исследований с применением внутривенного введения стволовых клеток следует рассматривать с осторожностью. Интракоронарный способ введения СК осуществляется с помощью специального баллонного катетера. Этот метод дает возможность ввести СК непосредственно в окклюзированную артерию. Группа ученых из Франкфурта доложила результаты TOPCARE AMI – трайла [Schachinger V. et al, 2004]. Шестьдесят девять пациентов были разделены на 2 группы в зависимости от источника инфузируемых клеток-предшественников (костномозговые, либо из периферической крови). Было документировано значимое улучшение функции ЛЖ с уменьшением конечного систолического объема (КСО). Erb и коллеги рандомизировали пациентов с реканализованными хроническими окклюзиями КА, которым выполнялась интракоронарная имплантация предшественников эндотелия. Они мобилизовали клетки костного мозга, используя гранулоцитарный колонистимулирующий фактор (Г-КСФ), полученный из периферической крови, и реинфузировали их через КА. Результатом явилось значительное улучшение коронарного кровотока и функции сердца, значительное уменьшение зоны инфаркта [Erb S. et al, 2005]. Однако, отсутствие контроля за количеством клеток, способных задерживаться в ишемизированном миокарде, также ставит под сомнение получение положительных результатов.

В настоящее время самым оптимальным путем доставки стволовых клеток с точки зрения эффективности, малоинвазивности и безопасности является эндокардиальное (интрамиокардиальное) введение, которое стало возможным с появлением системы электромеханического картирования NOGA XP («Biosite», США). Перед процедурой определяют площадь, степень и локализацию повреждения миокарда с помощью электромагнитного датчика, а затем интрамиокардиального с помощью специального катетера вводят суспензию используемых СК. Данный способ введения был апробирован и в исследованиях на животных и в клинических испытаниях. Однако, как любое инвазивное вмешательство, данная методика может сопровождаться некоторыми осложнениями, например, возникновением различных нарушений ритма (желудочковая экстрасистолия, желудочковая тахикардия). По данным литературы, частота возникновения таких осложнений не превышает 1% [Rodrigo S, et al, 2011, 2012; Van Ramshorst J. et al, 2009-2011]. Таким образом, вероятно, оптимальным путем введения СК является эндомиокардиальное введение.

В исследовании, выполненном в НЦССХ им. Бакулева в 2006 году, проведено сравнение интракоронарного и интрамиокардиального способа введения СК костномозгового происхождения. Через 12 месяцев после операции эндомиокардиального введения СК накопление радиофармпрепарата достоверно увеличилось на 20% относительно исходного уровня. После интракоронарного же введения накопление радиофармпрепарата также увеличилось, но ни в одном сегменте не было выявлено достоверной разницы изменения перфузии ни в покое, ни при нагрузке, что указывает на предпочтительность интрамиокардиального способа введения [Волковская И.В., 2006].

Эндомиокардиальное введение клеток в миокард выгодно отличается от остальных способов клеточной кардиомиопластики [Смоляников А.Б.,

Горелов А.И. с соавт., 2006; Коноплянников М.А. с соавт., 2012; Guilherme V., 2004]. Кроме этого стволовые клетки вводятся непосредственно в акинетические и ишемизированные зоны, что также является позитивным моментом и отличает данный метод от транскоронарной инфузии клеток через баллон при ангиопластике.

## РЕЗЮМЕ

Таким образом, проблема ишемической болезни сердца, занимает одно из ведущих мест среди важнейших медицинских проблем XXI века. Являясь распространённым заболеванием, она стоит первой среди основных причин смертности, а также временной и стойкой утраты трудоспособности населения в развитых странах мира и является одной из главных в развитии СН.

Больные с постинфарктным кардиосклерозом, осложненным ишемической дисфункцией миокарда, составляют самую многочисленную группу больных ИБС, тем самым, вызывая особый интерес среди практикующих врачей к вопросам ведения больных данной категории и выбора оптимальных методов лечения, особенно у пациентов, ранее уже перенесших операции аортокоронарного шунтирования. Судьба этих больных во многом зависит от качества и своевременности диагностики, а в последующем и от адекватности проводимого современного терапевтического и хирургического лечения.

В последнее время использование клеточной терапии в практическом здравоохранении у больных с ишемической дисфункцией миокарда приобретает все большее значение. Метод клеточной трансплантации в настоящее время считается наиболее перспективным для стимуляции регенерационно-репаративных процессов в миокарде. В течение последних лет эта процедура была введена в клиническую практику для улучшения результатов лечения пациентов с ишемической дисфункцией миокарда.

Эндомиокардиальная имплантация мононуклеарной фракции аутологичных клеток костного мозга является наиболее перспективной. Эти клетки, будучи аутологичными для реципиента, снимают с врача этические, юридические и организационные проблемы получения донорских клеток, а также устраниют необходимость иммуносупрессивной терапии, которая обычно требуется после трансплантации эмбриональных и фетальных клеток. Результаты ранее проведенных Американским институтом кардиологии в 2006 году, пробных клинических испытаний являются обнадеживающими и указывают на улучшение качества жизни пациентов с ИБС и сердечной недостаточностью. Однако полученные на сегодняшний день клинические данные крайне немногочисленны и противоречивы, кроме этого проведенные ранее исследования имеют ряд серьезных недостатков, таких как малое число пациентов, короткий период наблюдения, недостаток рандомизации. В данном направлении медицины остается ряд нерешенных проблем, требующих дальнейшего углубленного исследования и клинического анализа.

## ГЛАВА 2

### ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ И МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

#### **2.1 Дизайн исследования и клиническая характеристика больных**

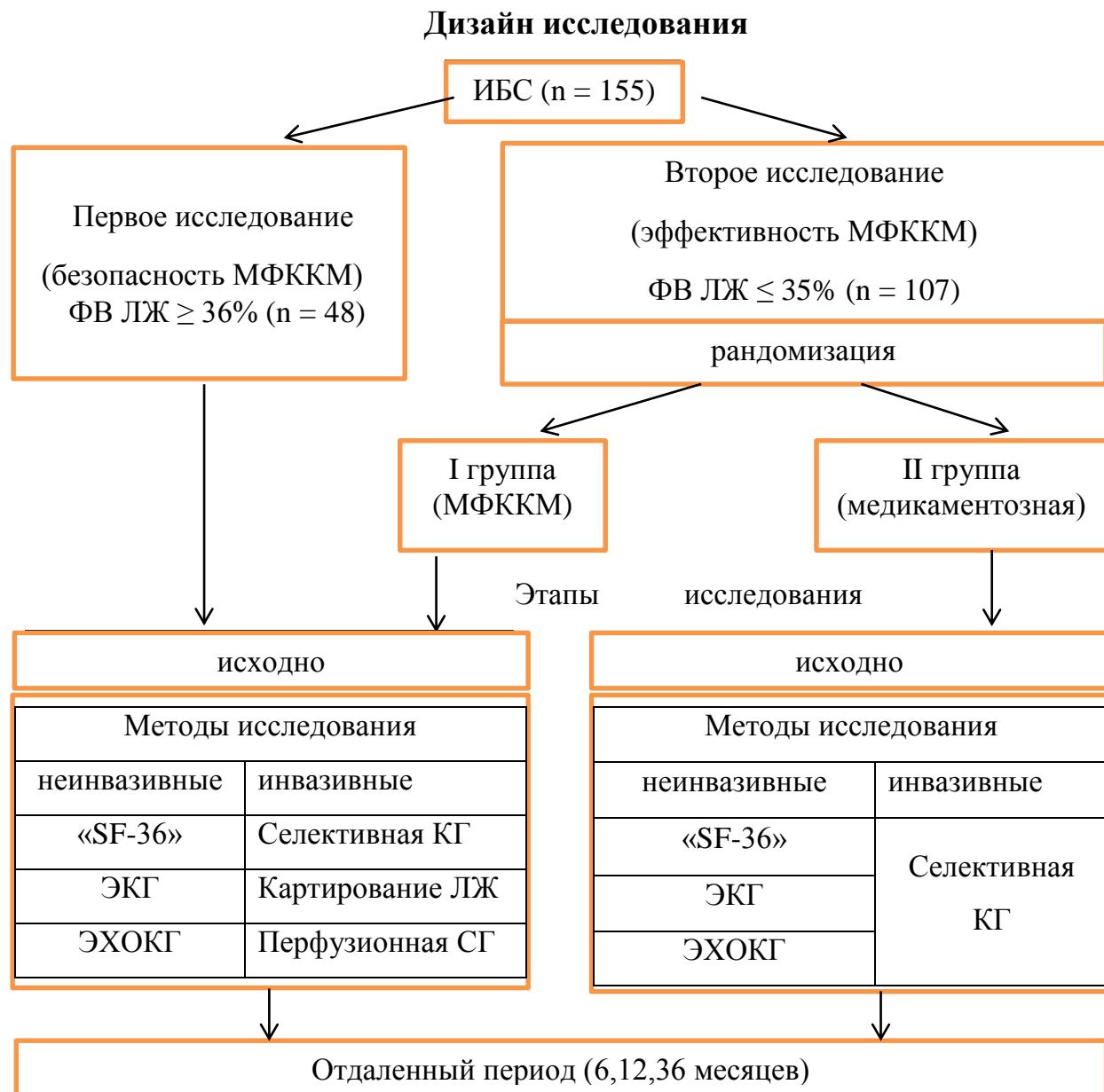
Клиническая часть исследования включает анализ данных комплексного обследования 155 больных ИБС находившихся на стационарном лечении в центре хирургии аорты, коронарных и периферических артерий и центре аритмологии ФГБУ «ННИИПК имени академика Е.Н. Мешалкина» Минздрава России.

Критерии включения: больные ИБС с давностью инфаркта миокарда более 12 месяцев до регистрации в исследование и фиксирование дефекта перфузии  $Tc\ 99\text{-MIBI}$  SPECT; наличие ишемической дисфункции миокарда, ЭХОКГ, клинические симптомы сердечной недостаточности; резистентность к традиционной медикаментозной терапии и отсутствие возможности для стандартной реваскуляризации миокарда.

Критерии исключения: возможность для чрезкожного коронарного вмешательства, стентирования коронарной артерии, хирургического ремоделирования левого желудочка или кардиальной ресинхронизирующей терапии; выраженные почечная и печеночная недостаточность; тромб в полости левого желудочка по данным ЭХОКГ; изменение аортального клапана с его стенозированием; протезирование аортального клапана, фибрилляция предсердий; наличие онкозаболеваний.

Данная работа состоит из двух исследований: 1) оценка безопасности клинического применения эндомиокардиальной имплантации МФКМ в сочетании с медикаментозной терапией у больных ХИБС с нормальной и умеренно сниженной фракцией выброса левого желудочка ( $\text{ФВ ЛЖ} \geq 36\%$ ) 2) оценка клинической эффективности эндомиокардиальной имплантации МФКМ в сочетании с медикаментозным лечением у больных с выраженной дисфункцией левого желудочка ( $\text{ФВ ЛЖ} \leq 35\%$ ) в сравнении с

изолированным современным медикаментозным лечением (рис. 1). В первое исследование было включено 48 пациентов, которым выполнена эндомиокардиальная имплантация МФКМ в сочетании с современной медикаментозной терапией в период с февраля 2007 по декабрь 2010 года.



*Рисунок 1. Дизайн исследования*

Во втором исследовании больные с ФВ ЛЖ ≤ 35% (n=107) были randomизированы и соответственно составили I и II группы. В I группу вошли 55 больных с выраженной ишемической дисфункцией миокарда, которым также выполнялась эндомиокардиальная имплантация МФКМ в комбинации с современной медикаментозной терапией ХСН и ИБС. II

группу ( $n=52$ ) составили больные, получавшие только современную медикаментозную терапию направленную на уменьшение проявлений стенокардии и сердечной недостаточности соответствующую текущим рекомендациям «ACC/AHA Guidelines for the Evaluation and Management of Chronic Heart Failure in the Adult», 2009 год; национальным рекомендациям ОССН, РКО и РМТОТ по диагностике и лечению ХСН (третий пересмотр) 2009 год (табл.1)

**Таблица 1****Медикаментозная терапия пациентов, включенных в исследования**

Группы препаратов	1 исследование ( $n = 48$ )	2 исследование ( $n = 107$ )	
		I группа ( $n=55$ )	II группа ( $n=52$ )
	n/%	n/%	n/%
Антиагреганты	48/100	55/100	52/100
бета-блокаторы	40/83,3	52/94,5	48/92,3
и-АПФ	45/93,7	46/83,6	46/88,4
Статины	46/95,8	55/100	46/100
Нитраты	33/68,7	38/69,0	39/75,0
Диуретики	14/29,1	47/85,4	45/86,5

В первом исследовании средний возраст больных составил  $58,6 \pm 1,6$  лет. В нем участвовало 42 (87,5%) мужчин и 6 (12,5%) женщин. Во втором исследовании средний возраст больных I группы составил  $57,0 \pm 1,1$  лет. Из них 49 (89,1%) были мужчины и 6 (10,9%) женщины (табл.2).

**Таблица 2****Исходная клиническая характеристика больных**

Показатель	1 исследование ( $n = 48$ )	2 исследование ( $n = 107$ )		P*
		I группа ( $n=55$ )	II группа ( $n=52$ )	
Возраст, г	$58,6 \pm 1,6$	$57,0 \pm 1,1$	$58,0 \pm 1,4$	0,56
Пол (М/Ж)	42/6	49/6	45/7	0,42
СД (кол-во/ %)	11 (22,9%)	10 (18,5%)	6 (17,1%)	0,87
ГБ	36(75%)	32(55,1%)	25 (48,5%)	0,53
Ожирение	34 (70,8%)	34 (63,6%)	23 (45,7%)	0,09

*Примечание: \* достоверность отличий между I и II группами*

Во 2-ой группе соотношение мужчин/женщин было соответственно 45/7 (86,5/13,5%), а средний возраст больных  $58,0 \pm 1,4$  лет. Основные клинические показатели во втором исследовании на этапе госпитализации были сопоставимы между I и II группами соответственно.

Основные жалобы больных на этапе госпитализации представлены в табл. 3.

**Таблица 3**

**Жалобы больных при госпитализации**

Показатель	1 исследование (n = 48)	2 исследование (n = 107)	
		I группа (n=55)	II группа (n=52)
Боли за грудиной	48 (100%)	44 (80%)	50 (94,2%)
Одышка	34 (70,8%)	47 (85%)	48 (88,5%)
Периферические отеки	4 (8,3%)	15 (27%)	43 (74,2%)

Как видно, в первом исследовании все больные (100%) предъявили жалобы на боли за грудиной различной интенсивности и локализации, 70,8% больных жаловались на одышку при физической нагрузке. Во втором исследовании также как и в первом, большинство больных обеих исследуемых групп исходно предъявили жалобы на боли за грудиной и одышку: в группе МФКМ - 80% и 85%, в медикаментозной группе - 85% и 88,5% больных соответственно. Жалобы на периферические отеки доминировали у пациентов медикаментозной группы (74,2%).

Во втором исследовании по данным ЭХОКГ у пациентов обоих групп величина основных гемодинамических показателей ЛЖ, а также степени МР и рЛА исходно были практически одинаковой (табл. 4).

**Таблица 4**
**Исходные клинико-функциональные показатели обследованных больных**

Показатель	1 исследование (n = 48)	2 исследование (n = 107)		P*
		I группа (n=55)	II группа (n=52)	
ФВ ЛЖ, %	52,2±0,9	25,4±0,7	27,7±1,2	0,33
КДО ЛЖ, мл	134,7±9,1	242,7±9,0	219,5±9,8	0,45
КСО ЛЖ, мл	71,9±6,4	179,1±0,2	155,3±10,4	0,54
КДР ЛЖ, см	5,2±0,1	6,4±0,2	6,3±0,1	0,35
УО, мл	68,5±3,6	64,9±2,3	61,3±3,0	0,42
МР	1,1±0,1	1,6±0,1	2,0±0,1	0,07
рЛА, мм.рт.ст	28,3±0,9	40,7 ±1,8	45,2 ± 2,7	0,09

Примечание: \* достоверность отличий между I и II группами

Исходный уровень поражения коронарного русла больных представлен ниже в табл. 5.

**Таблица 5**
**Исходная рентгенхирургическая характеристика коронарного русла у обследованных больных**

1 исследование ФВ ЛЖ ≥36% (n = 48)					
артерии	Нет	до 50%	51-75%	76-90%	91-100%
СЛКА	42(87,5%)	3(6,3%)	4(8,3%)	1(2,1%)	-
ПНА п/3	16(33,3%)	7(14,5%)	7(14,5%)	9(21,9%)	16(33,3%)
ПНА д/3	41(85,4%)	1(2,1%)	1(2,1%)	2(4,1%)	4(8,3%)
ОА	25(52,1%)	4(8,3%)	4(8,3%)	5(10,4%)	12(25,0%)
ПКА	7(14,5%)	1(2,1%)	5(10,4%)	3(6,3%)	24(50,0%)

2 исследование ФВ ЛЖ ≤35% (n = 107)					
1 группа (МФККМ n=55)					
артерии	Нет	до 50%	51-75%	76-90%	91-100%
СЛКА	50 (90,9%)	3 (5,4%)	1 (1,8%)	-	-
ПНА п/3	6 (10,9%)	5 (9,1%)	3 (5,4%)	7 (12,7%)	33 (60%)
ПНА д/3	46 (83,6%)	-	1(1,8%)	1 (1,8%)	6 (10,9%)
ОА	28 (50,9%)	2 (3,6%)	1 (1,8%)	4 (7,2%)	19 (34,5%)
ПКА	18 (32,7%)	3 (5,4%)	4 (7,2%)	4 (7,2%)	25 (45,5%)

2 группа медикаментозная (n=52)					
артерии	Нет	до 50%	51-75%	76-90%	91-100%
СЛКА	47 (90,5%)	2 (3,8%)	3 (5,7%)	-	-
ПНА п/з	9 (17,4%)	2 (3,8%)	3 (5,8%)	10 (19,2%)	28 (53,8%)
ПНА д/з	10 (19,2%)	-	3 (5,7%)	14 (26,9%)	18 (34,6%)
ОА	-	3 (5,7%)	2 (3,8%)	6 (11,5%)	28 (53,8%)
ПКА	-	3 (5,7%)	8 (15,3%)	9 (17,3%)	32 (61,5%)

*Примечание: СЛКА - ствол левой коронарной артерии; ПНА п/з- передняя нисходящая артерия передняя третья; ПНА д/з- передняя нисходящая артерия дистальная треть; ОА- огибающая артерия; ПКА – правая коронарная артерия.*

Коронарное русло, у большинства больных, участвующих в первом исследовании не имело стволовых поражений - 42 (87,5%). И наоборот, многососудистое поражение от значимого стенозирования до окклюзии вышеперечисленных артерий встречалась у 24 (50,0%) больных. Во втором исследовании в I группе с ФВ ЛЖ  $\leq 35\%$  (МФККМ) основная доля критических стенозов при многососудистом поражении зафиксирована у больных с поражением ПНА и ПКА. Во II (медикаментозной) группе большая доля критических стенозов при многососудистом поражении коронарного русла зафиксирована в п/з ПНА у 28 (53,8%), ПКА 32 (61,5%) и ОА 28 (53,8%) больных соответственно.

Диагноз ИБС был верифицирован у всех больных при поступлении на основании анамнеза, клиники стенокардии напряжения и/или покоя и объективных дополнительных методов обследования, представленных выше. Оценка функционального класса (ФК) стенокардии проводилась по классификации Канадского кардиологического общества (CCS) (табл. 6).

**Таблица 6**

**Функциональные классы стабильной стенокардии напряжения  
Канадского кардиологического общества (CCS)**

ФК	Проявления
I	Обычная физическая активность не вызывает дискомфорта. Приступ провоцирует лишь продолжительная либо интенсивная нагрузка.
II	Небольшое ограничение обычной физической активности. Стенокардия возникает в результате быстрой ходьбы или быстрого подъёма по лестнице, после еды, или на холоде, или в ветреную погоду, или под влиянием эмоционального стресса, или в первые несколько часов после подъёма с постели; во время ходьбы на расстояние больше 200 м (двух кварталов) по ровной местности или во время подъёма по лестнице более чем на один пролёт в обычном темпе при нормальных условиях.
III	Выраженное ограничение обычной физической активности. Приступ стенокардии возникает в результате ходьбы на расстояние от одного до двух кварталов (100–200 м) по ровной местности или при подъёме по лестнице на один пролёт в обычном темпе при нормальных условиях.
IV	Невозможность выполнять любой вид физической деятельности без возникновения неприятных ощущений.

Клиника стенокардии была выявлена у 100% пациентов, причем большая их часть в обоих исследования относилась к III ФК по Канадской классификации. Лишь во втором исследовании у больных II группы 14 (26,9%) пациентов имели I ФК. (табл. 7).

**Таблица 7**

**Распределение исходного функционального класса стенокардии обследованных больных**

Показатель	1 исследование (n = 48)	2 исследование (n = 107)	
		I группа (n=55)	II группа (n=52)
Безболевая форма	0	0	0
I	0	0	14(26,9%)
II	5(10,4%)	21(38,2%)	6(11,6%)
III	42(87,5%)	32(58,2%)	29(55,7%)
IV	1(2,1%)	2(3,6%)	3(5,8%)

Во втором исследовании статистически достоверной разницы между I и II группами по ФК CCS не получено ( $p=0,08$ ). Средний ФК стенокардии в первом и во втором исследовании в обеих группах составил III ФК.

Из анамнеза, все больные перенесли ИМ в разные сроки до операции, подтвержденные клинико-инструментальными методами исследования. В первом исследовании количество ИМ (ПИКС) составило  $1,4\pm0,1$ , из них Q (+) ИМ составили 40 (83,4%) больных и Q (-) ИМ 8 больных (16,6%). Во втором исследовании в I-ой группе составило  $1,6\pm0,1$  и во II-ой  $1,8\pm0,2$ , при соотношении Q (+) и Q (-) в первой группе 49 (89,0%) и 6 (11,0%) и во второй группе 45 (86,5%) и 7 (13,5%) соответственно (табл. 8).

**Таблица 8**

**Среднее количество ОИМ обследованных больных**

Показатель	1 исследование (n = 48)	2 исследование (n = 107)	
		I группа (n=55)	II группа (n=52)
ПИКС	$1,4\pm0,1$	$1,6\pm0,1$	$1,8\pm0,2$

Функциональный статус пациентов оценивался по классификации Нью-Йоркской ассоциации кардиологов (NYHA) (табл. 9).

**Таблица 9**

**Классификация хронической сердечной недостаточности Нью-Йоркской ассоциации кардиологов (NYHA, 1994)**

ФК, NYHA	Проявления
I	Ограничений в физической активности нет. Обычная физическая нагрузка не вызывает выраженного утомления, слабости, одышки или сердцебиения
II	Умеренное ограничение физической активности. В покое какие-либо патологические симптомы отсутствуют. Обычная физическая нагрузка вызывает слабость, утомляемость, сердцебиение, одышку и др. симптомы
III	Выраженное ограничение физической активности. Больной комфортно чувствует себя только в состоянии покоя, но малейшие физические нагрузки приводят к появлению слабости, сердцебиения, одышки и т.п.
IV	Невозможность выполнять какие-либо нагрузки без появления дискомфорта. Симптомы сердечной недостаточности имеются в покое и усиливаются при любой физической нагрузке

Признаки сердечной недостаточности различной степени выраженности были выявлены у всех пациентов в обоих исследованиях (табл.10).

**Таблица 10**  
**Распределение исходного функционального класса сердечной недостаточности обследованных больных**

Показатель	1 исследование (n = 48)	2 исследование (n = 107)	
		I группа (n=55)	II группа (n=52)
I	2 (4,2%)	-	-
II	5(10,4%)	7(12,7%)	6(11,6%)
III	41(85,4%)	47(85,5%)	40(76,9%)
IV		1(1,8%)	9(17,5%)

Большинство пациентов имели III ФК по NYHA. Во втором исследовании статистической разницы между группами не получено ( $p=0,21$ ), средний ФК сердечной недостаточности в них по NYHA составил 3 ФК, как и у пациентов с ФВ ЛЖ более 36% в первом исследовании.

## 2.2 Методы исследования

Первичное исследование включало в себя сбор анамнеза (истории болезни), осмотр, тест 6-ти минутной ходьбы, опросник качества жизни (SF-36), стандартные лабораторные анализы. Инструментальные методы исследования включали в себя: 12 канальную запись ЭКГ, эхокардиографию с анализом сегментарной сократимости миокарда, поэтапную сцинтиграфию миокарда с Тс-99 МИВI, коронарографию, оценку периферических артерий, электроанатомическое картирование с использованием системы NOGA XP. Больной подписывал информированное согласие об участии в исследовании, проводилась беседа с его родственниками (табл.11).

**Таблица 11****Этапы и виды клинико-функциональных исследований**

Первичное обсл. / Контрольное обсл.	Первично	6 месяцев	12 месяцев	36 месяцев
<b>Обследования</b>				
Жалобы, анамнез	×	×	×	×
Осмотр	×	×	×	×
SF 36 опросник	×	×	×	×
12-ЭКГ	×	×	×	×
Стандарт. лаб.анализы	×	×	×	×
Тест 6 мин. ходьбы	×	×	×	×
ЭхоКГ	×	×	×	×
Сцинтиграфия *	×	×	×	×
Коронарография	×			
Забор костного мозга *	×			
Noga (имплантация МФКМ)	×			
Картирование ЛЖ*	×	×	×	×

*Примечание: \*данные обследования не использовались на первичном/контрольном этапах наблюдения во втором исследовании у больных II группы с изолированным медикаментозным лечением*

### **2.2.1. Качество жизни ("SF-36 Health Status Survey")**

Анализ различных аспектов КЖ выполнен всем больным до и после эндомиокардиальной имплантации МФКМ на выделенных этапах исследования. SF-36 относится к неспецифическим опросникам для оценки качества жизни. 36 пунктов опросника сгруппированы в восемь шкал: физическое функционирование, ролевая деятельность, телесная боль, общее здоровье, жизнеспособность, социальное функционирование, эмоциональное состояние и психическое здоровье. Показатели каждой шкалы варьируют между 0 и 100, где 100 представляет полное здоровье, все шкалы формируют два показателя: душевное и физическое благополучие.

Результаты представлены в виде оценок в баллах по 8 шкалам, составленных таким образом, что более высокая оценка указывает на более высокий уровень качества жизни. Количественно оценивались следующие показатели:

1. Физическое функционирование (Physical Functioning - PF), отражающее степень, в которой физическое состояние ограничивает выполнение физических нагрузок (самообслуживание, ходьба, подъем по лестнице, переноска тяжестей и т.п.). Низкие показатели по этой шкале свидетельствуют о том, что физическая активность пациента значительно ограничивается состоянием его здоровья.
2. Ролевое функционирование, обусловленное физическим состоянием (Role-Physical Functioning - RP) – влияние физического состояния на повседневную ролевую деятельность (работу, выполнение повседневных обязанностей). Низкие показатели по этой шкале свидетельствуют о том, что повседневная деятельность значительно ограничена физическим состоянием пациента.
3. Интенсивность боли (Bodily pain - BP) и ее влияние на способность заниматься повседневной деятельностью, включая работу по дому и вне дома. Низкие показатели по этой шкале свидетельствуют о том, что боль значительно ограничивает активность пациента.
4. Общее состояние здоровья (General Health - GH) - оценка больным своего состояния здоровья в настоящий момент и перспектив лечения. Чем ниже бала по этой шкале, тем ниже оценка состояния здоровья.
5. Жизненная активность (Vitality - VT) подразумевает ощущение себя полным сил и энергии или, напротив, обессиленным. Низкие баллы свидетельствуют об утомлении пациента, снижении жизненной активности.
6. Социальное функционирование (Social Functioning - SF), определяется степенью, в которой физическое или эмоциональное состояние ограничивает

социальную активность (общение). Низкие баллы свидетельствуют о значительном ограничении социальных контактов, снижении уровня общения в связи с ухудшением физического и эмоционального состояния.

7. Ролевое функционирование, обусловленное эмоциональным состоянием (Role-Emotional - RE) предполагает оценку степени, в которой эмоциональное состояние мешает выполнению работы или другой повседневной деятельности (включая большие затраты времени, уменьшение объема работы, снижение ее качества и т.п.). Низкие показатели по этой шкале интерпретируются как ограничение в выполнении повседневной работы, обусловленное ухудшением эмоционального состояния.

8. Психическое здоровье (Mental Health - МН), характеризует настроение наличие депрессии, тревоги, общий показатель положительных эмоций. Низкие показатели свидетельствуют о наличии депрессивных, тревожных переживаний, психическом неблагополучии.

Шкалы группируются в два показателя «физический компонент здоровья» и «психологический компонент здоровья»: Физический компонент здоровья (Physical health – PH). Составляющие шкалы: физическое функционирование, ролевое функционирование, обусловленное физическим состоянием, интенсивность боли, общее состояние здоровья. Психологический компонент здоровья (Mental Health – МН). Составляющие шкалы: психическое здоровье, ролевое функционирование, обусловленное эмоциональным состоянием, социальное функционирование, жизненная активность

### **2.2.2 Эхокардиографическое исследование**

Эхокардиографическое исследование выполнялось всем больным на всех этапах исследования на ультразвуковых аппаратах «VIVID-7» и «VIVID-7D» (General Electric Medical Systems, США). Локальную сократимость оценивали при двухмерном исследовании из разных позиций: парастернальная длинная ось левого желудочка, короткая ось на уровне митрального клапана,

апикальные двух- и четырехкамерную позиции. Американская кардиологическая ассоциация рекомендует деление левого желудочка на 16 сегментов. Для оценки локальной сократимости оценивали движение миокарда и степень его утолщения. Проводилось сравнение локальной сократимости разных сегментов, с количественной оценкой общей сократимости левого желудочка. Для расчета региональной и глобальной сократимости ЛЖ была использована компьютерная программа Ultra Medic Promed. Далее производили обвод контура ЛЖ по эндокарду в систолу и в диастолу, как вручную, так и автоматически с возможностью улучшения яркости, контрастности и резкости изображения. Нарушение локальной сократимости описывали следующими терминами: гипокинезия (снижение амплитуды движения и утолщения миокарда исследуемой области), акинезия (отсутствие движения и утолщения), дискинезия (движение противоположное нормальному и отсутствие утолщения). Помимо показателей глобальной и сегментарной сократимости ЛЖ производилась оценка его объемных показателей, таких как КДО (мл), КСО (мл).

### **2.2.3 Селективная коронарография**

Всем больным, включенным в исследование, исходно была выполнена селективная коронарография на ангиографических установках «CAS-10» (Toshiba, Япония) и «Innova-4100» (General Electric, США), под местной анестезией (20 мл 0,5% раствора новокаина) по методу Judkins с введением катетера путем чрескожной пункции бедренной артерии по Seldinger. У больных с атеросклеротическим поражением артерий нижних конечностей применяли пункцию артерий правой верхней конечности (плечевой, радиальной). Для контрастирования коронарных артерий применяли контрастное вещество Omnipaque 300-350.

Коронароангиографию левой коронарной артерии выполняли в 4 стандартных проекциях по методике Gensini: правая косая  $15^0$  и  $45^0$ , левая косая проекция  $60^0$ , левая боковая  $90^0$ . При необходимости для лучшей

визуализации проксимальных отделов передней нисходящей артерии (ПНА) и огибающей артерии в некоторых случаях применяли дополнительные проекции: левая передняя косая ( $45^0$ - $75^0$ ), каудокраниальная ( $30^0$ ) проекция, левая косая гепатоключичная. Коронарографию правой коронарной артерии выполняли в стандартных проекциях: правой косой  $45^0$ , левой косой  $60^0$ , и левой боковой проекциях  $90^0$  от сагиттальной оси. Обследование проводилось под постоянным мониторингом АД и ЭКГ в трех стандартных отведениях.

#### **2.2.4 Перфузационная сцинтиграфия миокарда**

SPECT- визуализация с использованием 500 МВq Tc99-MIBI проводилась в соответствии двухдневным стресс-отдых (stress-rest) протоколом (European national guidelines for MPI and the European Society of Cardiology and ACC/AHA guidelines, as well as U.S. guidelines for MPI and nuclear cardiology procedures, see references 1–5 in reference list in Guidelines: Anagnostopoulos et al. in Heart 2004;90:i1–10; ESC Guidelines for Exercise Testing; The ACC/AHA Exercise Testing Guidelines; Society of Nuclear Medicine; American Society of Nuclear Cardiology).

Метод основан на оценке распределения в сердечной мышце внутривенно введенного радиофармпрепарата (Tc99-MIBI), который включается в неповрежденные кардиомиоциты пропорционально коронарному кровотоку и метаболической активности миокарда. Таким образом, распределение радиофармпрепарата в миокарде отражает состояние коронарного кровотока. Области миокарда с нормальным кровоснабжением создают картину равномерного распределения радиофармпарепарата. Области миокарда с ограниченным коронарным кровотоком вследствие различных причин определяются как области со сниженным включением радиофармпрепарата, то есть, дефекты перфузии.

### *Методика выполнения исследования*

За три дня до исследования лечащий врач отменял принимаемые пациентом препараты (бета-блокаторы, нитраты, и т.д.). Прием пищи разрешен не позднее, чем за 3 часа до начала процедуры. Проводимая сцинтиграфия миокарда требует исключения из рациона продуктов, с содержанием кофеина: шоколад, кока-колу, кофе, чай, являющихся для сердца лишней нагрузкой. Стандартный протокол включал в себя два этапа – исследования в покое и после нагрузочной пробы, которые проводились по двухдневному протоколу. Исследование строго натощак. Радиофармпрепарат ( $\text{Tc}^{99}\text{-MIBI}$ ) вводился двухкратно.

**Исследование в покое** - проводили спустя 3–4 часа после инъекции радиофармпрепарата в нагрузке (однодневный протокол). Также через 30-60 минут после повторной инъекции радиофармпрепарата проводили SPECT исследование, во время которого пациент находился в горизонтальном положении на спине в течение 25 минут.  $\text{Tc}^{99}\text{-MIBI}$  вводили на пике нагрузки внутривенно, болюсно, активностью 74 МБк.

**Исследование в нагрузке** - учитывая низкую толерантность к физическим нагрузкам пациентов с хронической сердечной недостаточностью, проведение нагрузочной пробы осуществлялась фармакологической нагрузкой с внутривенным введением аденоцина (0.14 мг/кг/мин.) в течение 3-4 минут. Спустя 60-80 минут после введения радиофармпрепарата  $\text{Tc}^{99}\text{-MIBI}$  («Диамед», Россия) проводили регистрацию сцинтиграфических изображений в режиме однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (SPECT). Аналогичная процедура проводилась через 6 и 12 месяцев.

Сцинтиграфию миокарда выполняли на двухдетекторной гамма-камере Infinia Hawkeye 4 (General Electric) с установленными параллельными высокоразрешающими коллиматорами для низких энергий. Запись производилась в матрицу 64\*64 пикселей. Регистрировались 60 проекций,

правая передняя косая проекция, левая передняя косая под углом 30–45° и левая косая проекция под углом 70°. Время на одну проекцию составило 20 секунд (до 100 тыс. импульсов на проекцию). Обработка данных выполнялась на рабочей станции XELERIS с использованием лицензионной программы QPS (Cedars-Sinai, США) и пакета кардиологических программ, установленных на рабочей станции XELERIS. Обработка и анализ изображений проводились с применением визуальной и количественной оценки сцинтиграмм. Количественная обработка данных проводилась на рабочей станции.

При анализе сцинтиграмм оценивали распределение миокардиальной активности радиофармпрепарата по отделам сердца (сегментарное строение), перераспределение и вымывание Tc99-MIBI. При Gated SPECT выполняли визуальную оценку сокращений ЛЖ сердца в систолу и диастолу, что позволило определить участки нормокинезии, гипокинезии и акинезии. Сегменты миокарда, в которых на исходных сцинтиграммах (в покое и после нагрузки) регистрировалось снижение аккумуляции Tc99-MIBI, и которые не включали Tc99-MIBI, считали нежизнеспособными.

Для оценки состояния миокарда была использована полукаличественная 20-сегментарная бальная система со шкалой в баллах от 0 до 4 (0 баллов – нормальная перфузия; 1 балл – умеренное снижение перфузии; 2 балла – значительное снижение перфузии; 3 балла – выраженное снижение перфузии, 4 – отсутствие перфузии).

## **2.3 Методы лечения**

### **2.3.1 Метод имплантации аутологичных клеток костного мозга, техническое обеспечение**

Система NOGA предназначена для построения, анализа и просмотра вольтажных карт, карт сократимости миокарда и электроанатомических карт сердца человека и позволяет непрерывно контролировать положение катетера на построенной трехмерной карте. Точное определение положения

катетера с помощью системы NOGA возможно благодаря использованию запатентованной технологии, в которой под операционным столом располагают эмиттер (источник) магнитного поля (Location Pad). Используемые в системе NOGA навигационные катетеры снабжены пассивными датчиками положения Biosense Webster, от которых непрерывно поступает информация о положении катетера (рис. 2).

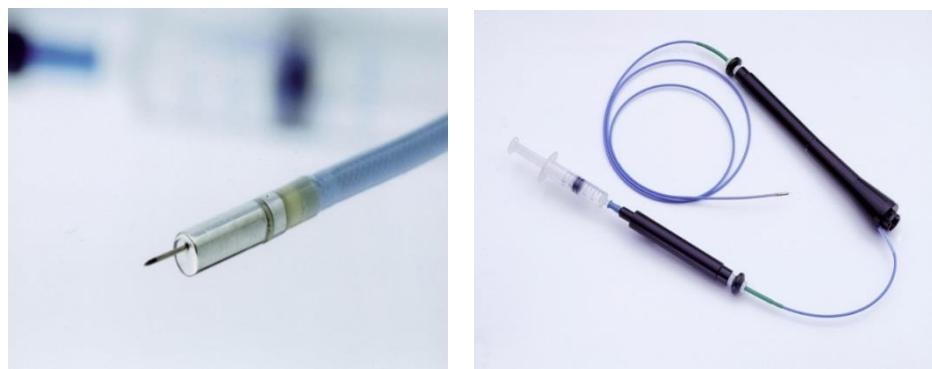


Рисунок 2. Катетер системы Мио Стар.

С помощью магнитных полей, излучаемых эмиттером, определяется положение датчика. Регистрируемые катетером электрограммы, при его перемещении по ткани миокарда, записываются системой NOGA. Катетер системы Мио Стар позволяет выполнять как диагностику, так и лечение, снижая тем самым количество используемых катетеров

### ***Трехмерные карты***

На основе данных электрограмм сердца, после совмещения с полученной информацией о пространственном расположении катетеров, строились карты. Затем в реальном масштабе времени, воспроизводилось на экране трехмерное геометрическое представление камеры сердца с цветовым кодированием значений измеряемых величин – сократимости и подвижности миокарда, локализации зоны рубца и зоны гиперфункционирующего миокарда. Индифферентный электрод (NOGA-RefStar, Biosense Webster, US) для картирования левого желудочка фиксировался на спине больного в проекции сердца. После проведения пункции по Сельдингеру правой бедренной

артерии устанавливался интродьюсер и картирующий электрод, который проводился в полость ЛЖ. Внутрисердечная электрограмма выводилась на монитор электрофизиологического комплекса. Электродом проводилось картирование эндокардиальной поверхности ЛЖ с построением электроанатомического 3D-изображения ЛЖ (система Noga, Biosense Webster, US), для точности построения электрофизиологических карт и получения данных необходимо наличие у пациента синусового ритма. Анализ изображения проводился по вольтажной карте (voltage map) и карте сократимости (укорочения; LLS map). *Вольтажная карта* отображает вольтажную характеристику различных зон ЛЖ, кодируемую в соответствующей цветовой гамме: от красного цвета (наиболее низкий униполярный вольтаж менее 5 мВ, биполярный вольтаж менее 1,5 мВ), что соответствует постинфарктному рубцу через жёлтый, зелёный, синий цвета (переходная зона; униполярный вольтаж от 5 до 7 мВ) к фиолетовому (наиболее высокий вольтаж; более 7 мВ), что отражает здоровый миокард. *Карта сократимости* - отображает амплитуду сокращения различных сегментов ЛЖ, которая кодируется в следующей цветовой гамме: красный цвет - движение стенки в противоположную сторону по отношению ко всем остальным стенкам, что указывает на дискинезию, амплитуда движения от 0 до 7 % – зона гипокинеза (низкой сократимости), амплитуда движения более 7 мм – зона активной сократимости, что соответствует здоровому миокарду. Область оптимальной имплантации СК определялась после сопоставления вольтажной карты и карты сократимости. Выявленная область соответствовала жизнеспособному, но гиберниирующему миокарду со значениями униполярного вольтажа от 5 до 7 мВ.

Для проведения интрамиокардиальных инъекций использовали инъекционный катетер МиоСтар. Катетер МиоСтар также визуализируется системой NOGA XP, как и навигационный катетер, внутри кончика катетера имеется инъекционная игла, которая может выдвигаться для осуществления

инъекции на заданное расстояние, максимальное расстояние от кончика катетера до кончика иглы 6мм. Точность расположения иглы и места инъекции определяют: непрерывный и точный контроль положения кончика инъекционного катетера в режиме реального времени на экране монитора, анализ стабильности контакта кончика инъекционного катетера с поверхностью стенки сердца, возникновение желудочковой экстрасистолы отображает момент интрамиокардиальной инъекции. Точка инъекции имеет специальную систему маркировки на карте камеры сердца.

Общая длительность процедуры (картирование и введение клеток) в среднем составляла  $59 \pm 19$  минут, продолжительность флюороскопии –  $11 \pm 6$  минут. Среднее количество точек необходимое для построения 3D реконструкции эндокардиальной поверхности левого желудочка составило  $90 \pm 22$  точек. В каждый ишемизированный сегмент у каждого пациента вводилось по десять инъекций клеток объемом 0,2 мл.

Среднее число аутологичных клеток, введенных каждому пациенту насчитывало  $41 \pm 16 \times 10^6$ . Фракция CD34/CD45-позитивных клеток составила  $2.5 \pm 1.6\%$ .

### **2.3.2 Протокол эндомиокардиального введения аутологичных стволовых клеток**

*Первый этап* включал в себя выделение и подготовку аутологичных клеток. Он продолжался около 2 часов. В день процедуры за 3-4 часа до имплантации клеток, костный мозг аспирировался из гребня подвздошной кости под местной анестезией по стандартной методике. Для забора костного мозга использовались одноразовые иглы для трепанобиопсии длиной 100 мм и диаметром 11-15G с применением одноразового 20 мл шприца. При этом в разовые шприцы заранее добавляли 1 мл физиологического раствора с гепарином, исходя из расчета – 50 ед. гепарина на 1 мл получаемого аспирата костного мозга. Заранее рекомендуется иметь 3-4 готовых к использованию шприца. Аспират забирался в стерильный флакон с 10 мл

гепаринизированного физиологического раствора с конечной концентрацией гепарина 50 единиц на 1 мл костного мозга.

**Второй этап** - картирование ЛЖ с помощью системы NOGA XP и выявления акинетичных, гипокинетичных рубцовых областей миокарда ЛЖ (этот этап начинался сразу после забора костного мозга и продолжался примерно около 1 часа).

**Третий этап** - имплантация СК в ишемизированный сегмент миокарда левого желудочка.

### **2.3.3 Выделение мононуклеарной фракции аутологичных клеток из аспираата костного мозга**

В условиях стерильного бокса проводилось выделение мононуклеарной фракции аутологичных клеток костного мозга с последующим выполнением дальнейших операций в ламинарном шкафу биологической защиты II класса защиты, при соответствующей экипировке персонала (стерильные перчатки, хирургические костюмы, маски, шапочки, стерильные халаты, бахилы). Полученный аспират костного мозга разводился физиологическим раствором в соотношении 1:3 и пипеткой или степпером насыщался в пробирки BD Vacutainer, на градиент плотности фиколл-урографин 1.077 г/мл, либо предварительно уже разлитый в стерильные прозрачные полипропиленовые пробирки на 50мл с закрывающимися крышками типа Falcon. Необходимо строгое соблюдение соотношения раствора градиента к суспензии костного мозга как 1:1–1:2. Пробирки помещались в терmostатированную центрифугу на 30 минут при  $T=22^{\circ}\text{C}$  со значением g (ускорение) равным 400 и центрифугировали. Полученное «интерфазное кольцо» из мононуклеарных клеток пипеткой снимали с градиента, переносили в стерильную 50 мл пробирку типа Falcon с закрывающейся пробкой, но не более 35 мл, добавляли физиологический раствор до 50 мл, центрифугировали 5 минут с ускорением 400g при  $T=22^{\circ}\text{C}$ .

После центрифугирования пипеткой полностью убирали надосадочную жидкость, добавляли 1 мл физиологического раствора, аккуратно ресуспензировали и забирали аликвоту 50 мкл для подсчета клеточного состава и жизнеспособности. Оставшуюся суспензию клеток доводили до 50 мл физиологическим раствором и центрифугировали 5 минут с ускорением 400g при T=22°C. Пипеткой полностью убирали надосадочную жидкость. Добавляли 30 мл питательной среды RPMI-1640, ресуспензировали клеточный осадок и переносили в два пластиковых культуральных флакона, площадью по 25 см<sup>2</sup>.

#### *Адгезия (плэтинг) мононуклеарной фракции на пластике*

Клеточную суспензию инкубировали 30 минут в СО<sub>2</sub>-инкубаторе с концентрацией СО<sub>2</sub> 5% при T=37°C. Пипеткой снимали неадгезированную суспензию клеток в новую стерильную пробирку на 50 мл, добавляли физиологический раствор до 50 мл, центрифугировали 5 минут с ускорением 400g при T=22°C. Затем полностью убирали надосадочную жидкость, добавляли 1мл физиологического раствора, аккуратно ресуспензировали клеточный осадок и забирали аликвоту 50 мкл для подсчета клеточного состава и жизнеспособности. Повторяли отмывку в 50 мл физиологического раствора. Наконец концентрировали клетки в 1 или 2 мл физиологического раствора, доводя концентрацию до 2.5x10<sup>7</sup> клеток / мл. Затем перемещали клеточную суспензию в шприцы и запаивали в стерильные транспортировочные пакеты.

#### **2.3.4 Метод получения мононуклеарной фракции аутологичных клеток костного мозга из периферической крови.**

Рекомбинантный человеческий G-CSF (Grasalva, Израиль) вводился подкожно в дозе 3,3–5,0 мкг/кг веса в сутки общим количеством пять инъекций. До и после мобилизации G-CSF у пациентов забиралась венозная кровь. На шестые сутки пациентам проводилась процедура аппаратного

цитофереза на сепараторе клеток крови (Haemonetics MCS+, США). Использовалась программа PBSC (получение периферических стволовых клеток), параметры циркуляции и рециркуляции (recirculation № 2, recirc ratio 1/3). МНК из сепарированной крови выделяли на градиенте плотности фиколла/верографина ( $\rho = 1,078$  г/л), дважды отмывали в забуференном физиологическом растворе (ЗФР), подсчитывали количество. Жизнеспособность клеток тестировалась трепановым синим (метод исключения) и достигала более чем 98% для каждого трансплантата.

### **2.3.5 Диагностика клеточного материала**

Перед доставкой клеточного материала в операционную проводили исследование его качества и количества. В начале готовили камеру Горяева, для чего к ней притирали чистое и сухое покровное стекло. Каплю суспензии клеток, предварительно разведенную в 20-40 раз 2% раствором уксусной кислоты в физиологическом растворе подносили к шлифованному краю покровного стекла и заполняли камеру полностью и без пузырей. Клеткам давали осесть в течение 1-2 минут, а затем подсчитывали их в 100 больших квадратах. Результаты подсчета в больших квадратах суммировали и производили вычисления кол-ва клеток в 1 мкл.

Витальная окраска с трепановым синим заключалась в следующем: к 10-20 мкл клеточной суспензии добавляли 1/10 объема 5% раствора трипанового синего в физиологическом растворе. Вносили окрашенную клеточную суспензию в предварительно подготовленную камеру Горяева, подсчитывая процент негативных (т.е. живых, не окрашенных в синий цвет) клеток в 100 больших квадратах.

Для определения клеточного состава использовали метод иммунофлюоресцентной микроскопии. Все манипуляции с антителами производили согласно рекомендациям производителя. Для определения клеточного состава, в предварительно подготовленную камеру Горяева

вносили суспензию клеток, конъюгированных с флюоресцентно-меченными антителами, подсчитывая процент позитивных клеток в 100 больших квадратах с использованием микроскопа исследовательского класса Imager M2 («Zeiss», Германия) с источником флюоресценции и цифровой фотокамерой AxioCam HRc для регистрации результатов.

#### **2.4 Этический комитет**

Это исследование проведено в соответствии с протоколом и стандартными операционными процедурами. Данные процедуры гарантируют строгое соблюдение следующих документов согласно Good Clinical Practice:

1. ICH Harmonized Tripartite Guidelines for Good Clinical Practice 1996.
2. Directive 91/507/EEC, The Rules Governing Medicinal Products in the European Community.
3. Declaration of Helsinki, concerning medical research in humans (Recommendations Guiding Physicians in Biomedical Research Involving Human Subjects, Helsinki 1964, amended Tokyo 1975, Venice 1983, Hong Kong 1989, Somerset West 1996, Edinburgh, 2000 ).

Протокол, согласительная форма и другие документы, касающиеся объекта исследования, рассмотрены и утверждены независимыми членами Этического Комитета ННИИПК имени академика Е.Н. Мешалкина. Дата утверждения 15 февраля 2007 года, протокол № 10.

#### **2.5 Статистическая обработка результатов**

Статистическая обработка данных исследования проводилась средствами интегрированной статистической системы Statistica 10.0 for Windows. В ходе статистического анализа данных использовались методы, относящиеся к следующим основным разделам математической статистики:

- предварительная обработка данных, описательная статистика: графический анализ данных, расчет основных числовых статистических характеристик;

- анализ таблиц сопряженности: таблицы частот, критерий однородности  $\chi^2$  – Пирсона с поправкой Йетса для оценки статистической значимости отличий в значениях качественного показателя (фактора) в нескольких группах;
- статистическая проверка гипотез: непараметрический критерий Манна-Уитни (Mann-Whitney - U Test) для сравнения значений показателя (фактора) в двух независимых группах наблюдений, непараметрический критерий парных сравнений Вилкоксона (Wilcoxon Matched Pairs Test) для сравнения значений показателя (фактора) в зависимых группах наблюдений, ранговый дисперсионный анализ Фридмана (Friedman ANOVA) для сравнения значений показателя (фактора) в нескольких зависимых группах наблюдений;
- ранговый корреляционный анализ: расчет рангового множественного коэффициента конкордации (concordance) для измерения степени взаимосвязи между значениями показателя (фактора), измеренными в разные моменты времени;
- однофакторная и многофакторная логистическая регрессия (Cox regression) использовалась для выявления независимых предикторов всех причин смертности. Выживаемость пациентов оценивалась с помощью лог-рангового критерия (log-rank test) и выражалась графически по методу Kaplan-Meier.

В ходе исследования для проверки статистических гипотез был установлен единый уровень значимости  $\alpha=0,05$ .

## ГЛАВА 3

### **ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ЭНДОМИОКАРДИАЛЬНОЙ ИМПЛАНТАЦИИ МОНОНУКЛЕАРНОЙ ФРАКЦИИ АУТОЛОГИЧНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА И ЕЕ ВЛИЯНИЕ НА КЛИНИЧЕСКОЕ ТЕЧЕНИЕ У БОЛЬНЫХ ИБС ПРИ СОХРАННОЙ И УМЕРЕННО СНИЖЕННОЙ ФРАКЦИИ ВЫБРОСА ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА**

В данное исследование были включены 48 больных с ФВ ЛЖ  $\geq 36\%$  с постинфарктным кардиосклерозом, диффузным атеросклеротическим или дистальным поражением коронарных артерий, с возвратной стенокардией после ранее выполненного коронарного шунтирования ( $n=21$ ), у которых выполнение операции прямой реваскуляризации технически не представлялось возможным. Всем больным было применено комплексное лечение – эндомиокардиальная имплантация МФКМ в сочетании с современной медикаментозной терапией (антиагреганты,  $\beta$ -блокаторы, и-АПФ, АРА, нитраты, статины).

**Цель:** оценка безопасности применения эндомиокардиальной имплантации мононуклеарной фракции аутологичных клеток костного мозга на ее влияние на клиническое течение ИБС.

**Первичная конечная точка:** клиническая безопасность эндомиокардиального введения аутологичных мононуклеарных клеток костного мозга.

**Вторичные конечные точки:** функциональный класс стенокардии, функциональный класс сердечной недостаточности по NYHA, функция левого желудочка (по результатам ЭхоКГ), изменение миокардиального дефекта перфузии, изменение вольтажа с последующим

эндомиокардиальным картированием (униполярный вольтаж), тест 6-ти минутной ходьбы, качество жизни.

### **3.1 Клинико-функциональная характеристика больных**

Средний возраст больных составил  $58,6 \pm 1,6$  лет. В исследовании участвовало 42 (87,5%) мужчин и 6 (12,5%) женщин. Из анамнеза, все больные перенесли ИМ в разные сроки до операции, подтвержденные клинико-инструментальными методами исследования. Количество ИМ (ПИКС) составило  $1,4 \pm 0,1$ , из них Q (+) ИМ составили 40 (83,4%) больных и Q (-) ИМ 8 больных (16,6%). Из сопутствующей патологии доминировали ГБ и ожирение соответственно 36(75,5%) и 34(70,8%).

Ниже в табл. 12 приведена динамическая характеристика жалоб пациентов.

**Таблица 12**

#### **Изменение жалоб больных в периоды лечения и наблюдения**

Показатель	исходно (n=48)	6 мес. (n=45)	12 мес. (n=45)	36 мес. (n=41)
Боли за грудиной	48 (100%)	13 (28,9%)	16(35,6%)	31(75,6%)
Одышка	34 (70,8%)	11(24,4%)	14(31,1%)	30(73,1%)
Периферич. отёки	4 (8,3%)	0	2(4,4%)	1(2,4%)

Как видно наиболее часто больными предъявлялись жалобы на боли за грудиной при физической нагрузке. При этом одышка и отеки на ногах присутствовали соответственно у 34(70,8%) и 4(8,3%) больных. Через 12 месяцев, боли за грудиной и одышка, сохранялись у 28,9% больных, а через 36 месяцев наблюдения отмечался постепенный возврат боли при выполнении физической нагрузки за грудиной у 75,6% пациентов. Жалобы на одышку вернулись к исходному уровню (73,1%). При этом важно отметить, что жалобы на отеки в области нижних конечностей по сравнению с исходными данными на всех дальнейших этапах наблюдения снизились до 2,4% с исходных 8,3%.

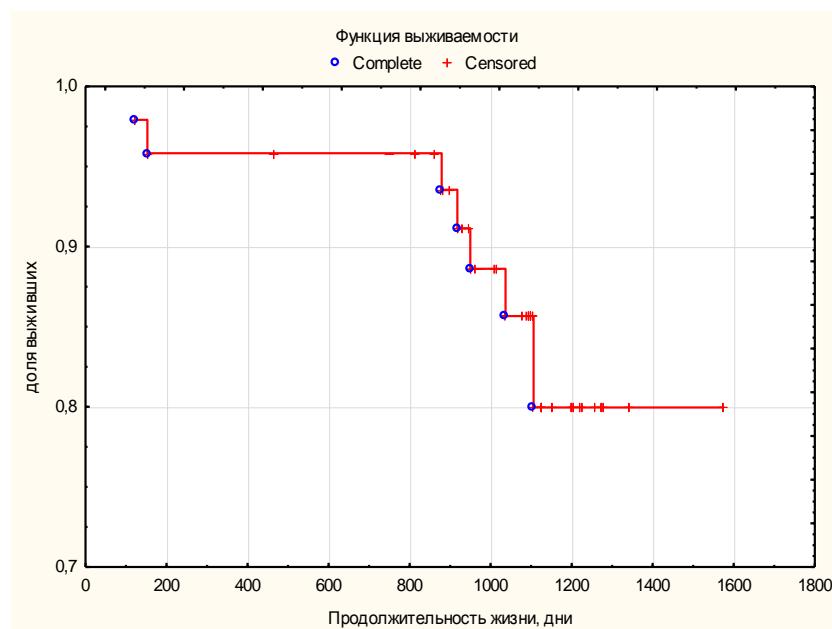
## *Клинические результаты*

### **Первичная конечная точка**

Во время выполнения эндомиокардиальной имплантации МФКМ ни один больной не имел интраоперационных осложнений. В раннем и отдаленном послеоперационном периоде через 12 и 36 месяцев, согласно результатам ЭХОКГ в динамике, данных за травматическое повреждение ЛЖ не было. Лабораторные показатели, такие как активность креатинкиназы, время накопления и пиковый уровень тропонина I оставались неизменными. Все больные были выписаны из стационара на 3-5 сутки.

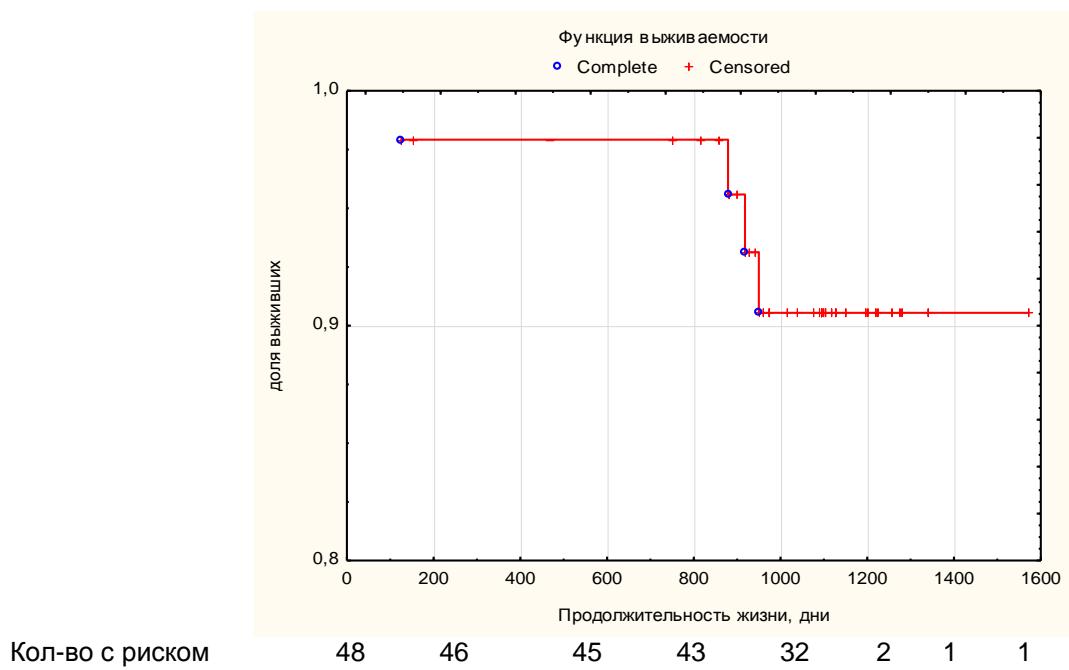
### *Неблагоприятные события раннего и отдаленного послеоперационного периода*

Общая летальность на этапе 36-месячного контроля составила 14,5% (7 больных), из них от СН умерло через 12 месяцев 4,1% (2 больных), через 36 месяцев 8,3% (4 больных). 6,2% (3 больных) погибли от вненесердечных причин (несчастный случай, ЖКК и ОНМК). Функция выживаемости в данной группе представлена ниже графически по методу Kaplan-Meier (все причины летальности (рис.3) и только СН (рис.4)).



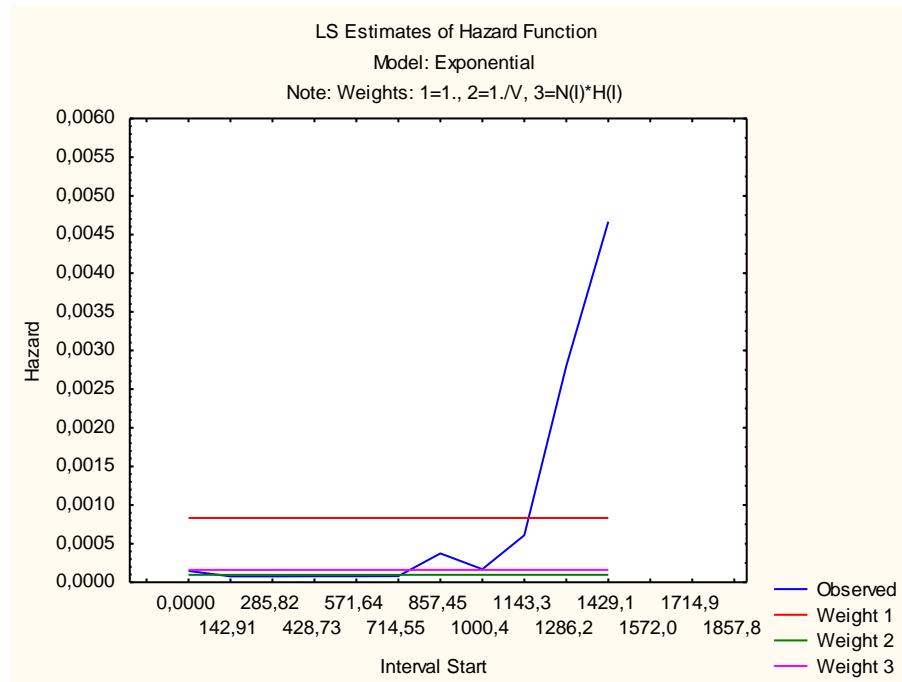
Кол-во с риском      48      46      45      43      32      2      1      1

*Рисунок 3. Выживаемость пациентов за период наблюдения 36 месяцев (график Kaplan Meier) (все причины летальности)*



*Рисунок 4. Выживаемость пациентов за период наблюдения 36 месяцев (график Kaplan Meier) (причина летальности CH)*

Ниже на рис.5 представлена функция мгновенного риска (Hazard Function).



*Рисунок 5. Функция мгновенного риска*

Как видно показатель мгновенного риска с первых дней находится на низком уровне до 1143 дня (в границах 0,0005) и повышается к 1429 дню до максимального уровня 0,0045.

Оценка продолжительности жизни пациентов после операции была выполнена с построением таблицы времен жизни (табл. 13). Данные полученные при ее изучении указывают на то, что на начальном этапе больные после эндоэнокардиальной имплантации МФКМ с вероятностью равной 1 проживают больше 1442 дней, а на последнем двенадцатом интервале 71 день с вероятностью равной 0,5.

**Таблица 13****Таблица времен жизни**

интервал	интервал начальный	интервал последующий	число случаев	цензурировано	в интервале			кумулятивная доля выживших	мгновенный риск	станд. ошибка кумулятивная	Медиана
					умерло	доля умерших	доля выживших				
1	0,000	142,9	48	0	1	0,020	0,979	1,000	0,00014	0,000	1442,1
2	142,9	142,9	47	1	0	0,010	0,989	0,979	0,000076	0,020	1304,9
3	285,8	142,9	46	0	0	0,010	0,989	0,968	0,000076	0,025	1164,8
4	428,7	142,9	46	1	0	0,010	0,989	0,958	0,000077	0,028	1024,8
5	571,6	142,9	45	0	0	0,011	0,988	0,947	0,000078	0,032	884,8
6	714,5	142,9	45	2	0	0,011	0,988	0,937	0,000080	0,035	744,7
7	857,4	142,9	43	9	2	0,051	0,948	0,926	0,00037	0,037	604,7
8	1000,3	142,9	32	22	0	0,023	0,976	0,878	0,00016	0,048	474,9
9	1143,2	142,9	10	8	0	0,083	0,916	0,857	0,00060	0,055	337,7
10	1286,1	142,9	2	1	0	0,333	0,666	0,785	0,0027	0,109	214,3
11	1429,0	142,9	1	0	0	0,500	0,500	0,523	0,0046	0,311	71,4
12	1572,0		1	1	0	1,000	0,000	0,261		0,304	

### **Вторичные конечные точки**

#### *Динамика клинических показателей*

При контрольном обследовании отмечено статистически значимое улучшение ФК стенокардии через 6 месяцев в 38 (78,6%) ( $p=0,0006$ ) случаев, через 12 месяцев у 34(69,7%) ( $p=0,001$ ) и через 36 месяцев у 26 (48,5%) ( $p=0,02$ ) пациентов (табл. 14).

**Таблица 14****Динамика показателя функционального класса стенокардии (CCS)**

ФК СН	Период			
	исходно (n=48)	6 мес. (n=45) *	12 мес. (n=45) ≠	36 мес. (n=41) #
0	0	1(2,2%)	3(6,7%)	3(7,3%)
1	0	12(26,7%)	11(24,4%)	1(2,5%)
2	5(10,4%)	28(62,2%)	23(51,1%)	21(51,2%)
3	42(87,5%)	4(8,9%)	8(17,8%)	16(39,0%)
4	1(2,1%)	0	0	0

Примечание: достоверность относительно исходных данных: \* $p=0,0006$ ;  $\neq p=0,001$ ; #  $p=0,02$

Класс ХСН (NYHA) повысился также статистически значимо через 6 месяцев у 34(69,8%) ( $p= 0,001$ ); 12 месяцев у 29(59,1%) ( $p=0,002$ ) и через 36 месяцев у 17 (26,9%) ( $p= 0,05$ ) пациентов (табл.15).

**Таблица 15****Динамика показателя функционального класса стенокардии (NYHA)**

ФК ХСН	Период			
	исходно (n=48)	6 мес. (n=45) *	12 мес. (n=45) ≠	36 мес. (n=41) #
I	2 (4,2%)	4(8,8%)	7(15,6%)	4(9,8%)
II	5(10,4%)	34(75,6%)	26(57,8%)	13(31,7%)
III	41(85,4%)	7(15,6%)	12(26,6%)	24(58,5%)

Примечание: достоверность относительно исходных данных: \* $p=0,001$ ;  $\neq p=0,002$ ; #  $p=0,05$

Прием сублингвальных нитратов уменьшился: по истечении 6 месячного наблюдения их принимали - 24(53%) ( $p=0,03$ ) больных, 12 месячного- 20(44,4%) ( $p= 0,02$ ) и 36 месячного контроля 19(42,2%) ( $p=0,01$ ) больных (табл.16)

**Таблица 16****Динамика приема нитратов**

Показатель	M±m				P*
	исходно	6 месяцев	12 месяцев	36 месяцев	
Нитраты	36(75%)	24(53%)	20(44,4%)	19(42,2%)	0,01

Примечание: \* значение Р относительно исходных данных через 36 месяцев

Расстояние, пройденное во время 6-минутного теста ходьбы после эндокардиальной имплантации МФКМ, на этапе 6, 12 и 36-ти месячного контроля возросло с исходных  $255,2 \pm 17,4$  метров до процедуры до  $354,1 \pm 16,5$  ( $p=0,0005$ ) и  $357,8 \pm 17,9$  ( $p=0,0003$ ) и  $317,1 \pm 16,6$  ( $p=0,03$ ) метров соответственно (табл.17).

**Таблица 17****Динамика показателя 6-ти минутного теста ходьбы**

Показатель	M±m				P*
	исходно	6 месяцев	12 месяцев	36 месяцев	
6-мин. Тест	$255,2 \pm 17,4$	$354,1 \pm 16,5$	$357,8 \pm 17,9$	$317,1 \pm 16,6$	0,03

*Примечание: \* достоверность относительно исходных данных через 36 месяцев*

*Динамика функциональных показателей*

Функция левого желудочка оценивалась по данным ЭХОКГ. ФВ ЛЖ, как и показатели КДО ЛЖ, КСО ЛЖ, УО, степени МР и давления в стволе легочной артерии (рЛА) остались практически неизменными на протяжении 6 месячного, 12 и 36 месячного контроля (табл. 18).

**Таблица 18****Клинико-функциональные показатели у обследованных больных ( $M \pm m$ ), в течение периода наблюдения**

Показатель	Период				P*
	исходно (n=48)	6 мес. (n=45)	12 мес. (n=45)	36 мес. (n=41)	
ФВ ЛЖ, %	$52,2 \pm 0,9$	$52,0 \pm 1,9$	$50,0 \pm 2,1$	$51,6 \pm 1,5$	0,89
КДО ЛЖ, мл	$134,7 \pm 9,1$	$152,5 \pm 10,1$	$148,7 \pm 5,7$	$145,1 \pm 10,2$	0,55
КСО ЛЖ, мл	$71,9 \pm 6,4$	$79,7 \pm 3,8$	$78,4 \pm 7,1$	$76,5 \pm 9,3$	0,16
КДР ЛЖ, см	$5,2 \pm 0,1$	$4,4 \pm 0,1$	$4,8 \pm 0,1$	$5,2 \pm 0,1$	0,60
УО, мл	$68,5 \pm 3,6$	$72,9 \pm 6,2$	$70,7 \pm 4,5$	$68,7 \pm 4,0$	0,81
МР	$1,1 \pm 0,1$	$1,0 \pm 0,1$	$0,9 \pm 0,1$	$0,9 \pm 0,1$	0,33
рЛА, мм.рт.ст	$28,3 \pm 0,9$	$30,1 \pm 0,7$	$30,8 \pm 0,9$	$29,4 \pm 1,0$	0,13

*Примечание: \*достоверность относительно исходных данных*

Для проверки гипотезы о статистической значимости отличий между значениями показателей, измеренными в разные моменты времени: исходно, 6 месяцев, 12 месяцев, 36 месяцев использовался критерий Фридмана и значения коэффициента конкордации W (табл.19).

**Таблица 19**  
**Изменения клинико-функциональных показателей за периоды наблюдения**

Показатель	M±m				P	W
	исходно	6 мес.	12 мес.	36 мес.		
ФК СН	2,93±0,07	1,74±0,14	1,79±0,18	2,24±0,19	0,000061	0,52
ФК ХСН	2,81±0,11	2,08±0,10	2,14±0,13	2,54±0,14	0,00013	0,45
6-мин. тест	255,23±17,47	354,14±16,53	357,85±17,91	317,07±16,65	0,000062	0,46
ФВ ЛЖ	52,21±0,94	52,23±1,49	60,40±1,26	60,55±1,19	0,71	0,03
КДО ЛЖ	134,71±9,12	152,53±10,1	148,71±5,71	145,12±10,21	0,17	0,09
КСО ЛЖ	71,94±6,44	79,67±3,81	78,44±7,12	76,54±9,32	0,28	0,068
КДР ЛЖ	5,23±0,85	4,44±0,87	4,81±0,97	5,21±0,96	0,43	0,19
УО	68,48±3,61	72,89±6,24	70,72±4,45	68,74±3,95	0,86	0,01
МР	1,09±0,08	1,04±0,08	0,94±0,08	0,92±0,08	0,26	0,1
р в ЛА	28,32±0,81	30,12±0,72	30,82±0,85	29,42±0,96	0,13	0,14

Анализируя динамику ФК СН, ФК ХСН, 6-минутного теста, ФВ ЛЖ и его объемных показателей, МР, рЛА в исследуемой группе можно отметить, что при сопоставлении данных статистически значимо улучшились показатели ФК СН, ФК ХСН, 6-минутного теста (при уровне 0,05 согласно критерию Фридмана).

Для подтверждения статистической значимости отличий между значениями показателей в разные моменты парных измерений: исходно и через 6 месяцев, исходно и через 12 месяцев, исходно и через 36 месяцев в группе с ФВ ЛЖ $\geq 50\%$  использовался критерий Вилконсона. В табл. 20 приведены результаты расчетов, которые также показывают статистически

значимые улучшения ФК СН, ФК ХСН и 6-ти минутного теста в сравнении с исходными показателями при уровне 0,05 согласно критерию Вилконсона.

**Таблица 20**

**Изменения клинико-функциональных показателей за весь период наблюдения в сравнении с исходными данными**

Показатель	р – значение		
	исходно и 6 месяцев	исходно и 12 месяцев	исходно и 36 месяцев
ФК СН	0,00055	0,0012	0,021
ХСН	0,0011	0,0027	0,05
6 мин. Тест	0,00055	0,00037	0,026
ФВ ЛЖ	0,55	0,59	0,9
КДО ЛЖ	0,26	0,19	0,55
КСО ЛЖ	0,26	0,13	0,16
КДР ЛЖ	0,86	0,19	0,60
УО	0,73	0,70	0,81
МР	0,13	0,15	0,33
р в ЛА	0,51	0,26	0,26

*Перфузия миокарда по данным сцинтиграфии с Tc99-MIBI*

Миокардиальная перфузия оценивалась по результатам 2-х этапной перфузионной сцинтиграфии и выполнялась с целью выявления участков миокарда с нарушенной перфузией. В течение 36 месяцев суммарный индекс перфузии в покое и при нагрузке имел тенденцию к положительной динамике относительно исходных данных соответственно ( $p=0,02$  и  $p=0,03$ ) (табл. 21, рис. 6).

**Таблица 21**

**Данные сцинтиграфии миокарда, в баллах ( $M \pm m$ )**

Этап исследования	Показатель		
	В покое	При нагрузке	Разница показателей
исходно	19,4±2,2	22,8±1,7	-3,6±0,8
6 мес. после лечения	17,7±2,4	18,7±1,9	-1,7±0,8
12 месяцев после лечения	15,3±4,1	18,1±4,4	-2,5±1,0
36 месяцев после лечения	15,1±3,0	18,1±3,3	-2,5±1,1
P*	0,02	0,03	0,03

*Примечание: \*достоверность исходно и 36 месяцев после лечения*

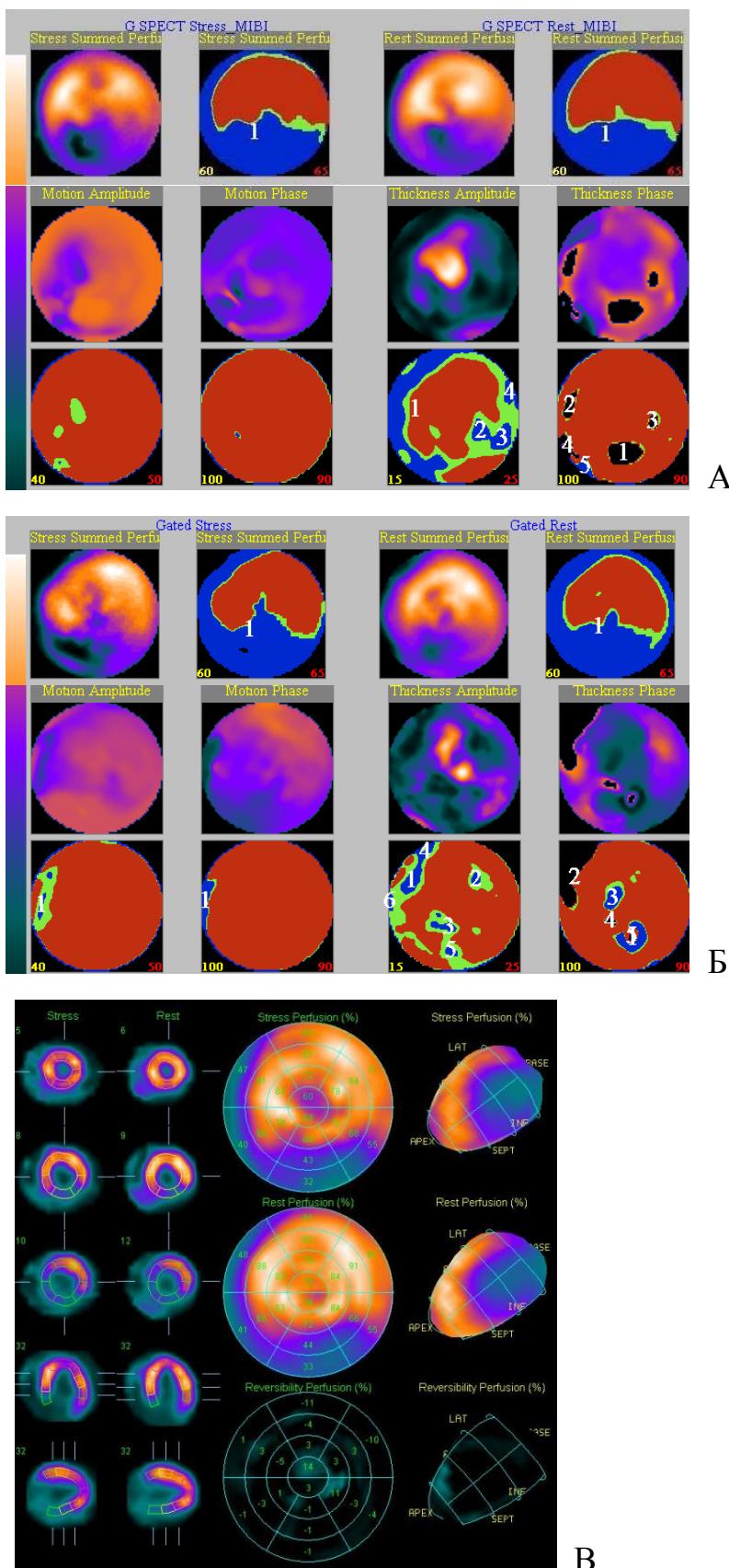
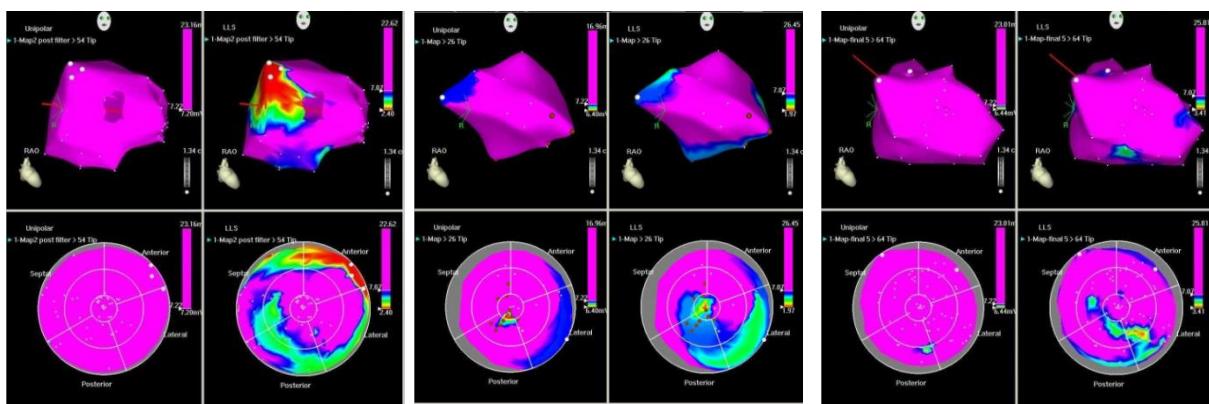


Рисунок 6. Данные двухэтапной перфузионной сцинтиграфии миокарда больной Н., 59 лет. А- до начала лечения, В - через 12 месяцев, В-через 36 месяцев после имплантации МФКМ.

Отмечается улучшение перфузии миокарда в ранее нарушенных участках (увеличение и сохранение зоны красного цвета) на протяжении всех этапов исследования. При оценке сегментарной перфузии в области воздействия в исследуемой группе выявлено уменьшение стабильных и преходящих дефектов перфузии в отдаленном периоде.

#### *Электроанатомическое картирование левого желудочка*

Электроанатомическое картирование ЛЖ проводилось больным через 6, 12 и 36 месяцев. На всех контрольных этапах его проведения общее число точек и их распределение (число точек в сегменте) незначительно отличалось от первоначального картирования. Общий униполярный вольтаж (UV) увеличился с исходных  $13,3 \pm 4,4$  мВ до  $16,0 \pm 5,3$  через 12 месяцев ( $p=0,07$ ), и в дальнейшем наблюдался незначительный рост данных показателей в течении 36 месяцев. В тех сегментах, в которые МФККМ не вводилась, униполярный вольтаж оставался практически неизменным на протяжении 36 месяцев ( $15,7 \pm 4,8$  мВ и  $16,4 \pm 4,8$  мВ;  $p=0,3$ ). Как видно ниже из рис. 7 и 8: А – до начала лечения, отмечается зона нарушения перфузии (красный цвет) на фоне миокарда с нормальной перфузией (сиреневый цвет); Б – через 12 месяцев и В – через 36 месяцев после лечения, отмечается улучшение перфузии миокарда в ранее нарушенных участках (уменьшение зоны красного цвета).

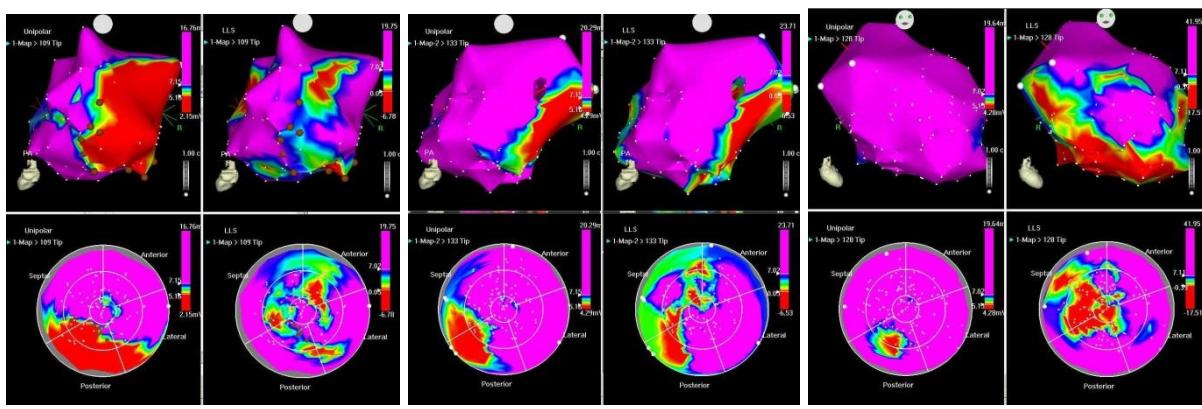


А

Б

В

*Рисунок 7. Данные электрофизиологического исследования миокарда больной Д., 48 лет. А – до начала лечения; Б – через 12 месяцев после имплантации МФККМ, В – через 36 месяцев после имплантации МФККМ.*



A

Б

В

*Рисунок 8. Данные электрофизиологического исследования миокарда, больной С., 60 лет. А – до начала лечения; Б – через 12 месяцев, В – через 36 месяцев после лечения.*

### *Качество жизни*

Ниже представлены статистические значимые результаты расчетов по критериям Фридмана (табл.22) изменений показателей качества жизни.

**Таблица 22**

### **Результаты расчетов основных показателей качества жизни по критерию Фридмана**

Показатель	M±m				P
	исходно	6 мес.	12 мес.	36 мес.	
PF	33,17±1,88	53,62±3,07	55,17±2,89	45,18±2,80	0,0000037
RP	6,67±2,92	30,17±6,13	39,66±6,27	35,71±8,18	0,00036
BP	41,10±2,22	67,10±2,49	65,69±2,97	52,61±4,09	0,0000016
GH	41,07±2,10	49,34±2,31	48,07±2,10	50,25±2,75	0,014
VT	50,33±2,30	68,97±2,05	65,86±2,14	56,64±4,06	0,0000032
SF	59,07±2,51	87,28±2,48	86,86±2,53	77,64±3,57	0,0000098
RE	35,20±1,53	69,52±1,96	69,59±3,06	51,89±3,59	0,0000011
MH	59,73±2,21	72,93±1,81	69,93±1,88	70,00±2,35	0,00007

Далее в табл. 23 представлены изменения статистических характеристик показателей качества жизни при сравнении: исходно и 6 месяцев, исходно и 12 месяцев, исходно и 36 месяцев, видно, что все изучаемые показатели имели статистически значимое улучшение по отношению к исходным показателям с небольшим снижением к 36 месячному наблюдению, но не достигли исходного уровня, таким образом сохраняя положительную динамику.

**Таблица 23**

**Результаты расчетов основных показателей качества жизни по критерию Вилкоксона**

Показатель	р – значение		
	исходно и 6 месяцев	исходно и 1 год	исходно и 3 года
PF	0,000006	0,000007	0,00042
RP	0,0021	0,00032	0,0037
BP	0,000008	0,000006	0,018
GH	0,0033	0,018	0,0025
VT	0,000008	0,000077	0,06
SF	0,000007	0,000008	0,00015
RE	0,000003	0,000008	0,00098
MH	0,000011	0,00096	0,0023

Ниже на рис. 9 отображены графики изменения показателей качества жизни за период 36 месячного наблюдения, которые отражают динамику улучшения всех показателей в первые 6 месяцев, данные изменения сохранялись до 12 месяцев и к концу 36 месячного наблюдения несколько снижались, но без возврата к исходному уровню.

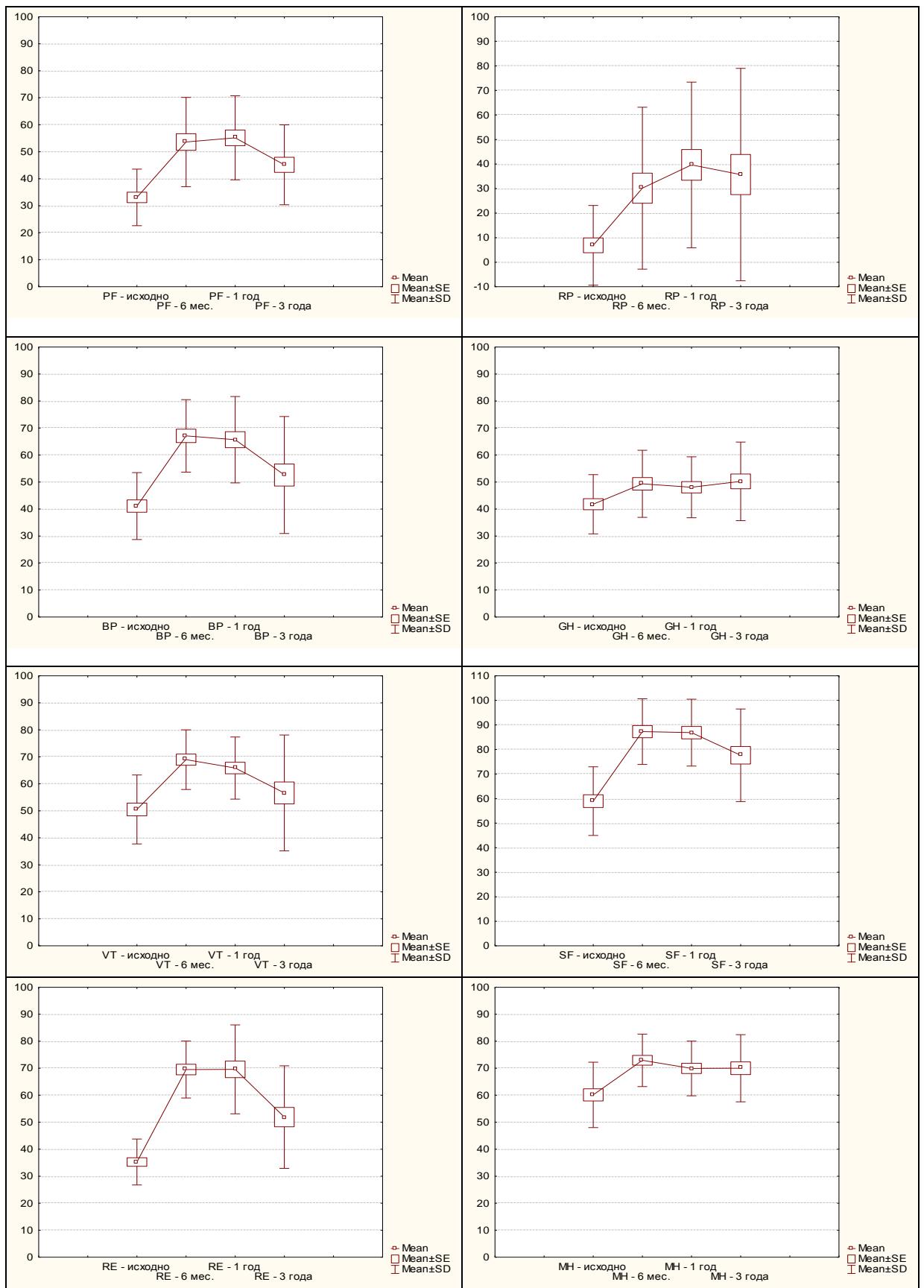


Рисунок 9. Графики Бокса-Вискера изменения показателей качества жизни

## РЕЗЮМЕ

Таким образом, по данным проведенного исследования эндомиокардиальное введение аутологичных мононуклеарных клеток костного мозга является безопасной клинической процедурой. Во время её выполнения, а также в раннем и отдаленном послеоперационном периодах осложнений и критических изменений в основных лабораторных показателях зарегистрировано не было. Общая летальность на этапе 36-месячного контроля составила 14,5% (7 больных), из них от кардиальных причин умерло через 12 месяцев 4,1% (2 больных), через 36 месяцев 8,3% (4 больных). 6,2% (3 больных) погибли от внесердечных причин (несчастный случай, ЖКК и ОНМК). Функция мгновенного риска с первых дней находилась на низком уровне до 1143 дня (в границах 0,0005) и повышалась к 1429 дню до максимального уровня 0,0045. По данным оценки продолжительности жизни пациентов после операции на начальном этапе после эндомиокардиальной имплантации МФКМ с вероятностью равной 1 проживают больше 1442 дней, а на последнем двенадцатом интервале 71 день с вероятностью равной 0,5.

Прогрессирование СН не наблюдалось ни у одного из пациентов. ФК стенокардии напряжения (CCS) и ХСН (NYHA) статистически значимо улучшились у большинства пациентов. В соответствии с этим уменьшилось число больных принимающих сублингвальные нитраты.

По данным 6-минутного теста ходьбы после эндомиокардиальной имплантации МФКМ, на всех этапах контроля расстояние, пройденное больными достоверно возросло.

На протяжении всего срока наблюдения ЭХОКГ показатели ФВ ЛЖ, КДО ЛЖ, КСО ЛЖ, УО, степени митральной регургитации и давления в легочной артерии остались практически неизменными. По данным сцинтиграфии миокарда и электроанатомического картирования отмечается значимое улучшение перфузии миокарда в ранее нарушенных участках.

Показатели качества жизни также претерпели статистически значимое улучшение по отношению к исходным данным.

Таким образом положительный клинический эффект после эндовиокардиальной имплантации МФКМ удерживается в течение 12-24 месяцев, с постепенным его уменьшением к 36 месяцам, которое не достигает исходных значений и сохраняет статистическую достоверность его улучшения.

## ГЛАВА 4

# **КЛИНИКО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЭНДОМИОКАРДИАЛЬНОЙ ИМПЛАНТАЦИИ МОНОНУКЛЕАРНОЙ ФРАКЦИИ АУТОЛОГИЧНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА ПРИ ВЫРАЖЕННОЙ ИШЕМИЧЕСКОЙ ДИСФУНКЦИИ МИОКАРДА**

В данное исследование включены больные с ФВ ЛЖ ≤ 35% (n=107), которые были рандомизированы на две группы: I группа - 55 больных с выраженной ишемической дисфункцией миокарда, которым выполнялась эндомиокардиальная имплантация МФКМ в сочетании с современной медикаментозной терапией и II группа - 52 больных, получавших только современную медикаментозную терапию. Медикаментозная терапия СН и ИБС, была одинаковой в обеих группах. Медикаментозная терапия существенно не отличались в течение периода наблюдения, за исключением дозы нитратов.

**Цель исследования:** оценка клинико-функциональной эффективности лечения больных с выраженной ишемической дисфункцией миокарда, после эндомиокардиальной имплантации МФКМ в сочетании с медикаментозной терапией и при изолированном медикаментозном лечении.

### **4.1 Клинико-функциональная характеристика больных с эндомиокардиальной имплантацией МФКМ в сочетании с медикаментозной терапией**

В данный фрагмент исследования вошли 55 больных (I группа): с постинфарктным кардиосклерозом (n=30), диффузным атеросклеротическим поражением коронарных артерий, с возвратной стенокардией после ранее выполненного коронарного шунтирования (n=25), в лечении которых

использовалась эндомиокардиальная имплантация МФКМ в сочетании с современной медикаментозной терапией.

**Первичная конечная точка:** оценка эффективности эндомиокардиальной имплантации МФКМ на 6, 12 и 36 месячном этапе исследования. Клиническим параметром, определяющим первичную конечную точку, явилась дистанция, проходимая во время теста 6-минутной ходьбы

**Вторичные конечные точки:** безопасность применения МФКМ, функциональный класс стенокардии, функциональный класс сердечной недостаточности по NYHA, функция левого желудочка (по результатам ЭХОКГ), изменение миокардиального дефекта перфузии, изменение вольтажа с последующим эндомиокардиальным картированием (унипольярный вольтаж), качество жизни.

Соотношение принявших участие в исследовании мужчин/женщин составило соответственно 49/6 (89,1/10,9%), а средний возраст пациентов  $57 \pm 1,1$  лет. Количество ИМ (ПИКС) составило  $1,6 \pm 0,1$ . Из сопутствующей патологии доминировали ГБ и ожирение соответственно 47(77,1%) и 35 (63,6%) больных. Всем больным проводилась стандартная медикаментозная терапия, направленная на уменьшение проявлений стенокардии и сердечной недостаточности.

Ниже в табл. 24. приведена динамическая характеристика жалоб пациентов. Из нее видно, что наиболее часто, исходно 44 (80%) больных предъявили жалобы боли за грудиной при физической нагрузке. При этом одышка и отеки в области нижних конечностей присутствовали соответственно у 47 (85%) и 15 (27%) больных. Через 6 месяцев отмечено снижение частоты жалоб на боли за грудиной – 16 (31%). В дальнейшем через 12 и 36 месяцев зарегистрировано постепенное нарастание частоты всех изучаемых показателей, но их проявления не достигли исходных значений.

**Таблица 24****Характеристика частоты жалоб больных в динамике**

Показатель	исходно (n=55)	6 месяцев (n=51)	12 месяцев (n=43)	36 месяцев (n= 32)
Боли за грудиной	44 (80%)	16 (31%)	20 (47%)	17 (53%)
Одышка	47 (85%)	30 (59%)	27 (63%)	24 (75%)
Периферические отеки	15 (27%)	7 (14%)	4 (9%)	4 (13%)

*Клинические результаты***Первичная конечная точка**

Расстояние, пройденное во время 6-ти минутного теста ходьбы после эндокардиальной имплантации МФКМ, на этапе 6, 12 и 36-ти месячного контроля значительно возросло с исходных  $215,7 \pm 11,0$  метров до процедуры до  $302,1 \pm 10,6$  ( $p=0,0000001$ ) и  $304,3 \pm 13,0$  ( $p=0,00001$ ) и  $281,1 \pm 14,6$  ( $p=0,006$ ) метров соответственно (табл.25).

**Таблица 25****Динамика показателя 6-ти минутного теста ходьбы**

Показатель	M±m				P*
	исходно (n=55)	6 мес. (n=51)	12 мес. (n=43)	36 мес. (n=32)	
6-мин. тест	215,7±11,0	302,1±10,6	304,3±13,0	281,1±14,6	0,006

*Примечание: \* достоверность относительно исходных данных через 36 месяцев*

**Вторичные конечные точки**

Во время выполнения эндомиокардиальной имплантации МФКМ ни один больной не имел интраоперационных осложнений. Ранний послеоперационный период также протекал без осложнений. Лабораторные показатели, такие как активность креатинкиназы и уровень тропонина Т оставались неизменными.

### *Динамика клинических показателей*

Функциональный класс стенокардии достоверно улучшился через 6 месяцев у 25 (49,0%) больных ( $p=0,00004$ ), через 12 месяцев у 26 (50,9%) ( $p=0,00003$ ) и через 36 месяцев у 20 (46,5%) пациентов ( $p= 0,003$ ) (табл. 26).

**Таблица 26**

#### **Динамика показателя функционального класса стенокардии**

ФК СН	Период			
	исходно (n=55)	6 мес. (n=51)*	12 мес. (n=43) ≠	36 мес. (n=32) #
0	-	1(1,9%)	2(4,6%)	1(3,1%)
1	-	10(19,7%)	9(20,9%)	7(21,8%)
2	21(38,2%)	31(60,8 %)	24(55,8%)	10(31,3%)
3	32(58,2%)	9(17,6%)	8(18,6%)	14(43,8%)
4	2(3,6%)	-	-	-

*Примечание: достоверность относительно исходных данных: \*p=0,00004; ≠p=0,00004; # p=0,00003*

Класс ХСН (NYHA) повысился статистически значимо через 6 месяцев у 19(30,5%) больных ( $p= 0,0003$ ); 12 месяцев у 23(29,2%) ( $p=0,001$ ) и через 36 месяцев у 27(21,8%) пациентов ( $p= 0,005$ ) (табл.27).

**Таблица 27**

#### **Динамика показателя функционального класса стенокардии (NYHA)**

ФК ХСН	Период			
	исходно (n=55)	6 мес. (n=51) *	12 мес. (n=43) ≠	36 мес. (n=32) #
I	-	4(7,8%)	7(16,2%)	5(15,6%)
II	7(12,7%)	18(35,2%)	11(25,6%)	6(18,8%)
III	47(85,5%)	29(56,8%)	25(58,1%)	21(65,6%)
IV	1(1,8%)	-	-	-

*Примечание: достоверность относительно исходных данных: \*p=0,0003; ≠p=0,001; # p=0,005*

Прием сублингвальных нитратов уменьшился: по истечении 6 месяцев наблюдения их принимали - 19(44,1%) ( $p= 0,04$ ), 12 месяцев - 16(37,2%) ( $p=0,03$ ) и 36 месяцев - 11(34,3%) ( $p=0,01$ ) больных (табл. 28).

**Таблица 28****Динамика приема нитратов**

Показатель	$M \pm m$				$P^*$
	исходно (n=55)	6 мес. (n=51)	12 мес. (n=43)	36 мес. (n=32)	
нитраты	28(54,9%)	19(44,1%)	16(37,2%)	11(34,3%)	0,01

*Примечание:* \*достоверность относительно исходных данных через 36 месяцев

**Динамика функциональных показателей**

Функция левого желудочка в целом улучшилась на всех этапах контроля. ФВ ЛЖ увеличилась в среднем с исходных  $25,4 \pm 0,7\%$  до  $31,6 \pm 1,1\%$  через 36 месяцев ( $p = 0,01$ ); КДР и УО левого желудочка ( $p=0,009$  и  $p=0,03$ ) (табл. 29).

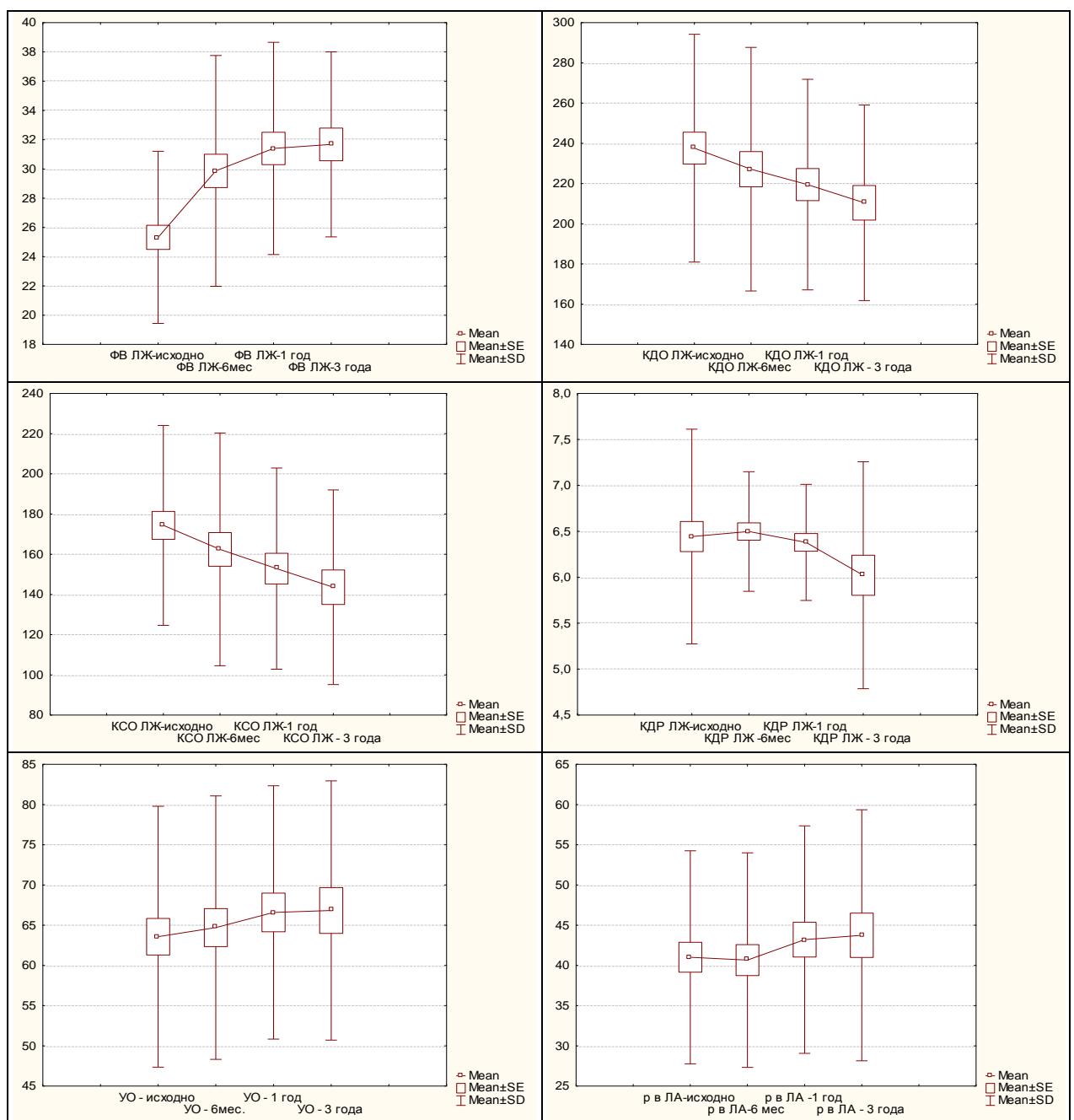
**Таблица 29****Клинико-функциональные показатели у обследованных больных ( $M \pm m$ ), в течение периода наблюдения**

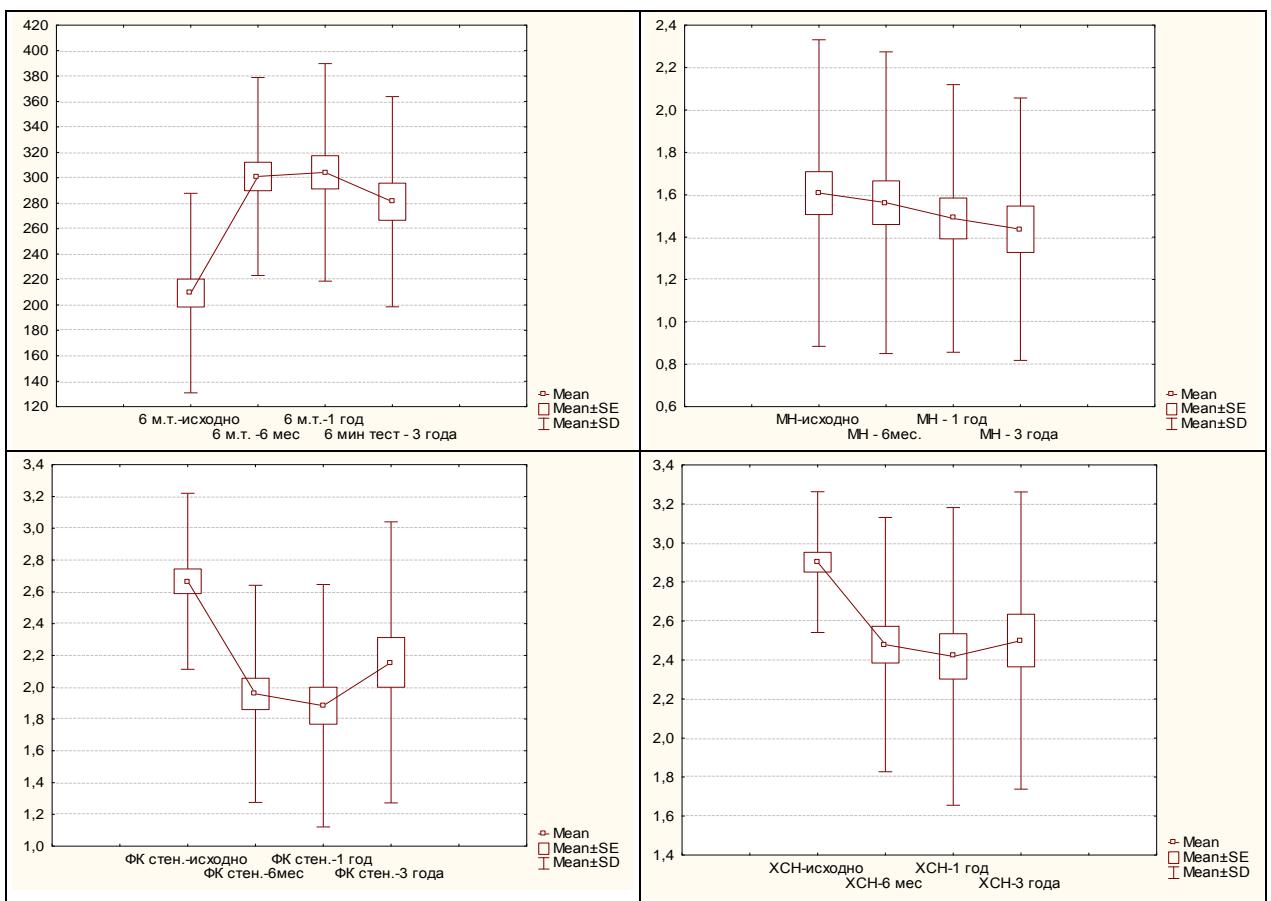
Показатель	ФВ ЛЖ <35 %				$P^*$
	исходно (n=55)	6 мес. (n=51)	12 мес. (n=43)	36 мес. (n=32)	
ФВ ЛЖ, %	$25,4 \pm 0,7$	$30,0 \pm 0,1$	$31,4 \pm 1,1$	$31,6 \pm 1,1$	0,01
КДО ЛЖ, мл	$242,7 \pm 9,0$	$227,5 \pm 8,2$	$215,9 \pm 9,4$	$210,5 \pm 10,8$	0,02
КСО ЛЖ, мл	$179,1 \pm 0,2$	$162,6 \pm 8,2$	$154,6 \pm 7,4$	$145,6 \pm 8,7$	0,002
КДР ЛЖ, см	$6,4 \pm 0,2$	$6,4 \pm 0,1$	$6,4 \pm 0,1$	$6,1 \pm 2,9$	0,009
УО, мл	$64,9 \pm 2,3$	$64,6 \pm 2,3$	$58,1 \pm 3,8$	$65,7 \pm 3,5$	0,03
МР	$1,6 \pm 0,1$	$1,5 \pm 0,1$	$1,6 \pm 0,1$	$1,5 \pm 0,1$	0,03
рЛА, мм рт. ст.	$40,7 \pm 1,8$	$40,3 \pm 1,8$	$40,5 \pm 5,0$	$38,9 \pm 2,4$	0,03

*Примечание:* \* достоверность относительно исходных данных через 36 месяцев

Показатели конечно-диастолического и конечно-систолического объемов также статистически значимо снижались от исходных  $242,7 \pm 9,0$  мл и  $179,1 \pm 7,7$  мл до  $210,5 \pm 10,8$  мл и  $145,6 \pm 8,7$  мл через 36 месяцев соответственно ( $p=0,02$  и  $p=0,002$ ).

На рис. 10 графически, представлены основные клинико-функциональные показатели: ФВ ЛЖ, КДО и КСО ЛЖ, УО ЛЖ, КДР ЛЖ, МН, 6-минутный тест, ФК СН и ХСН.





*Рисунок 10. Изменения клинико-функциональных показателей у больных с ФВ ЛЖ ≤35%.*

Полученные данные за наблюдаемый период исследования демонстрируют значимые отличия и отражают положительную динамику, которая выражается в улучшении ФК СН и ФК ХСН, увеличение ФВ левого желудочка и уменьшение его объемных показателей: КДО и КСО, улучшение результата 6-ти минутного теста.

Для проверки гипотезы о статистической значимости отличий между значениями показателей, измеренными в разные моменты времени: исходно, 6 месяцев, 12 месяцев, 36 месяцев в группе с ФВ ЛЖ ниже 35% использовался критерий Фридмана. В табл. 30 приведены результаты расчетов по критерию и значения коэффициента конкордации (W).

**Таблица 30****Изменения основных клинико-функциональных показателей в динамике**

Показатель	M ± m				р – значение	W
	исходно	6 месяцев	12 месяцев	36 месяцев		
ФК СН	2,65±0,07	1,94±0,09	1,88±0,12	2,16±0,16	0,000001	0,38
ФК ХСН	2,89±0,05	2,49±0,09	2,42±0,12	2,50±0,13	0,000052	0,23
6 мин. тест	215,76±11,04	302,06±10,62	304,30±13,04	281,19±14,61	0,0000012	0,39
ФВ ЛЖ	25,49±0,81	30,01±1,11	31,40±1,11	31,68±1,12	0,0000023	0,37
КДО ЛЖ	243,74±8,98	227,55±8,47	219,48±7,99	210,45±8,60	0,038	0,09
КСО ЛЖ	179,12±7,70	162,61±8,17	152,87±7,63	143,61±8,56	0,0021	0,15
КДР ЛЖ	6,46±0,16	6,46±0,09	6,38±0,10	6,02±0,22	0,77	0,011
УО	64,94±2,38	64,95±2,32	66,59±2,40	66,83±2,85	0,38	0,03
МР	1,60±0,10	1,53±0,10	1,49±0,10	1,44±0,11	0,72	0,01
р в ЛА	41,22±1,83	40,35±1,83	43,21±2,16	43,75±2,76	0,092	0,06

Статистически значимо изменяются показатели ФК СН, ФК ХСН, 6-минутный тест, ФВ ЛЖ, КДО ЛЖ, КСО ЛЖ в сторону их улучшения.

Для проверки гипотезы о статистической значимости отличий между значениями показателей в разные моменты парных измерений: исходно и через 6 месяцев, исходно и через 12 месяцев, исходно и через 36 месяцев в группе с ФВ ЛЖ ниже 35% использовался критерий Вилкоксона. В табл. 31 приведены результаты расчетов по критерию.

**Таблица 31****Динамика изменений основных клинико-функциональных данных за весь период наблюдения в сравнении с исходными данными**

Показатель	р – значение		
	исходно и 6 месяцев	исходно и 12 месяцев	исходно и 36 месяцев
ФК СН	0,000004	0,000033	0,0035
ФК ХСН	0,00033	0,0011	0,005
6 мин. Тест	0,00000012	0,000014	0,0065
ФВ ЛЖ	0,000027	0,0000021	0,00096
КДО ЛЖ	0,063	0,0029	0,13
КСО ЛЖ	0,0082	0,00036	0,037
КДР ЛЖ	0,88	0,27	0,52
УО	0,65	0,31	0,56
МР	0,73	0,84	0,66
р в ЛА	0,81	0,09	0,052

При анализе динамики изменений основных клинико-функциональных показателей за весь период наблюдения в сравнении с исходными данными между значениями показателей в разные моменты парных измерений: исходно и через 6 месяцев, исходно и через 12 месяцев, исходно и через 36 месяцев в группе с ФВ ЛЖ ниже 35% получены также статистически значимые изменения, которые отражают положительную динамику улучшения клинико-функциональных показателей таких, как ФК СН, ФК ХСН, 6-минутный тест, ФВ ЛЖ, КДО ЛЖ, КСО ЛЖ.

#### *Показатели перфузия миокарда по данным сцинтиграфии с Tc99-MIBI*

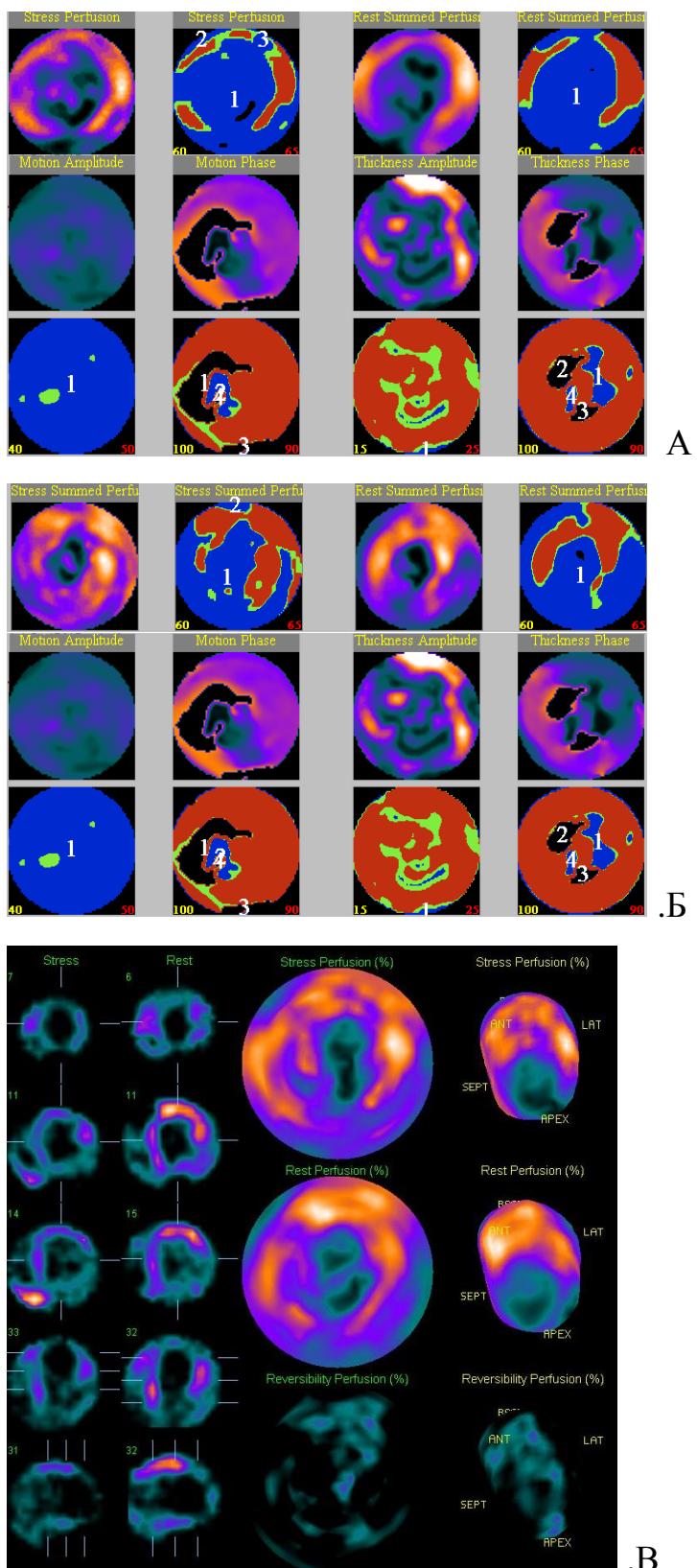
Суммарный индекс перфузии в покое улучшился в течение 6 месяцев (с  $28,6 \pm 1,5$  до  $25,4 \pm 1,3$ ) и оставался практически неизменным через 36 месяцев -  $26,2 \pm 2,5$ . В ходе нагрузки также отмечалась практически одинаковая с результатами в покое тенденция (исходно  $31,3 \pm 1,6$ , через 6 месяцев  $27,1 \pm 1,4$ , ( $p=0,01$ ) и  $29,1 \pm 2,1$  через 12 месяцев) с ее сохранением в течение 36 месяцев; (табл. 32) рисунок 11.

**Таблица 32**

**Данные сцинтиграфии миокарда у обследованных больных, в баллах  
( $M \pm m$ )**

Этап исследования	Показатель		
	В покое	В ходе нагрузки	Разница показателей
Исходно	$28,6 \pm 1,5$	$31,3 \pm 1,6$	$-3,3 \pm 0,6$
6 месяцев	$25,4 \pm 1,3$	$27,1 \pm 1,4$	$-1,8 \pm 0,5$
12 месяцев	$26,8 \pm 2,7$	$29,4 \pm 2,2$	$-2,4 \pm 1,2$
36 месяцев	$26,2 \pm 2,5$	$29,1 \pm 2,1$	$-2,3 \pm 1,1$
P*	0,04	0,05	0,05

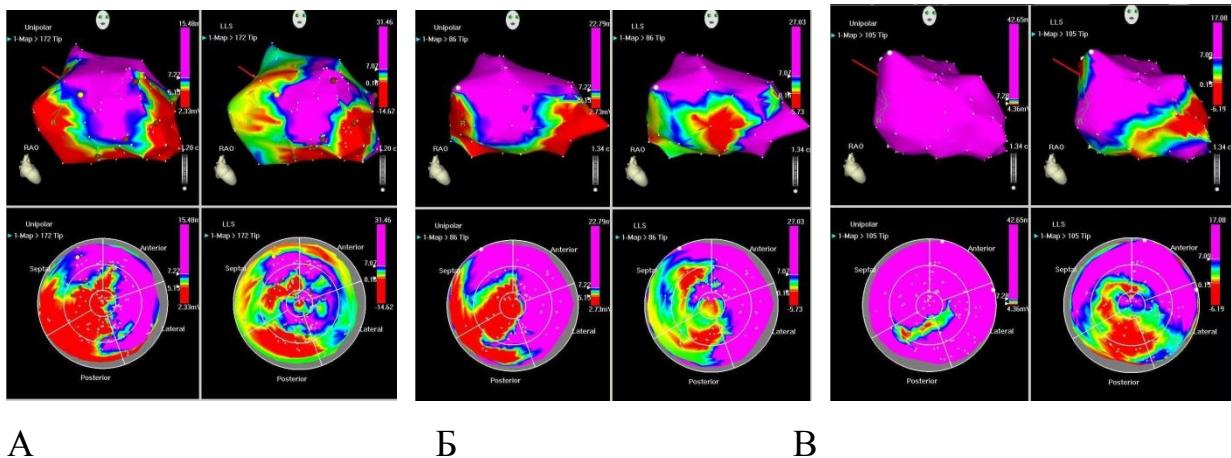
*Примечание: \*достоверность исходно и 36 месяцев после лечения*



*Рисунок 11. Данные двухэтапной перфузионной сцинтиграфии миокарда больного А., 58 лет. А – до начала лечения, Б – через 12 месяцев, В – через 36 месяцев после лечения, улучшение перфузии миокарда в ранее нарушенных участках (увеличение и сохранение зоны красного цвета)*

*Данные электроанатомического картирование левого желудочка*

Электроанатомическое картирование ЛЖ проводилось больным через 6, 12 и 36 месяцев. На всех контрольных этапах его проведения общее число точек и их распределение (число точек в сегменте) незначительно отличалось от первоначального картирования. Общий униполярный вольтаж (UV) увеличился с исходных  $9,1 \pm 2,4$  мВ до  $14,2 \pm 3,2$  через 12 месяцев ( $p=0,03$ ), в основном, за счет увеличенного вольтажа в тех сегментах, в которые были имплантирована МФККМ ( $5,6 \pm 1,2$  мВ изначально и  $11,2 \pm 2,1$  мВ через 12 месяцев;  $p=0,006$ ) и в дальнейшем наблюдался незначительный рост данных показателей в течении 36 месяцев. В тех сегментах, в которые МФККМ не вводилась, униполярный вольтаж оставался практически неизменным на протяжении 36 месяцев ( $14,3 \pm 3,2$  мВ и  $15,6 \pm 2,8$  мВ;  $p=0,2$ ). Как видно ниже из рис. 12: А – до начала лечения, отмечается зона нарушения перфузии (красный цвет) на фоне миокарда с нормальной перфузией (сиреневый цвет), Б – через 12 месяцев, В – через 36 месяцев после лечения, улучшение перфузии миокарда в ранее нарушенных участках (уменьшение зоны красного цвета).



*Рисунок 12. Данные электрофизиологического исследования миокарда, больной И., 58 лет, А – до начала лечения; Б – через 12 месяцев после имплантации МФККМ, В – через 36 месяцев после имплантации МФККМ.*

### *Качество жизни*

Ниже представлены статистические результаты расчетов по критериям Фридмана (табл. 33) изменения показателей качества жизни. Как видно, со временем все изучаемые показатели имели статистически значимое улучшение по отношению к исходным показателям.

**Таблица 33**

**Результаты расчетов основных показателей качества жизни по критерию Фридмана (ФВ ЛЖ ≤35% группа МФКМ)**

Показатель	M±m				р – значение	W
	исходно	6 мес.	12 мес.	36 мес.		
PF	23,18±2,15	39,41±2,47	43,84±2,91	41,09±3,46	0,0000011	0,4
RP	5,0±2,28	31,86±4,60	31,98±5,66	17,19±5,77	0,0000021	0,29
BP	42,31±2,21	63,88±2,45	69,23±3,43	57,63±3,88	0,0000034	0,34
GH	32,98±1,58	40,22±2,16	40,74±2,63	41,31±2,75	0,0058	0,13
VT	45,18±1,99	56,86±2,65	57,33±2,62	57,97±2,66	0,0000014	0,32
SF	54,56±2,82	76,80±2,90	76,16±3,40	71,81±3,36	0,0000026	0,47
RE	36,00±1,29	61,53±2,29	63,02±2,68	48,53±3,65	0,0000076	0,65
MH	64,15±1,55	71,29±1,55	70,23±1,73	71,00±1,99	0,0000039	0,37

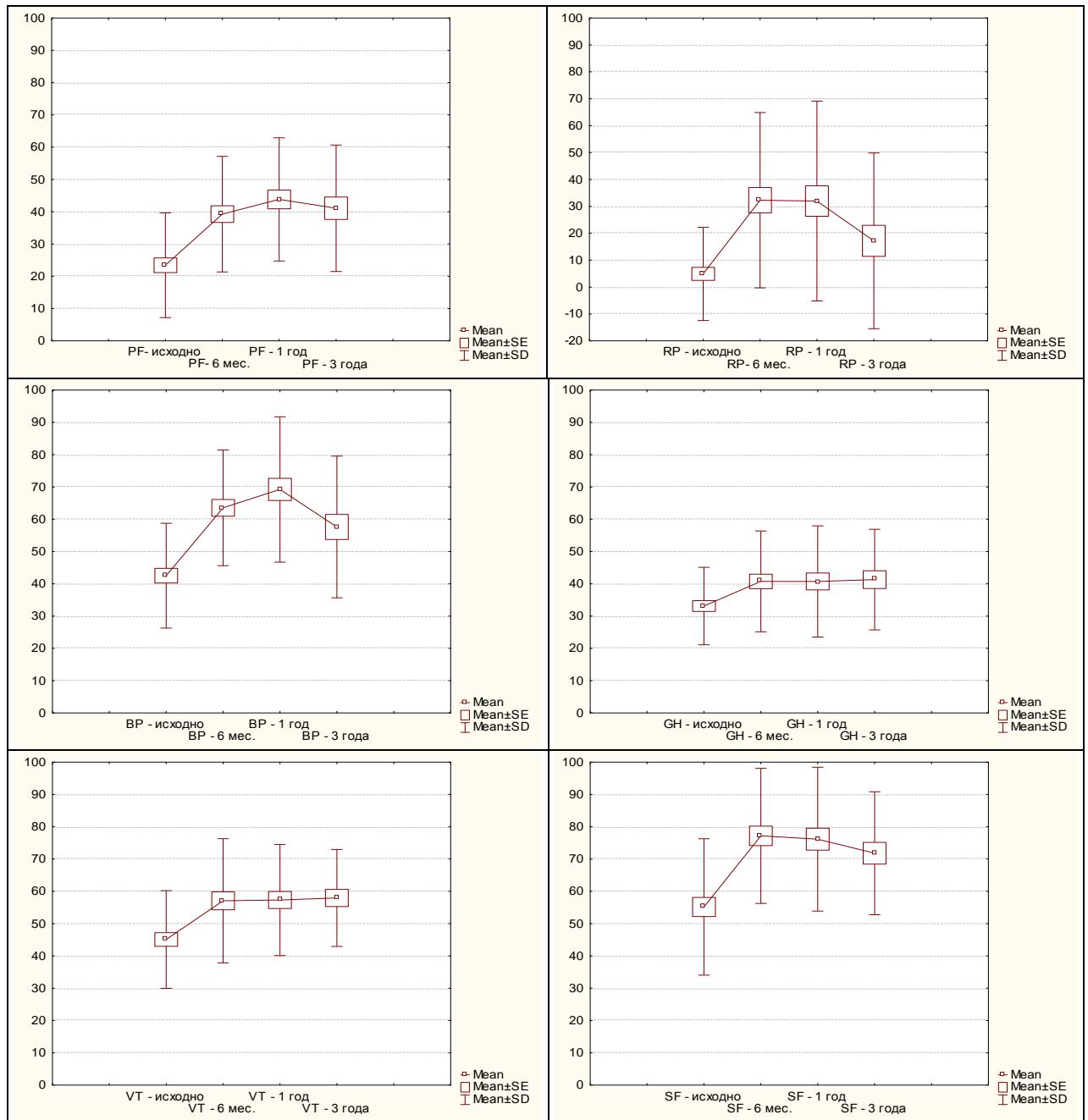
Из табл. 34 представленной ниже видно, что со временем все изучаемые показатели в имели в динамике статистически значимое их улучшение по отношению к исходным показателям.

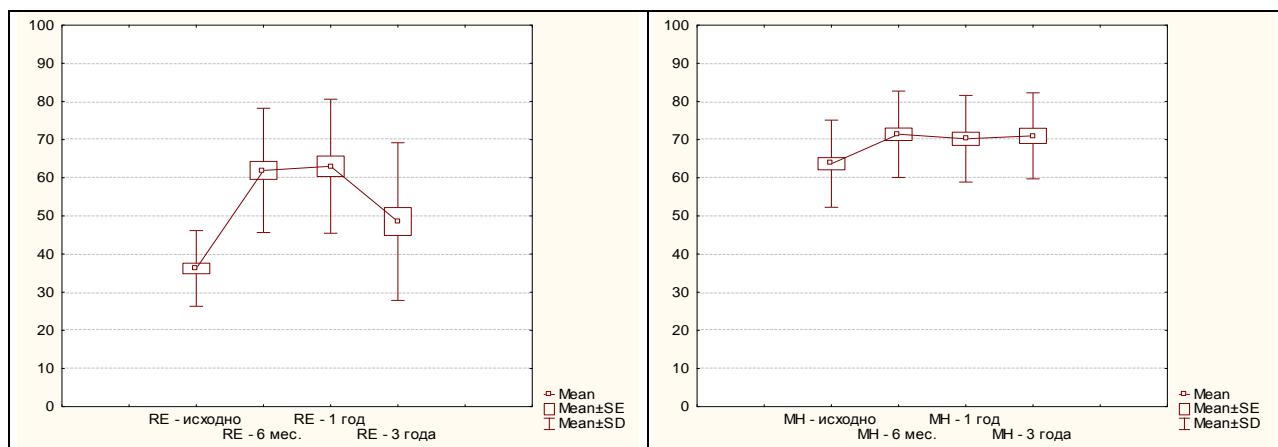
**Таблица 34**

**Результаты расчетов по критерию Вилкоксона (ФВ ЛЖ ≤35% группа МФКМ)**

Показатель	р – значение		
	исходно и 6 месяцев	исходно и 1 год	исходно и 3 года
PF	0,00000012	0,00000022	0,00061
RP	0,0000088	0,00014	0,097
BP	0,00000006	0,0000011	0,0051
GH	0,005	0,0038	0,066
VT	0,0000062	0,000034	0,0021
SF	0,00000017	0,00000042	0,00024
RE	0,00000005	0,00000037	0,0057
MH	0,00000098	0,0004	0,0018

На рис.13 представлены графики Бокса-Вискера изменения статистических характеристик показателей качества жизни. Как видно, со временем все изучаемые показатели имели улучшение по отношению к исходным показателям, измеренные в контрольные моменты времени (6 месяцев, 12 месяцев, 36 месяцев).





*Рисунок 13. Графики Бокса-Вискера изменения показателей качества жизни (группа МФККМ ФВ ЛЖ ≤35%)*

#### *Неблагоприятные события раннего и отдаленного послеоперационного периода*

Общая летальность за 36 месяцев наблюдения составила 23 больных (41,8%). За время 6-ти месячного наблюдения смертность от СН составила 5,4% (3 больных), еще 1 (1,8%) больной умер от вненердечных причин. После 12-ти месяцев летальность от вышеуказанных причин составила соответственно 14,5% (8 больных) и 3(5,4%), еще одному больному выполнена операция ортопотической трансплантации сердца (1,8%) и, наконец, через 36 месяцев от СН умерло 32,7% (19) и 4 (7,2%) больных погибло от вненердечных причин (2 несчастных случая, 1 случай онкопатологии и ОНМК).

#### *Клинический пример применения мононуклеарной фракции аутологичных клеток костного мозга при эндомиокардиальной имплантации у больного с выраженной ишемической дисфункцией миокарда левого желудочка.*

Больной Ш., 56 лет поступил в ФГБУ ННИИПК имени академика Мешалкина в феврале 2007 года с жалобами на одышку при незначительной физической нагрузке: ходьбе 150 метров, подъеме на 1-2 лестничного пролета. На момент госпитализации на фоне комплексной медикаментозной

терапии, проведенной в стационаре,очных приступов удушья не отмечает. В 1998 году перенес Q-позитивный циркулярный верхушечный инфаркт миокарда.

Больному проведено полное клинико-инструментальное обследование, по результатам которого, учитывая мультифокальное и дистальное поражение коронарных артерий, невозможность выполнения их стентирования, а также высокий риск открытого хирургического вмешательства, с использованием системы NOGA была выполнена эндомиокардиальная имплантация МФКМ в заднюю, переднюю, боковую стенки, а также участок межжелудочковой перегородки левого желудочка. Послеоперационный период протекал без особенностей. При выписке больной включен в лист ожидания трансплантации сердца.

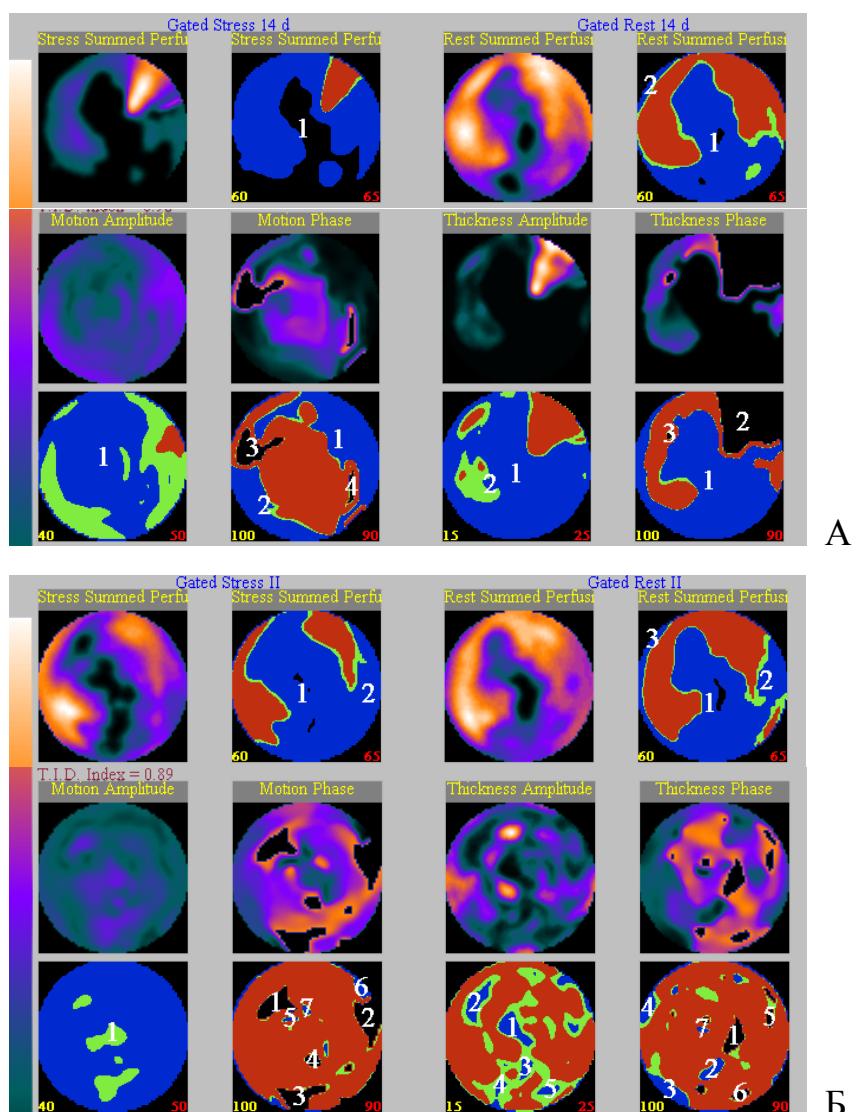
В течение последующих 24 месяцев больной проходил плановые обследования в клинике. За этот период отмечается стабилизация состояния: явлений ХСН без прогрессирования, состояние больного не требовало повторных госпитализаций по месту жительства, при контрольном обследовании отмечено повышение следующих показателей: фракции выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) с 20 до 27%, шестиминутного теста с 155 до 315 метров (табл. 35).

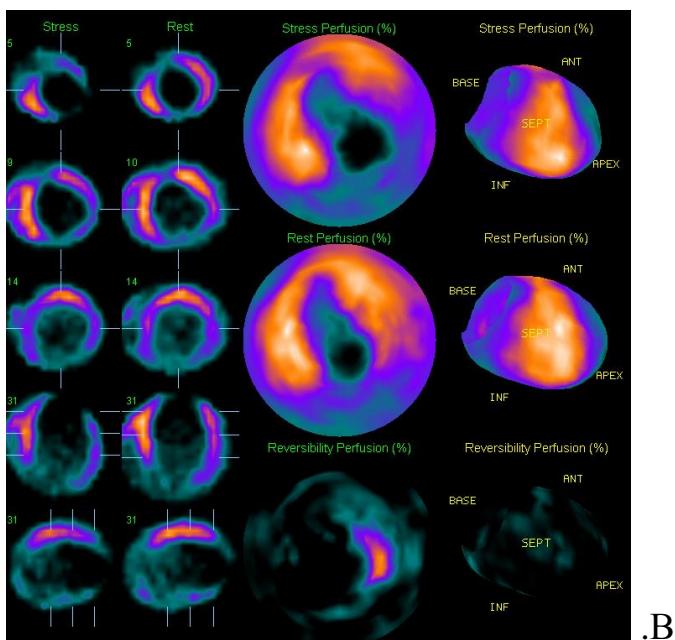
**Таблица 35**

**Динамика клинико-функциональных показателей**

Показатель	период наблюдения		
	Исходно	12 месяцев	24 месяца
ФК СН	2	2	3
ФК ХСН (NYHA)	3	3	3
ФВ ЛЖ, %	20	22	27
КДО ЛЖ, мл	356	316	315
КСО ЛЖ, мл	265	250	250
КДР ЛЖ, см	8,3	7,6	7,6
УО, мл	90	66	65
рЛА, мм.рт.ст	45	47	50
шестиминутный тест, метры	155	345	315

По данным 2-х этапной (покой-аденозин) ЭКГ-синхронизированной томосцинтиграфии в 2009 году имелось снижение перфузии миокарда верхушки, передней и нижней стенок в сегментах: 4,7,10,13,14,16,17,19,20. В ответ на инфузию аденоцина небольшое ухудшение перфузии миокарда сегментах 4, 5, 8, 12, 17 и более выраженное ухудшение перфузии миокарда в сегментах 10, 11, 18. ФВ ЛЖ (по Gated SPECT) составила 14%. В сравнении с исследованием от октября 2007 года отмечалось улучшение перфузии нижней стенки в покое и увеличение коронарного резерва в области передней и нижней стенок. Суммарная оценка участка гипоперфузии на этапе покоя составила 16 баллов и на нагрузочном этапе 29 баллов. (рис. 14 А,Б,В).

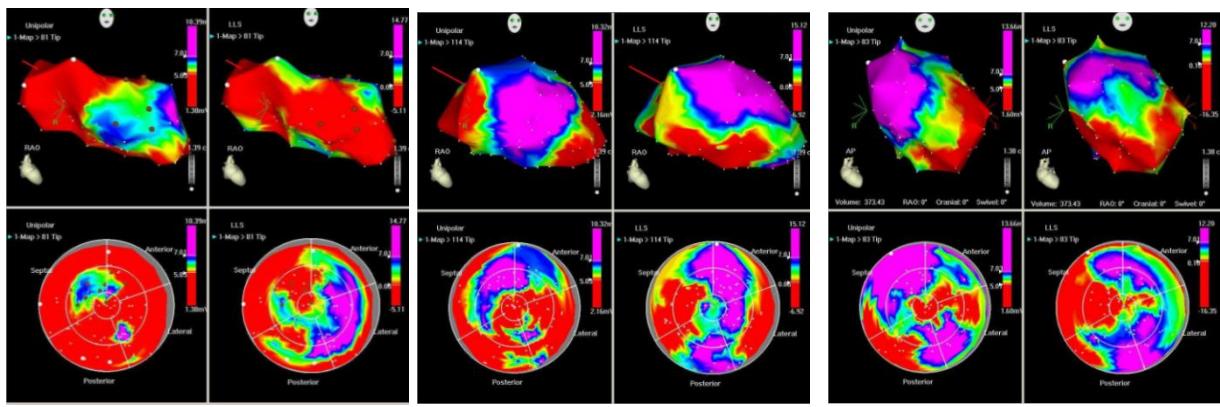




.В

*Рисунок 14. Данные перфузионной сцинтиграфии миокарда (покой-нагрузка) больного Ш., 59 лет. А- до лечения, Б – 12 месяцев, В – 36 месяцев.*

Результаты электроанатомического картирования левого желудочка представлены ниже. Общее число точек и их распределение (число точек в сегменте) незначительно отличалось от первоначального картирования (рис. 15 А,Б,В) и при 12 и 24 месячном контроле. Общий униполярный вольтаж (UV) увеличился с  $8,1 \pm 2,1$  до  $13,2 \pm 3,1$  через 24 месяца, в основном, за счет увеличенного вольтажа в тех сегментах, в которые были имплантирована МФКМ ( $5,2 \pm 1,2$  mV изначально и  $11,1 \pm 2,1$  mV через 24 месяца). В тех сегментах, в которые МФКМ не вводилась, униполярный вольтаж оставался практически неизменным. По данные электрофизиологического исследования миокарда (рис.12) до начала лечения, отмечается зона нарушения перфузии (красный цвет) на фоне миокарда с нормальной перфузией (сиреневый цвет); б – через 12 мес., в – через 24 мес. после лечения, улучшение перфузии миокарда в ранее нарушенных участках (уменьшение зоны красного цвета).



А

Б

В

*Рисунок 15. Данные электрофизиологического исследования миокарда пациента Ш., 59 лет. а – до начала лечения, б – через 12 мес., в – через 24 мес. после лечения.*

В декабре 2009 года пациенту в ФГБУ «ННИИПК им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России была выполнена операция ортотопической трансплантации сердца.

Патологоанатомическое исследование эксплантированного сердца было выполнено в патологоанатомическом отделении ФГБУ «ННИИПК им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России.

Макроскопические данные препарата сердца реципиента: вес 470 г, размеры 13,0\*11,0\*9,5 см. Правое предсердие эндокард, чистый гладкий. Толщина стенки правого желудочка 0,5\*0,4\*0,4\*0,5 см, приток 7,0 см, отток 8,5 см., эндокард гладкий. Периметр отверстия, правильно сформированного трикуспидального клапана 12,5 см., створки склерозированы, уплотнены, клапана легочной артерии 8,0 см. Левое предсердие эндокард гладкий. Толщина стенки левого желудочка 1,7\*1,2\*0,8\*1,7 см, приток 8,0 см, отток 10,5 см. Полость дилатирована. Периметр отверстия правильно сформированного аортального клапана 7,5 см., митрального 11,0 см, створки склерозированы, уплотнены. Миокард бардового цвета, плотный, на разрезе с обширными участками белесоватого цвета в передне-верхушечно-боковой области (рис. 16,17).

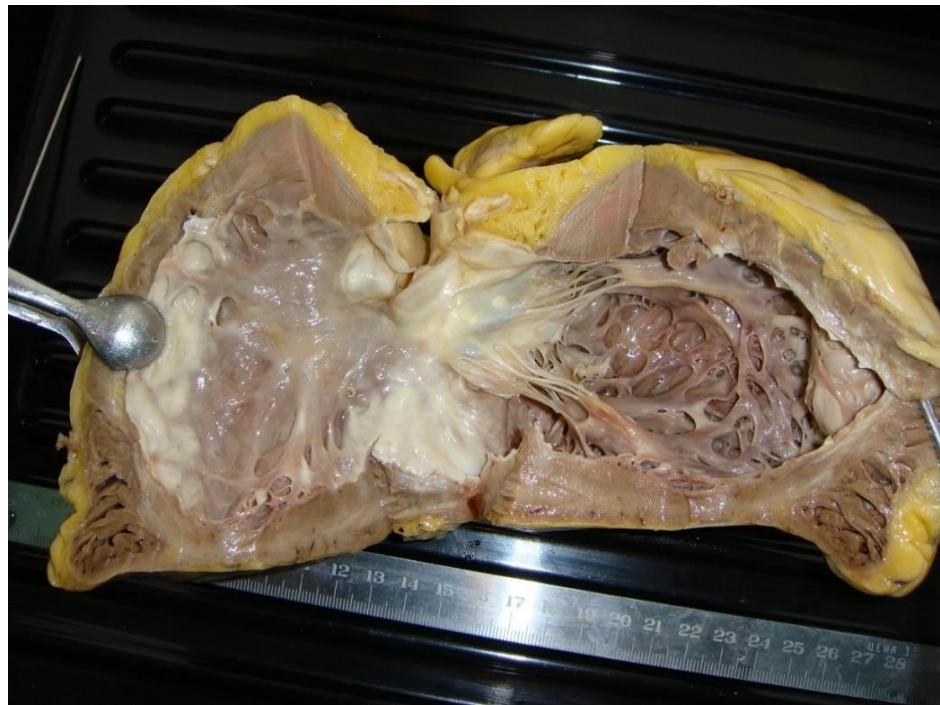


Рисунок 16. Макропрепарат сердца. Левый желудочек с обширным кардиосклерозом. Фиксация 10% формалином.

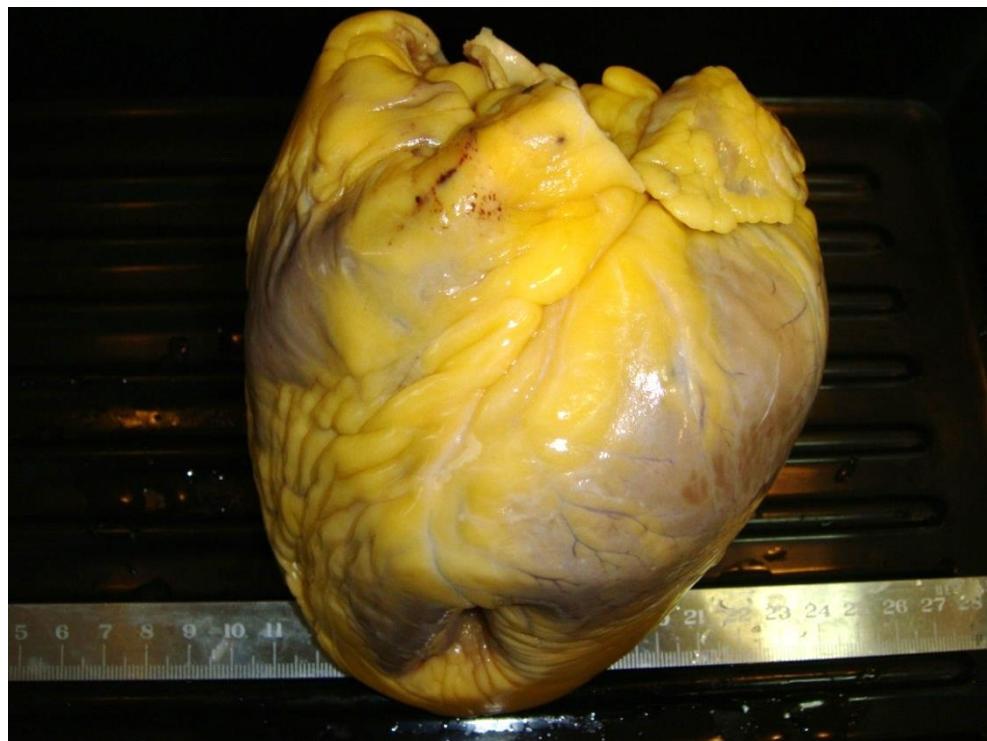
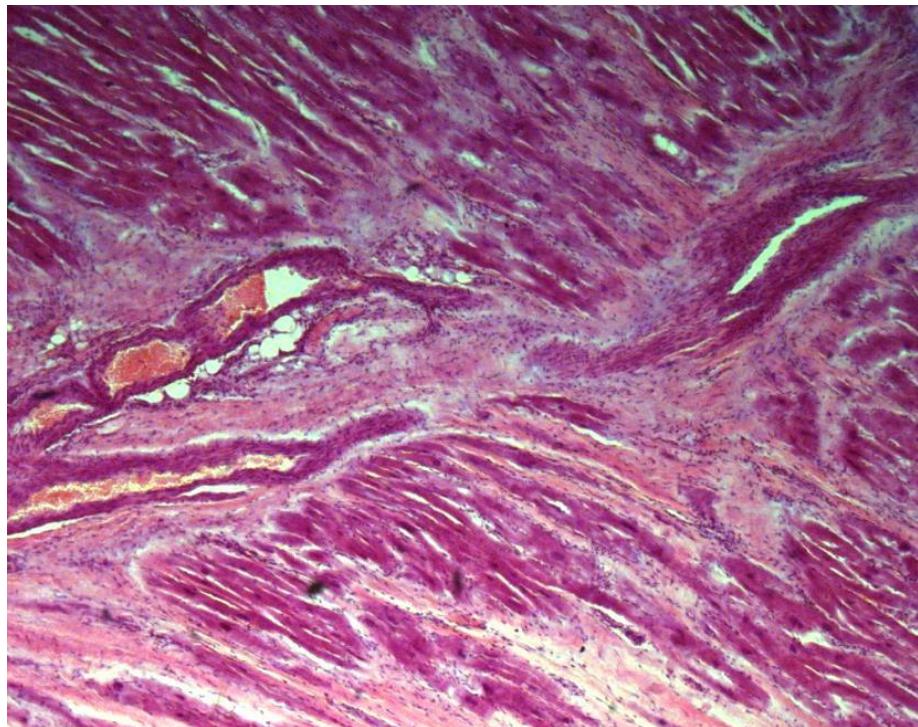


Рисунок 17. Макропрепарат сердца. Общий вид передне-боковой проекции левого желудочка с участком формирующейся верхушечной аневризмы. Фиксация 10% формалином.

Кусочки миокарда для гистологического исследования иссекались из передней, задней и верхушечной части левого желудочка и межжелудочковой перегородки сердца, фиксировали в 10% растворе формалина на фосфатном буфере и заливали в парафин. Срезы толщиной 5 мкм готовились на микротоме фирмы Microm HM 550 и окрашивались гематоксилином - эозином, по методу ван - Гизон с комбинированной докраской эластики орсеином, так же проводилась постановка PAS- реакции, метода импрегнации срезов серебром (по Гомори) и окраска трихромомом Массона с добавлением голубого анилина. Обзорную гистологию проводили с помощью программно- микроскопного комплекса, который включал в себя световой микроскоп «Imadger M2» немецкой фирмы ZEISS, цифровую видеокамеру AxioCam HRc и компьютер Pentium 4. Иммуногистохимическое окрашивание гистологических препаратов выполнено на автоматическом иммуногистостейнере Benchmark XT Ventana с использованием мышиных моноклональных антител к CD31(1A10) Roche и к CD34(QBEnd/10) Roche и системы визуализации ultraView Universal DAB Detection Kit (Roche).

По данным гистологического исследования в левом желудочке на фоне диффузного и очагового кардиосклероза (рис.18) отмечаются явления интерстициального отека, в кардиомиоцитах местами гомогенизация цитоплазмы, мелкокапельная дистрофия. В субэпикардиальных слоях фрагментация мышечных волокон. В миокарде очаги миоцитолизиса. Интима артерий утолщена, в части из них, участки кальциноза, в просвете сосудов эритроцитарные стазы.



*Рисунок 18. Миокард левого желудочка с зонами диффузного и очагового кардиосклероза. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение x 350.*

При проведении иммуногистохимического исследования отмечено, что на фоне участков кардиосклероза в миокарде левого желудочка выделяются очаги скопления кровеносных сосудов малого диаметра. Это подтверждается позитивным окрашиванием их эндотелиальной выстилки на CD31 (рис. 19). При этом полученное негативное окрашивание на CD34 (рис. 20) указывает на отсутствие какого-либо активного процесса деления эндотелиоцитов и соответственно активной реваскуляризации данного региона.

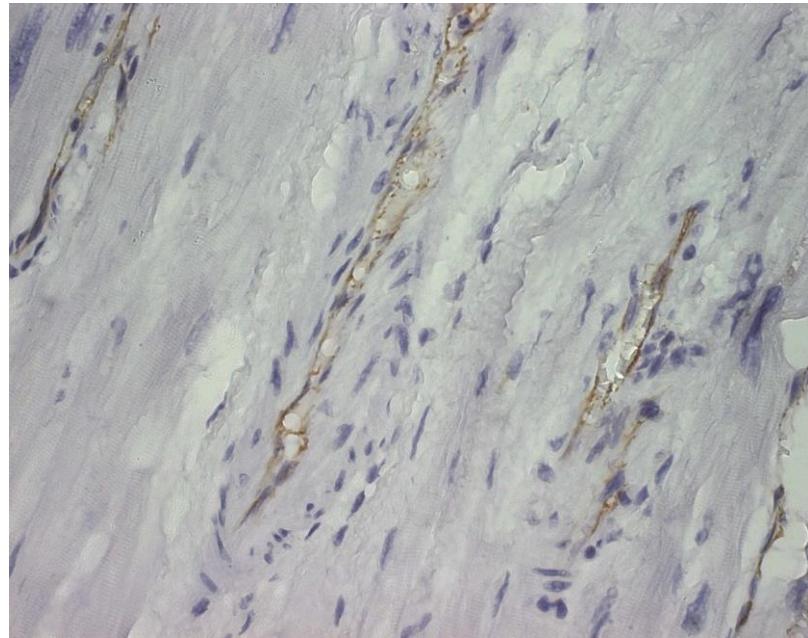


Рисунок 19. Миокард левого желудочка. Очаги скопления кровеносных сосудов малого диаметра с позитивным окрашиванием эндотелиальной выстилки на CD31. Увеличение  $\times 400$ .

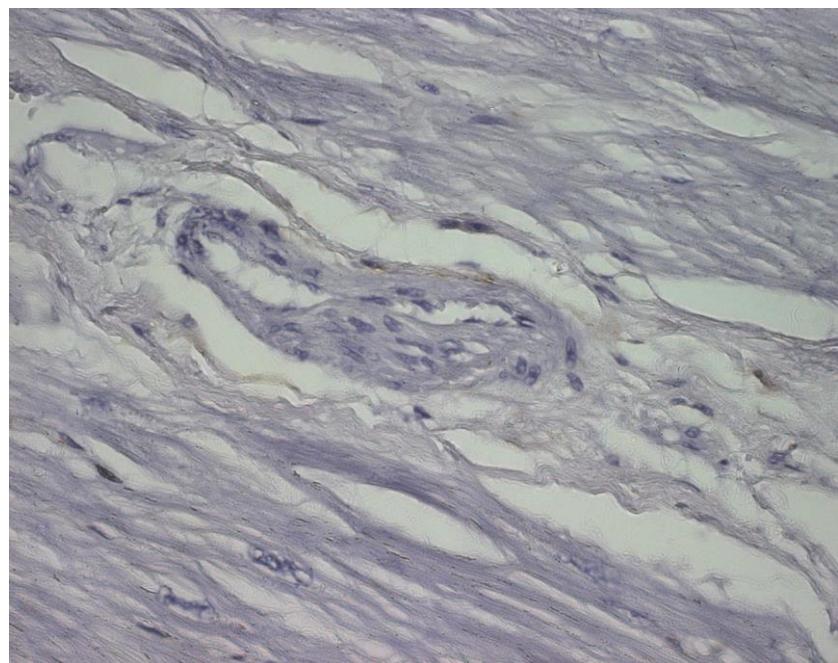


Рисунок 20. Миокард левого желудочка. Кровеносные сосуды малого диаметра с негативным окрашиванием эндотелиальной выстилки на CD34. Увеличение  $\times 400$ .

Таким образом, результаты проведенного клинико-морфологического исследования показали, что после эндоамиокардиальной имплантации

костномозговых клеток в перирубцовую зону, по истечении двух лет после имплантации клеток отмечается снижение активности неоваскулогенеза. На это же указывает позитивное окрашивание эндотелиальной выстилки на CD31, а также полученное нами негативное окрашивание на CD34, который является клеточным поверхностным антигеном, экспрессирующимся как на гематопоэтических прогениторных клетках, включая миелоидную и лимфоидную линии клеток-предшественников так и на сосудистом эндотелии, при чем пролиферирующие эндотелиальные клетки экспрессируют эти молекулы в большем количестве, чем непролиферирующие. Данный результат указывает на отсутствие какого-либо активного процесса деления эндотелиоцитов и соответственно активной реваскуляризации по истечении двух лет после эндокардиального введения МФКМ.

Клинический эффект клеточной терапии в проведенном исследовании проявился увеличением фракции выброса, снижением конечно-sistолического объема левого желудочка, а также улучшением самочувствия и практически двукратным увеличением результатов 6-минутного теста. Все это указывает на стабилизацию гемодинамических показателей и является положительным прогностическим признаком у данной категории больных, у которых сохраняется достаточно высокий риск фатального ремоделирования левого желудочка. Кроме этого у части пациентов, находящихся в «листе ожидания» для выполнения ортотопической пересадки сердца появляется реальный временной промежуток, чтобы дождаться единственного возможного для них хирургического лечения.

#### **4.2 Клинико-функциональная характеристика больных с изолированной медикаментозной терапией**

В данный фрагмент исследования методом рандомизации вошли 52 больных. Все больные получали стандартную антиангинальную терапию и

терапию, направленную на уменьшение проявлений сердечной недостаточности и стенокардии (антиагреганты, бета/блокаторы, и-АПФ, АРА, антагонисты кальция, нитраты, диуретики, статины).

**Первичная конечная точка:** оценка эффективности, изолированной современной медикаментозной терапии на 6, 12 и 36 месячных этапах исследования. Клиническим параметром, определяющим первичную конечную точку, явилась дистанция, проходимая во время теста 6-минутной ходьбы.

**Вторичные конечные точки:** функциональный класс стенокардии, функциональный класс сердечной недостаточности по NYHA, функция левого желудочка (по результатам ЭХОКГ), качество жизни.

Соотношение принявших участие в исследовании мужчин/женщин составило соответственно 45/7 (86,5/13,5%), а средний возраст больных  $58,0 \pm 1,4$  лет. Количество ИМ (ПИКС) составило  $1,8 \pm 0,2$ . Из сопутствующей патологии доминировали ГБ и ожирение соответственно 25 (48,5%) и 23 (45,7%) больных.

Ниже в табл.36. приведена динамическая характеристика жалоб пациентов.

**Таблица 36**

**Изменение жалоб больных в периоды лечения и наблюдения**

Показатель	Исходно (n=52)	12 месяцев (n=44)	36 месяцев (n= 33)
Боли за грудиной	50 (94,2%)	42 (93,3%)	31 (91,3%)
Одышка	48 (88,5%)	41 (90,0%)	30 (86,9%)
Периферические отеки	43 (74,2%)	38 (80,0%)	30 (86,9%)

Исходно 50 (94,2%) больных предъявили жалобы на боли за грудиной при физической нагрузке. При этом одышка и отеки на нижних конечностях присутствовали соответственно у 48 (88,5%) и 43 (74,2%) больных. К 12 и 36 месяцам наблюдения жалобы на одышку и боли за грудиной сохранились

практически на исходном уровне, а частота жалоб на периферические отеки увеличилась на 12,7%.

### **Первичная конечная точка**

Расстояние, пройденное вовремя 6-минутного теста ходьбы после эндокардиальной имплантации МФКМ, на этапе 12-ти и 36-ти месячного контроля возросло статистически незначимо с исходных  $219,5 \pm 13,7$  метров до процедуры до  $230,2 \pm 12,8$  ( $p=0,9$ ) и  $249,5 \pm 14,5$  ( $p=0,2$ ) метров соответственно (табл. 37).

**Таблица 37**

#### **Динамика показателя 6-ти минутного теста ходьбы**

Показатель	M±m			P*
	исходно (n=52)	12 мес. (n=44)	36 мес. (n=33)	
6-мин. тест	$219,5 \pm 13,7$	$230,2 \pm 12,8$	$249,5 \pm 14,5$	0,2

*Примечание: \* достоверность относительно исходных данных через 36 месяцев*

### **Вторичные конечные точки**

#### **Динамика клинических показателей**

Функциональный класс стенокардии несколько улучшился через 12 месяцев у 11 (13,9%) ( $p=0,06$ ), через 36 месяцев у такого же количества больных (27,2%) ( $p=0,03$ ) пациентов (табл. 38).

**Таблица 38**

#### **Динамика показателя функционального класса стенокардии**

ФК СН	Период		
	исходно (n=52)	12 мес. (n=44) ≠	36 мес. (n=33) #
0	-	8(18,8%)	5(15,7%)
1	14(26,9%)	3(6,9%)	6(18,7%)
2	6(11,6%)	11(25,6%)	10(31,3%)
3	29(55,7%)	18(41,8%)	12(34,3%)
4	3(5,8%)	4(6,9%)	-

*Примечание: достоверность относительно исходных данных: ≠p=0,06; #p=0,03*

Класс ХСН (NYHA) через 12 месяцев улучшился статистически незначимо у 10 (3,7%) больных ( $p=0,9$ ), а к 36 месяцам у 6,9% пациентов ( $p= 0,9$ ) (табл. 39).

**Таблица 39**

**Динамика показателя функционального класса стенокардии (NYHA)**

ФК ХСН	Период		
	исходно (n=52)	12 мес. (n=44) ≠	36 мес. (n=33) #
I	-	-	-
II	6(11,6%)	4(9,3%)	4(12,5%)
III	40(76,9%)	35(79,4%)	21(63,3%)
IV	6(11,5%)	5(11,3%)	8(24,2%)

*Примечание: достоверность относительно исходных данных: ≠ $p=0,9$ ; # $p=0,9$*

Прием сублингвальных нитратов увеличился к 12 месяцам в 65% ( $p=0,2$ ) случаев, а к исходу 36 месячного контроля уже в 71,8% ( $p=0,2$ ) (табл.40).

**Таблица 40**

**Динамика приема нитратов**

Показатель	M±m			P*
	исходно (n=52)	12 мес. (n=44)	36 мес. (n=33)	
нитраты	33(63,4%)	28(65,1%)	23(71,8%)	0,2

*Примечание: \* достоверность относительно исходных данных через 36 месяцев*

*Динамика функциональных показателей*

Функция левого желудочка в целом статистически незначимо улучшилась на всех этапах контроля: в среднем с исходных  $27,7\pm1,2\%$  до  $32,6\pm2,3\%$  через 36 месяцев ( $p =0,11$ ; табл.41).

**Таблица 41**

**Клинико-функциональные показатели у обследованных больных, ( $M \pm m$ ) за периоды наблюдения**

показатель	Период			P*
	исходно (n=52)	12 месяцев (n=44)	36 месяцев (n= 33)	
ФВ ЛЖ, %	27,7±1,2	28,6±1,5	32,6±2,3	0,11
КДО ЛЖ, мл	219,5±9,8	216,8±12,2	202,2±12,3	0,2
КСО ЛЖ, мл	155,3±10,4	148,5±11,4	137,4±11,2	0,3
КДР ЛЖ, см	6,3±0,1	6,2±0,1	6,2±0,1	0,6
УО, мл	61,3±3,0	60,2±4,0	64,4±4,3	0,5
р ЛА, мм рт. ст.	45,2±2,7	42,4±3,4	40,0±2,7	0,6

*Примечание: \* достоверность относительно исходных данных через 36 месяцев*

Конечный диастолический размер и ударный объем левого желудочка оставались практически неизменными ( $p=0,2$  и  $p=0,3$  соответственно). Показатели конечно-диастолического и конечно-sistолического объемов уменьшались от исходных  $219,5\pm9,8$  мл и  $155,3\pm10,4$  мл до  $202,2\pm12,3$  мл ( $p=0,3$ ) и  $137,4\pm11,2$  мл через 36 месяцев соответственно ( $p=0,3$ ).

Для проверки гипотезы о статистической значимости отличий между значениями показателей, измеренными в разные моменты времени: исходно, 12 месяцев, 36 месяцев в подгруппе с ФВ ЛЖ ниже 35% (медикаментозная) использовался критерий Фридмана. В табл. 42 приведены результаты расчетов по критерию и значения коэффициента конкордации W.

**Таблица 42**

**Изменение клинико-функциональных показателей за период наблюдения (мед. группа ФВ ЛЖ ≤35%)**

Показатель	M±m			р – значение	W
	Исходно	12 месяцев	36 месяцев		
ФК СН	2,49±0,16	2,00±0,20	1,96±0,22	0,0015	0,28
ФК ХСН	3,00±0,09	2,97±0,09	2,91±0,09	0,98	0,001
6-мин. тест	219,54±13,73	230,20±12,83	249,52±14,51	0,018	0,17
ФВ ЛЖ	27,71±1,29	28,62±1,50	32,62±2,30	0,027	0,16
КДО ЛЖ	219,57±9,86	216,89±12,27	202,26±12,30	0,53	0,028
КСО ЛЖ	155,31±10,44	148,53±11,41	137,44±11,29	0,17	0,078
КДР ЛЖ	6,36±0,13	6,20±0,12	6,26±0,13	0,24	0,07
УО	61,39±3,07	60,25±4,09	64,47±4,34	0,088	0,1
р в ЛА	45,23±2,79	42,48±3,43	40,04±2,77	0,89	0,005

Как видно из таблицы, статистически значимо изменяются показатели ФК СН, 6-минутный тест, ФВ ЛЖ. Отмечено уменьшение ФК стенокардии, улучшение результата 6-минутного теста и прирост ФВ ЛЖ.

Для проверки гипотезы о статистической значимости отличий между значениями показателей в разные моменты парных измерений: исходно и через 12 месяцев, исходно и через 36 месяцев в этой же группе использовался критерий Вилкоксона. В табл. 43 приведены результаты расчетов по критерию.

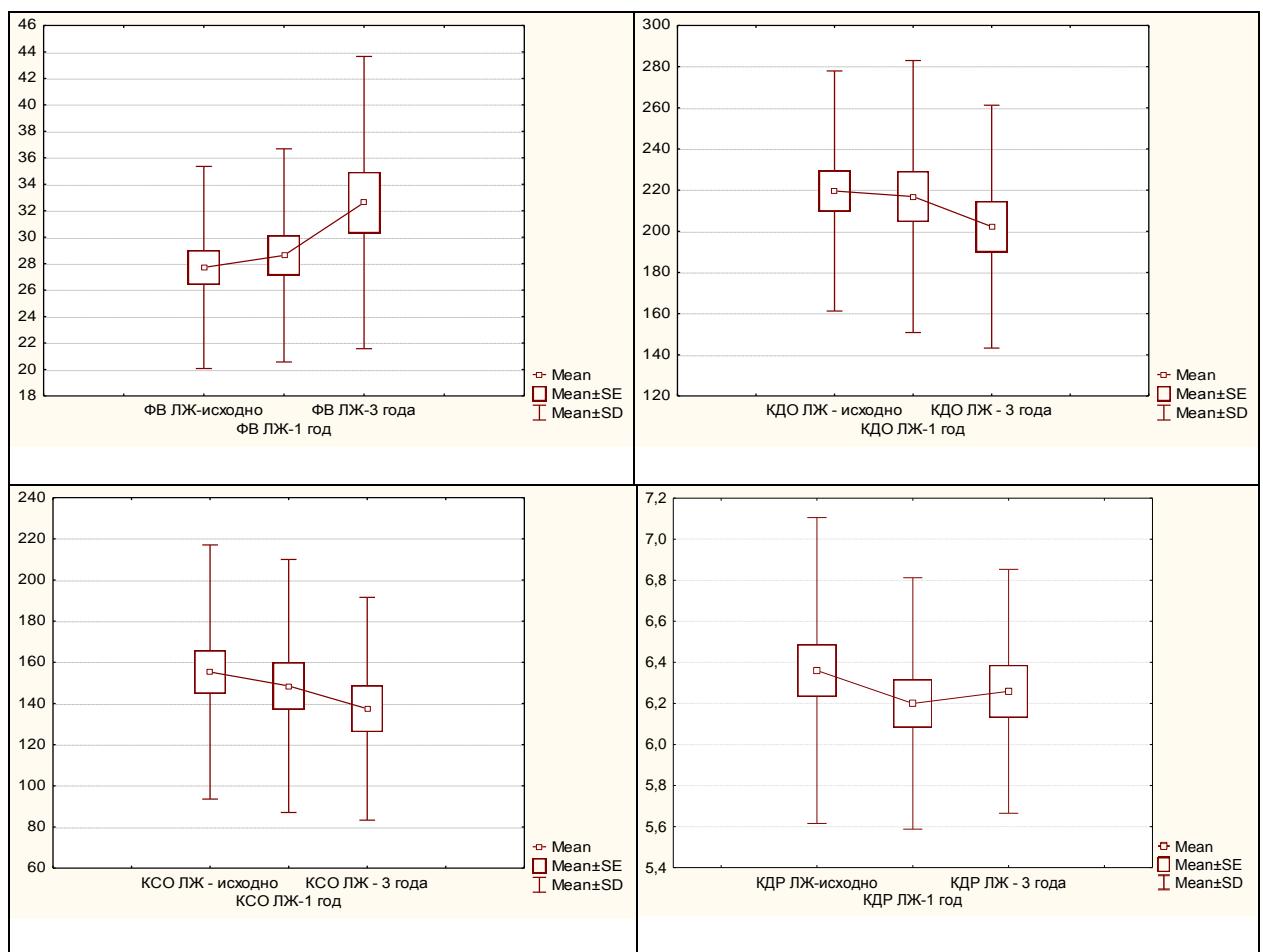
**Таблица 43**

**Изменения основных клинико-функциональных данных за весь период наблюдения в сравнении с исходными данными (мед. группа ФВ ЛЖ ≤35%)**

Показатель	р – значение	
	исходно и 12 месяцев	исходно и 36 месяцев
ФК СН	0,06	0,02
ФК ХСН	0,99	0,99
6 мин. тест	0,92	0,28
ФВ ЛЖ	0,79	0,11
КДО ЛЖ	0,25	0,29
КСО ЛЖ	0,21	0,31
КДР ЛЖ	0,21	0,61
УО	0,24	0,58
р в ЛА	0,94	0,6

При анализе полученных данных исходно и через 12 месяцев, исходно и через 36 месяцев, среди основных клинико-функциональных показателей значительно улучшается при уровне 0,05, согласно критерию Вилкоксона только показатель ФК СН.

Характеристика основных клинико-функциональных показателей, представленных ниже на рис. 21, отражают динамику уменьшения показателей ФК СН, улучшение результата 6-минутного теста и прирост ФВ ЛЖ. ФК ХСН и объемные показатели левого желудочка остались практически неизменными.



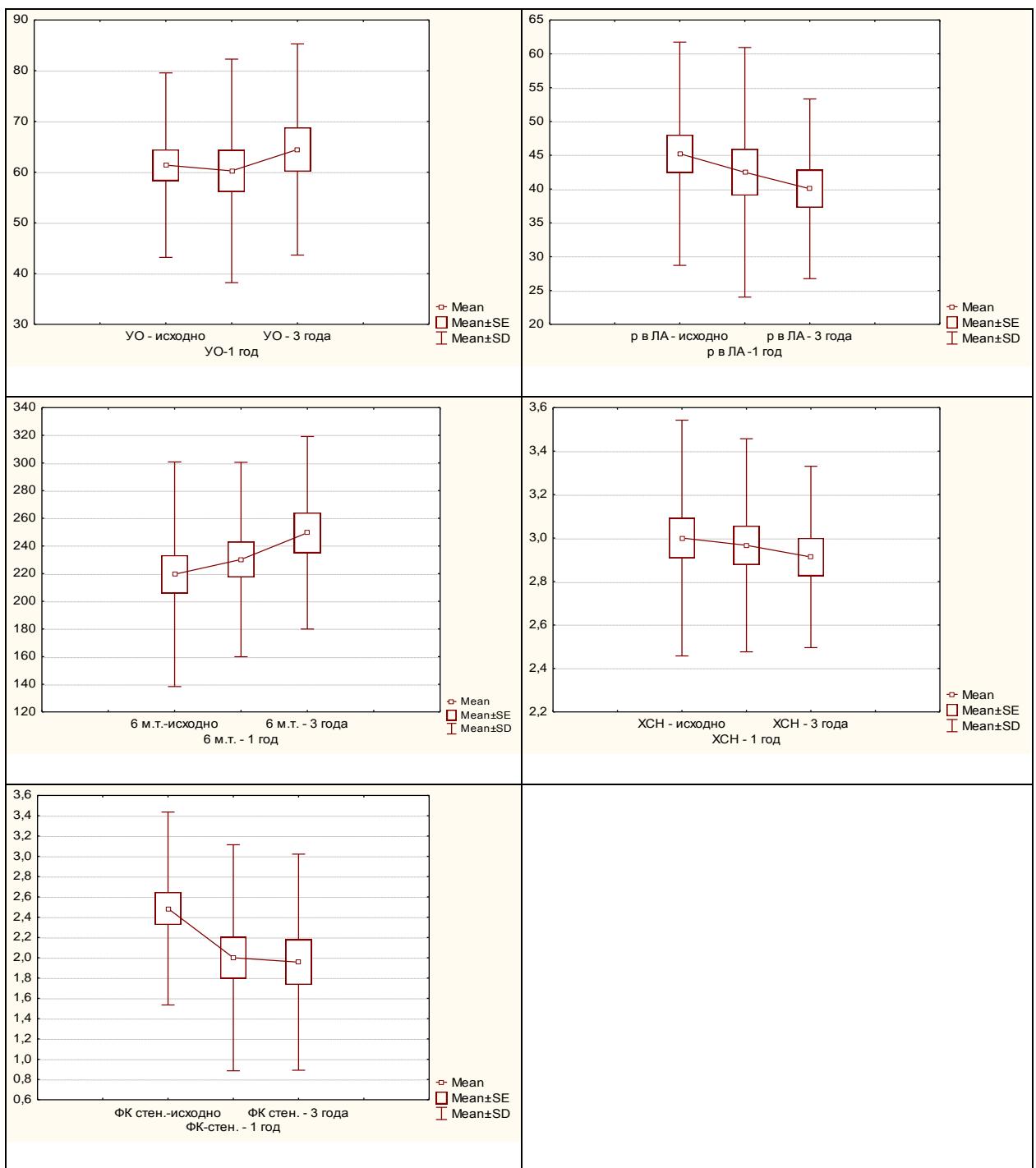


Рисунок 21. Характеристика клинико-функциональных показателей пациентов медикаментозной группы с  $\Phi B \leq 35\%$

### Качество жизни

Ниже представлены статистические результаты расчетов по критериям Фридмана (табл. 44). Как видно, за весь период наблюдения различия статистически значимы только по показателям РF (физическое функционирование), VT (жизненная активность). По остальным показателям

не наблюдается статистически значимых улучшений через 12 и 36 месяцев контрольных наблюдений.

**Таблица 44**  
**Результаты расчетов по критерию Фридмана (ФВ ЛЖ ≤35% медикаментозная группа)**

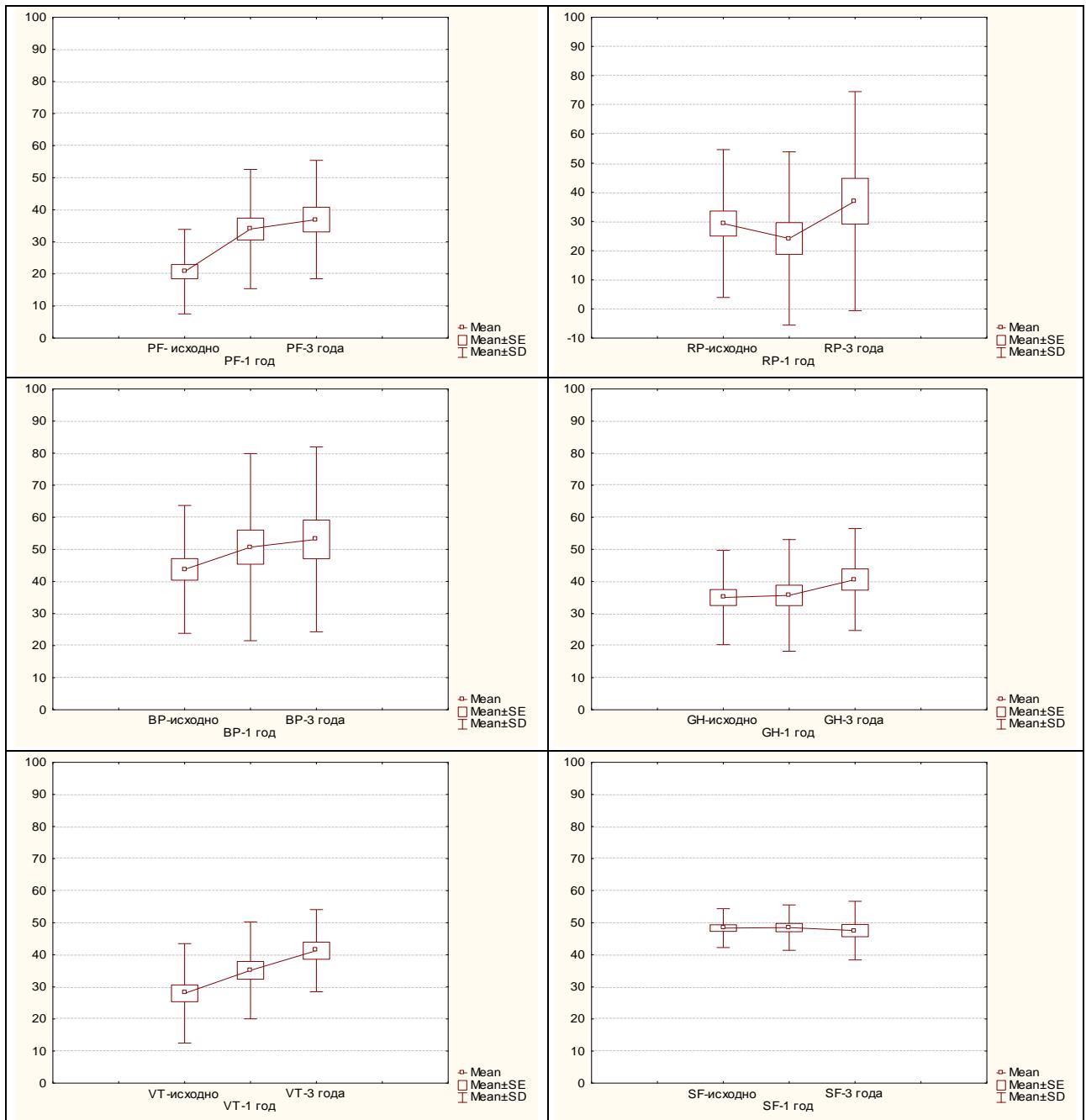
Показатель	M±m			р – значение	W
	Исходно	12 мес.	36 мес.		
PF	20,71±2,23	34,00±3,39	36,96±3,85	0,0094	0,2
RP	29,29±4,29	24,17±5,42	36,96±7,84	0,31	0,05
BP	43,77±3,37	50,70±5,33	53,13±6,01	0,054	0,12
GH	35,00±2,49	35,67±3,18	40,61±3,31	0,95	0,0021
VT	28,00±2,62	35,17±2,76	41,30±2,67	0,00056	0,33
SF	48,34±1,02	48,50±1,29	47,57±1,90	0,7	0,015
RE	36,49±5,54	43,57±7,17	45,04±9,28	0,94	0,0024
MН	50,69±2,75	51,80±2,85	53,91±2,87	0,63	0,02

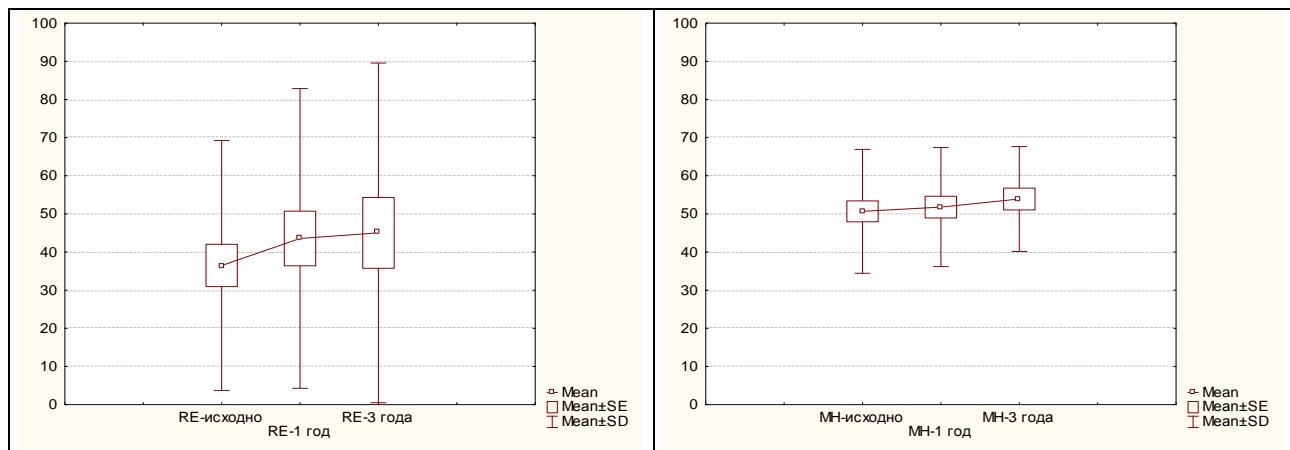
Из представленной ниже табл. 45 видно, что при сравнении исходных показателей и 12 месяцев, исходно и 36 месяцев наблюдения различия статистически значимы только по показателям PF (физическое функционирование), VT (жизненная активность). По остальным показателям также не отмечается статистически значимых улучшений через 12 и 36 месяцев контрольных наблюдений, как и при расчете по критерию Фридмана.

**Таблица 45**  
**Результаты расчетов по критерию Вилконсона (ФВ ЛЖ ≤35% медикаментозная группа)**

Признак	р – значение	
	исходно и 1 год	исходно и 3 года
PF	0,00063	0,00095
RP	0,16	0,2
BP	0,33	0,06
GH	0,77	0,7
VT	0,15	0,0017
SF	0,82	0,8
RE	0,39	0,8
MН	0,74	0,83

Ниже на рис. 22 представлены графики изменения статистических характеристик показателей качества жизни, отображающие, что за весь период наблюдения отмечается улучшение только по показателям PF (физическое функционирование), VT (жизненная активность). По остальным показателям улучшений через 12 и 36 месяцев контрольных наблюдений не отмечено.





*Рисунок 22. Графики Бокса-Вискера изменения показателей качества жизни (медикаментозная группа ФВ ЛЖ <35%)*

*Неблагоприятные события раннего и отдаленного периода наблюдения*

За время 12-ти и 36-ти месячного наблюдения летальность от СН составила 15,2% (8 больных) и 36,5% (19 больных) соответственно.

## РЕЗЮМЕ

Таким образом, больные с выраженной ишемической дисфункцией миокарда представляют собой категорию с тяжелыми клинико-функциональными нарушениями, что в свою очередь влияет на их продолжительность и качество жизни.

### Первичная конечная точка

Расстояние, пройденное пациентами первой группы во время 6-ти минутного теста ходьбы, статистически значимо возросло на всех контрольных этапах исследования. Во второй, медикаментозной группе данный показатель имел слабую статистически не значимую положительную динамику.

### Вторичные конечные точки

В первой группе во время выполнения эндоваскулярной имплантации МФКМ ни один больной не имел интраоперационных осложнений. Ранний послеоперационный период также протекал без осложнений.

Функциональный класс стенокардии, как и ХСН (NYHA) достоверно улучшился по отношению к исходным данным. В связи с этим отмечена динамика снижения приема сублингвальных нитратов. Также у больных, после эндоциардиальной имплантации МФКМ, за весь период наблюдения отмечена статистически значимая динамика улучшения клинико-функциональных показателей: ФВ ЛЖ, КДО и КСО ЛЖ.

Все изучаемые показатели качества жизни имели статистически значимое улучшение на всех этапах исследования.

Во второй группе функциональный класс стенокардии через 12 и 36 месяцев несколько улучшился, но не имел статистической значимости через 12 месяцев ( $p=0,06$ ), приобретая в дальнейшем слабую положительную достоверную тенденцию через 36 месяцев ( $p=0,04$ ). Класс ХСН (NYHA) улучшился, но не имел статистической достоверности. В соответствии с этим на всех этапах контроля отмечено повышение приема сублингвальных нитратов ( $p=0,02$ ).

Функция левого желудочка и показатели внутрижелудочной гемодинамики в целом статистически незначимо улучшилась на всех этапах контроля).

Среди показателей качества жизни различия статистически значимы были только по показатели PF (физическое функционирование), VT (жизненная активность).

Общая летальность за 36 месяцев наблюдения у пациентов I группы общая летальность составила 23 больных (41,8%), от СН умерло 32,7% (19) и 4 (7,2%) больных погибло от внесердечных причин (2 несчастных случая, 1 случай онкопатологии и ОНМК). Во II группе за время 12-ти и 36-ти месячного наблюдения смертность от СН составила 15,2% (8 больных) и 36,5% (19 больных) соответственно.

Таким образом, проведенная оценка клинико-функциональных показателей больных с выраженной ишемической дисфункцией миокарда на всех этапах исследования, выявила положительную динамику улучшения

течения заболевания у пациентов после использования эндоциркуляционной имплантации МФКМ в сочетании с современной медикаментозной терапией.

## ГЛАВА 5

### **СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЫЖИВАЕМОСТИ, КЛИНИКО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ, КАЧЕСТВА ЖИЗНИ БОЛЬНЫХ С ВЫРАЖЕННОЙ ИШЕМИЧЕСКОЙ ДИСФУНКЦИЕЙ МИОКАРДА**

Следующим этапом исследования выполнен сравнительный межгрупповой анализ выживаемости, клинико-функциональных показателей и качества жизни пациентов I и II групп.

**Цель исследования:** оценка летальности, функционального и клинического статуса пациентов с выраженной ишемической дисфункцией миокарда, которым была выполнена имплантация МФКМ в сочетании с современной медикаментозной терапией и получавших только изолированную медикаментозную терапию.

**Первичная конечная точка:** сравнение всех причин летальности в двух группах.

**Вторичные конечные точки:** предикторы причин смертности: тест 6-ти минутной ходьбы (респондеры - количество пациентов, увеличивших разницу на 50 метров между исходными и контрольными данными), функциональный класс стенокардии, функциональный класс сердечной недостаточности по NYHA, функция левого желудочка (по результатам ЭхоКГ), качество жизни.

#### *Отдаленные результаты*

#### **Первичная конечная точка**

Первым этапом анализа выживаемости была создана таблица времен жизни, позволяющая оценить время жизни пациентов после выполненной операции (табл. 46). Данные полученные при ее изучении показывают на то,

что больные после эндовиокардиальной имплантации МФККМ в сочетании с современной медикаментозной терапией (I группа) с вероятностью равной 1 проживают больше 1269 дней, а больные с изолированной медикаментозной терапией (II группа) 1165 дней (разница -104 дня) (первый интервал). Эта положительная прогностическая динамика относительно больных первой группы несколько уменьшается со временем, тем не менее сохраняет положительный баланс на протяжении всех двенадцати интервалов. К концу исследования разница между первой и второй группой составляет 9 дней (соответственно 119 и 110 дней) при вероятности доли выживших соответственно равной 0,5 и 0,6.

**Таблица 50****Таблица времен жизни**

интервал	интервал начальный		интервал последующий		число случаев		ценз		в интервале				кумулятивная доля выживших		мгновенный риск		станд. ошибка кумулятивная		медиана			
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II		
1	0,00	0,00	119,5	110,7	55	52	1	0	0	4	0,009	0,076	0,990	0,923	1,000	1,000	0,00007	0,00072	0,000	0,000	1269,9	1165,8
2	119,5	110,7	119,5	110,7	54	48	0	0	3	2	0,055	0,041	0,944	0,958	0,990	0,923	0,00047	0,00038	0,012	0,036	1155,2	1076,2
3	239,0	221,4	119,5	110,7	51	46	2	0	4	3	0,080	0,065	0,920	0,934	0,935	0,884	0,00069	0,00060	0,033	0,044	1064,5	976,0
4	358,6	332,1	119,5	110,7	45	43	1	0	1	3	0,022	0,069	0,977	0,930	0,860	0,826	0,00019	0,00065	0,047	0,052	956,36	881,0
5	478,1	442,9	119,5	110,7	43	40	0	0	0	2	0,011	0,050	0,988	0,950	0,841	0,769	0,00009	0,00046	0,049	0,058	836,81	775,0
6	597,7	553,6	119,5	110,7	43	38	1	0	0	2	0,011	0,052	0,988	0,947	0,831	0,730	0,00009	0,00048	0,051	0,061	717,27	664,3
7	717,2	664,3	119,5	110,7	42	36	0	0	3	2	0,071	0,055	0,928	0,944	0,822	0,692	0,00062	0,00051	0,052	0,064	597,72	553,6
8	836,8	775,0	119,5	110,7	39	34	2	0	2	1	0,052	0,029	0,947	0,970	0,763	0,653	0,00045	0,00027	0,058	0,065	478,18	442,9
9	956,3	885,8	119,5	110,7	35	33	4	0	6	0	0,181	0,015	0,818	0,984	0,723	0,634	0,00167	0,00013	0,062	0,066	358,63	332,1
10	1075,9	996,5	119,5	110,7	25	33	21	31	0	0	0,034	0,028	0,965	0,971	0,591	0,625	0,00029	0,00026	0,070	0,067	239,09	221,4
11	1195,4	1107,2	119,5	110,7	4	2	3	1	0	0	0,200	0,333	0,800	0,666	0,571	0,607	0,00185	0,00361	0,073	0,069	119,54	110,7
12	1315,0	1218,0			1	1	1	1	0	0	1,000	1,000	0,000	0,000	0,456	0,404			0,146	0,198		

Примечание: I группа - больные после эндоэнокардиальной имплантации МФКМ в сочетании с современной медикаментозной терапией, II- группа больные с изолированной медикаментозной терапией.

Ниже представлен следующий критерий – функция мгновенного риска (Hazard Function), (рис.23) для больных первой и (рис.24) для больных второй группы.

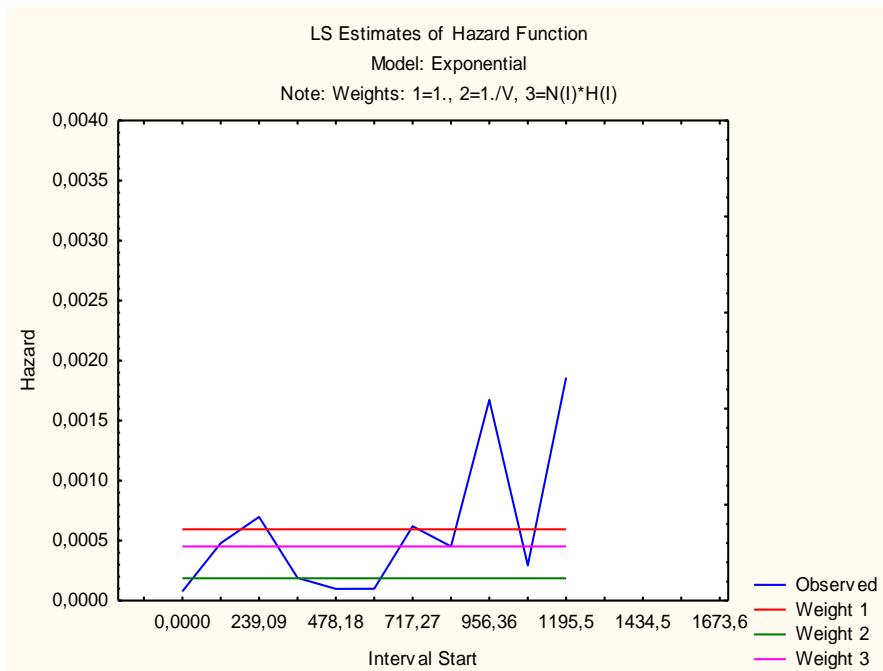


Рисунок 23. Функция мгновенного риска для больных первой группы

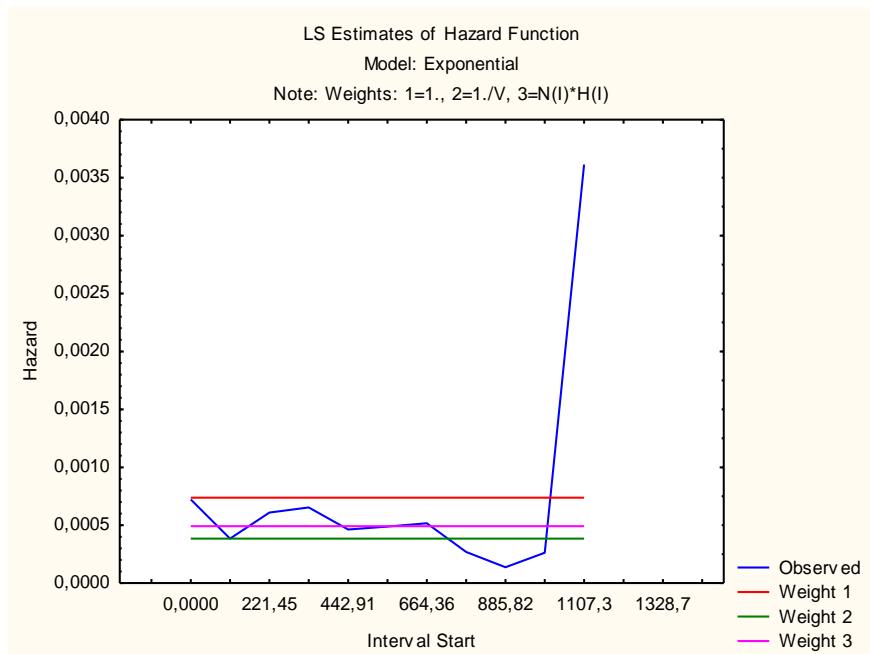
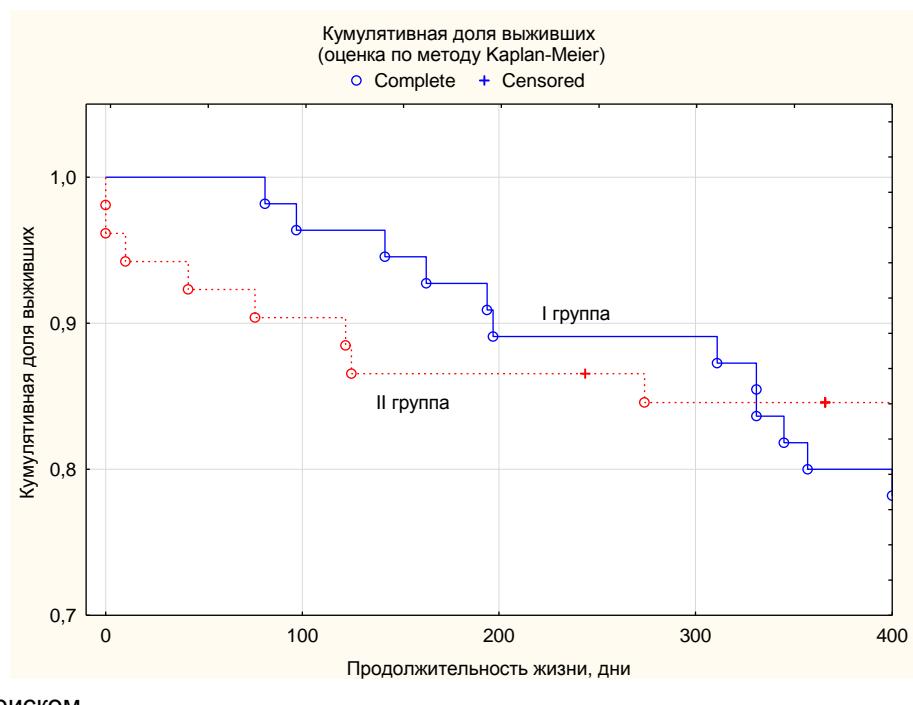


Рисунок 24. Функция мгновенного риска для больных второй группы

Как видно из выше представленных графиков у больных первой группы в первые дни риск смерти низкий (0,0001), который затем повышается до 239 дня (0,0007), затем падает достигая минимума к 600 дню (0,0002), после вновь увеличивается вплоть до 956 дня (0,0016) и опять снижается к 1000 дню (0,0003) с последующим его максимальным повышением к 1200 дню до уровня вероятности смерти 0,0018. Во второй группе риск наступления летального исхода находится на постоянном уровне до 1000 дня (в границах 0,0004-0,0007) с последующим его резким повышением к 1107 дню (0,0035).

Общая летальность в течение 12 месяцев наблюдения в обеих группах составила 20 больных (18,6%): в I группе -21,8% (12 пациентов) по сравнению с 15,3% (8 пациентов) во II группе (log-rank test,  $p=0,51$ ; рис. 25)

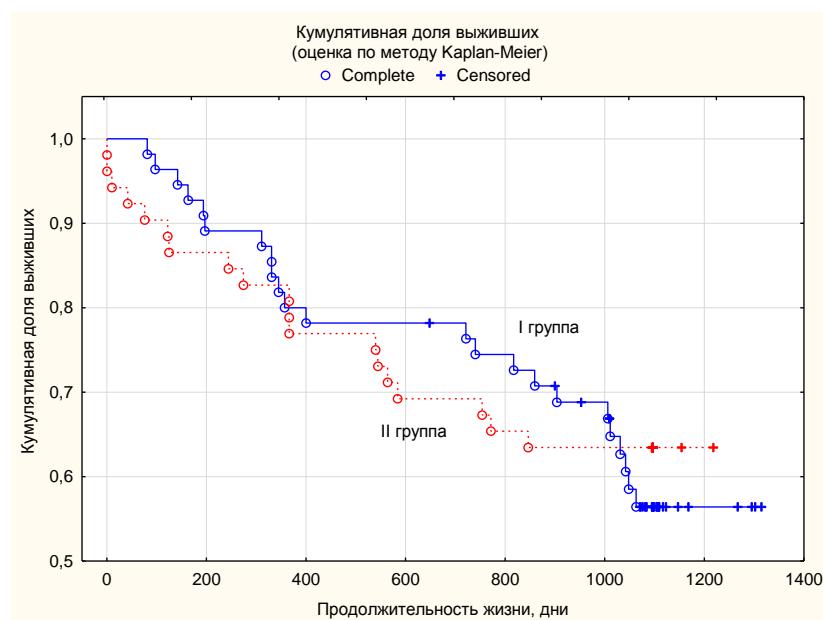


Кол-во с риском

I группа	55	54	51	45
II группа	52	48	46	43

Рисунок 25. Выживаемость пациентов в двух группах за период наблюдения 12 месяцев (график Kaplan Meier).

В период с 12 до 36 месяцев, общая летальность в I группе составила 25,5% (11 пациентов), во II группе – 25,0% (11 пациентов). Таким образом, за период наблюдения 36 месяцев, в группе МФККМ в сочетании с современной медикаментозной терапией погибло 41,8% (23 пациента) по сравнению с 36,5% (19 пациентов) в группе с изолированным медикаментозным лечением (log-rank test,  $p=0,71$ ; рис. 26).

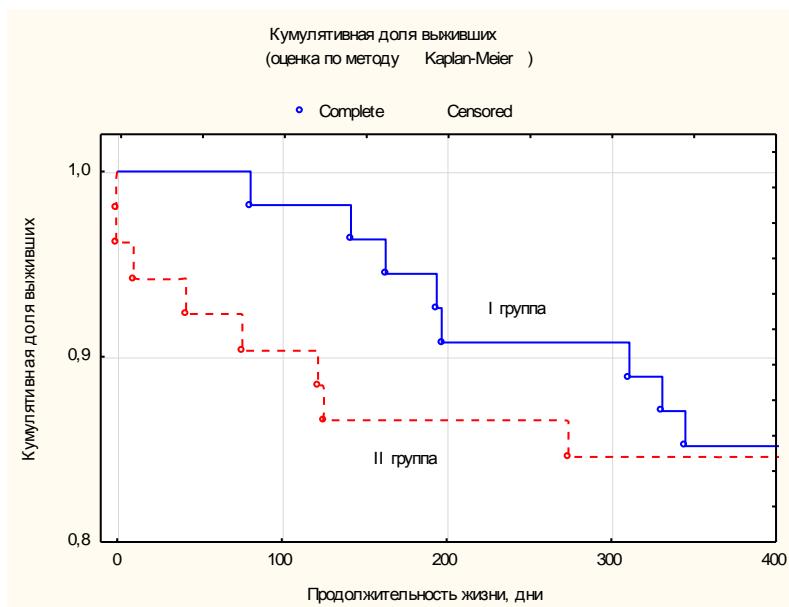


Кол-во с риском

I группа	55	51	43	39	25	.4	1
II группа	52	46	38	34	33	2	1

*Рисунок 26. Выживаемость пациентов в двух группах за период наблюдения 36 месяцев (график Kaplan Meier).*

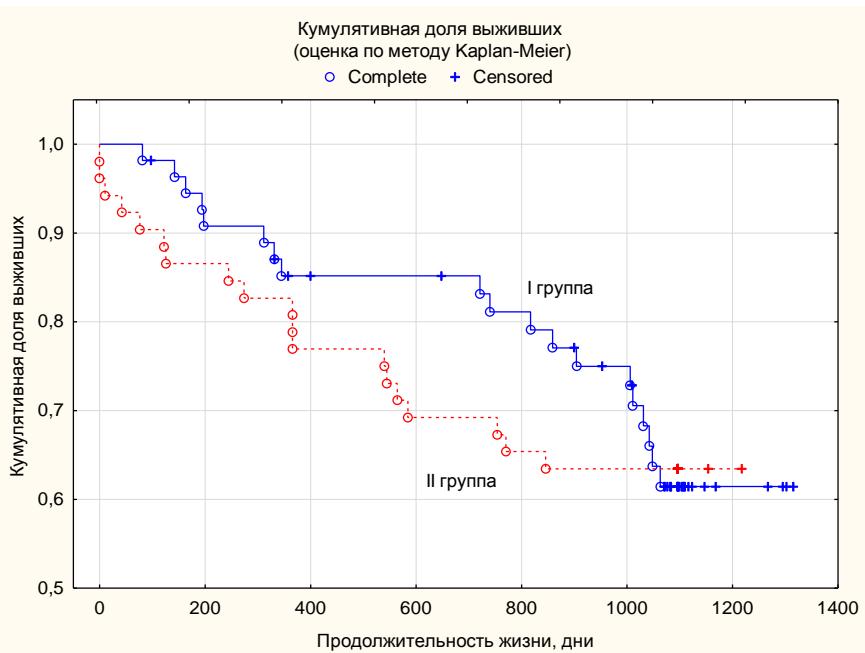
Среди всех причин летальности выявлено преобладание смертности от прогрессирования СН составило 71,4% от всех 42 случаев смерти в обеих группах (по 8 случаев через 12 месяцев (log-rank test,  $p=0,81$ ; рисунок 27) и по 19 случаев через 36 месяцев, соответственно: в первой группе 82,6% и во второй группе 100% (log-rank test,  $p=0,80$ ; рисунок 28).



Кол-во с риском

I группа	55	54	51	45
II группа	52	48	46	43

*Рисунок 27. Выживаемость пациентов в двух группах за период наблюдения 12 месяцев (график Kaplan Meier) (причина летальности CH).*



Кол-во с риском

I группа	55	51	43	39	25	4	1
II группа	52	46	38	34	33	2	1

*Рисунок 28. Выживаемость пациентов в двух группах за период наблюдения 36 месяцев (график Kaplan Meier) (причина летальности CH).*

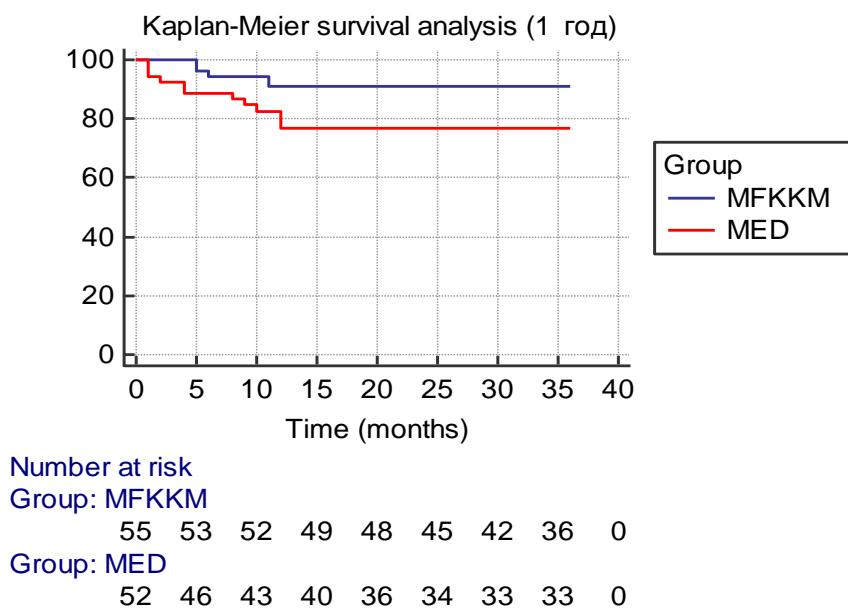
Кроме этого 4 (9,5%) пациента первой группы погибли от внесердечных причин (1 (2,3%) – ОНМК, 1 (2,3%) - онкопатология и 2(3,6%) - несчастный случай) (таблица 47).

**Таблица 47**

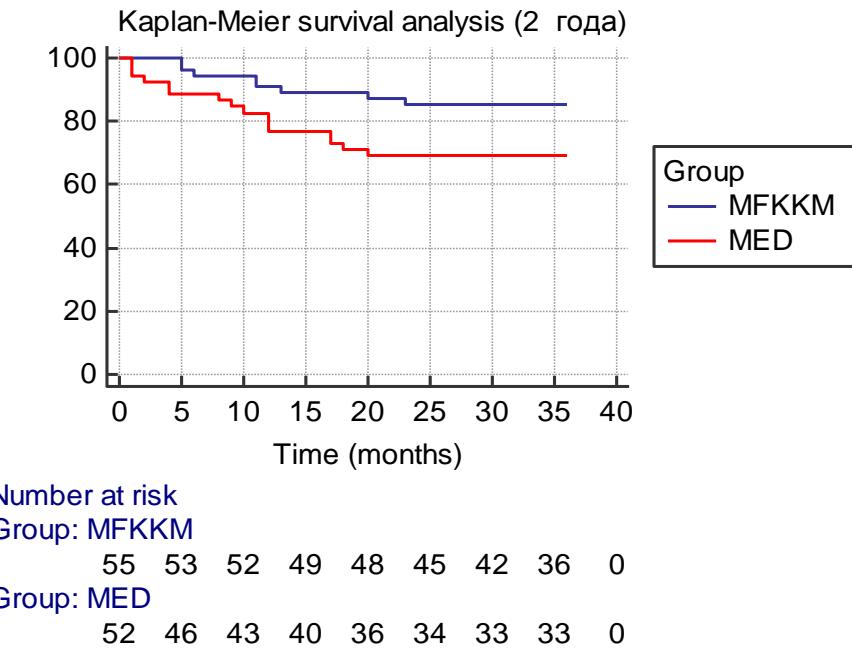
**Структура причин смерти у пациентов двух групп**

Причина смерти	группа I (n= 55)	группа II (n= 52)
Внезапная смерть, n (%)	0	0
Интраоперационная смерть, n (%)	0	0
Смерть от прогрессирования CH, n (%)	19 (82,6)	19 (100)
Внесердечные причины смерти, n (%)	4 (17,4)	0
Неизвестные причины смерти, n (%)	0	0
Общая смертность, n (%)	23 (41,8)	19 (36,5)

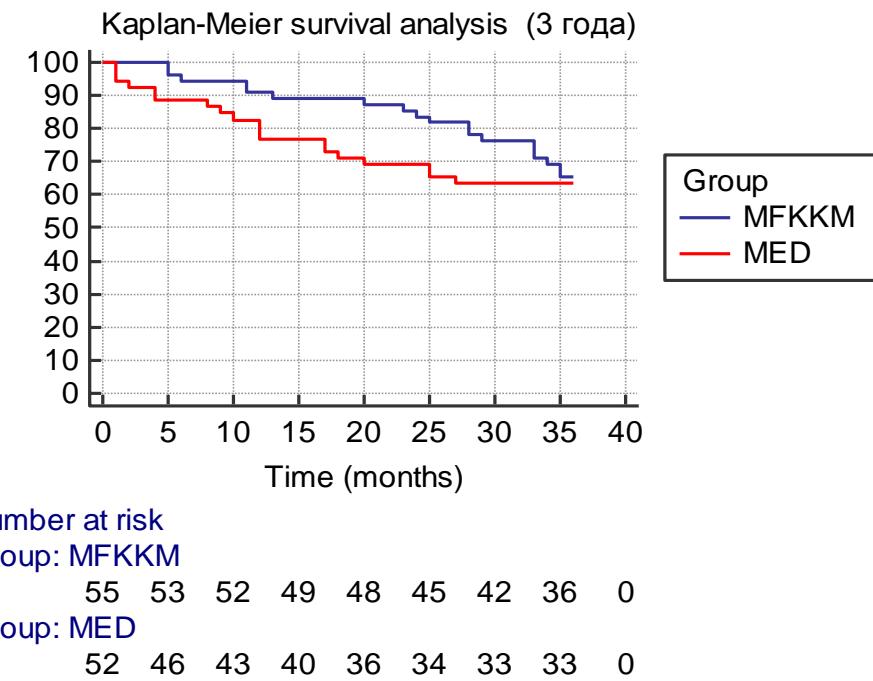
Учитывая выжеизложенные кумулятивные данные, полученные при использовании метода Kaplan Meier, нами в этом же формате было проведено построение модели, наиболее точно оценивающей погодовую функцию вероятности выживания в каждой группе (Survival probability) (рис.29,30,31).



*Рисунок 29. Выживаемость пациентов в двух группах за период наблюдения 12 месяцев (Survival probability график Kaplan Meier) (причина летальности CH).*



*Рисунок 30. Выживаемость пациентов в двух группах за период наблюдения 24 месяца (Survival probability график Kaplan Meier) (причина летальности CH).*



*Рисунок 31. Выживаемость пациентов в двух группах за период наблюдения 36 месяцев (Survival probability график Kaplan Meier) (причина летальности CH).*

Как видно из представленных выше графиков на этапе первого и второго года наблюдения вероятность выживания у больных первой группы статистически значимо выше аналогичного показателя второй группы: (log-rank test,  $p=0,0461$ ; рис. 29 и log-rank test,  $p=0,0391$ ; рис. 30 соответственно) и только к концу третьего года эта разница теряет статистическую достоверность (log-rank test,  $p=0,5459$ ; рис. 31).

Независимыми предикторами летальности по данным однофакторного регрессионного анализа Кокса, являлись КДР ЛЖ (ОР 1,97 (1,33—2,94),  $p=0,00052$ ), КСО ЛЖ (ОР 1,00 (1,00—1,01),  $p = 0,017$ ), УО ЛЖ (ОР 0,98 (0,96—1,00),  $p = 0,026$ ; рЛА (ОР 1,02(0,99-1,04),  $p=0,051$ ) и многофакторного анализа только КДР ЛЖ (ОР 4,4 (1,77-9,67),  $p=0,0014$  (табл. 48).

**Таблица 48**

**Результаты регрессионного анализа Кокса по выявлению факторов риска летальности**

Факторы риска	Однофакторный		Многофакторный	
	ОР (95% ДИ)	$p$	ОР (95% ДИ)	$P$
Возраст	0,98 (0,94-1,02)	0,33	-	-
Пол (М/Ж)	2,03 (1,97-2,21)	0,99	-	-
ГБ	0,93 (0,73-1,19)	0,60	1,05 (0,81-1,37)	0,66
ФК СН по CCS	0,89 (0,60-1,32)	0,58	0,76 (0,49-1,17)	0,21
ФК СН по NYHA	0,85 (0,41-1,74)	0,66	0,64 (0,30-1,35)	0,64
ФВ ЛЖ	0,96 (0,91-1,01)	0,14	1,06 (0,97-1,17)	0,16
КДО ЛЖ	1,00 (0,99-1,00)	0,10	1,04 (0,85-1,26)	0,67
КСО ЛЖ	<b>1,00 (1,00-1,01)</b>	<b>0,017</b>	0,95 (0,78-1,16)	0,64
КДР ЛЖ	<b>2,1 (1,38-3,24)</b>	<b>0,00052</b>	<b>4,40 (1,77-9,67)</b>	<b>0,0014</b>
УО ЛЖ	<b>0,98 (0,96-1,00)</b>	<b>0,026</b>	0,92 (0,76-1,12)	0,45
рЛА	<b>1,02 (0,99-1,04)</b>	<b>0,051</b>	1,02 (0,99-1,05)	0,10

**Вторичные конечные точки**

*Респондеры и нереспондеры*

Согласно результатам теста 6-ти минутной ходьбы к исходу 12-ти и 36-ти месячного наблюдения, соответственно 27(62,7%) и 21 (68,7%) ( $p<0,001$ ) пациентов I группы были респондерами, в остальных случаях не было выявлено увеличения этого показателя. Во второй группе пациентов

(медикаментозное лечение) на данных этапах исследования респондерами являлись соответственно 14 (31,8%) и 9 (27,7%) пациентов ( $p<0,02$ ).

### *Динамика клинико-функциональных показателей*

Для сравнения значений клинико-функциональных показателей в обеих группах исходно, через 12 месяцев и через 36 месяцев наблюдений использовался критерий Манна-Уитни. Результаты расчетов приведены ниже в табл. 49.

**Таблица 49**

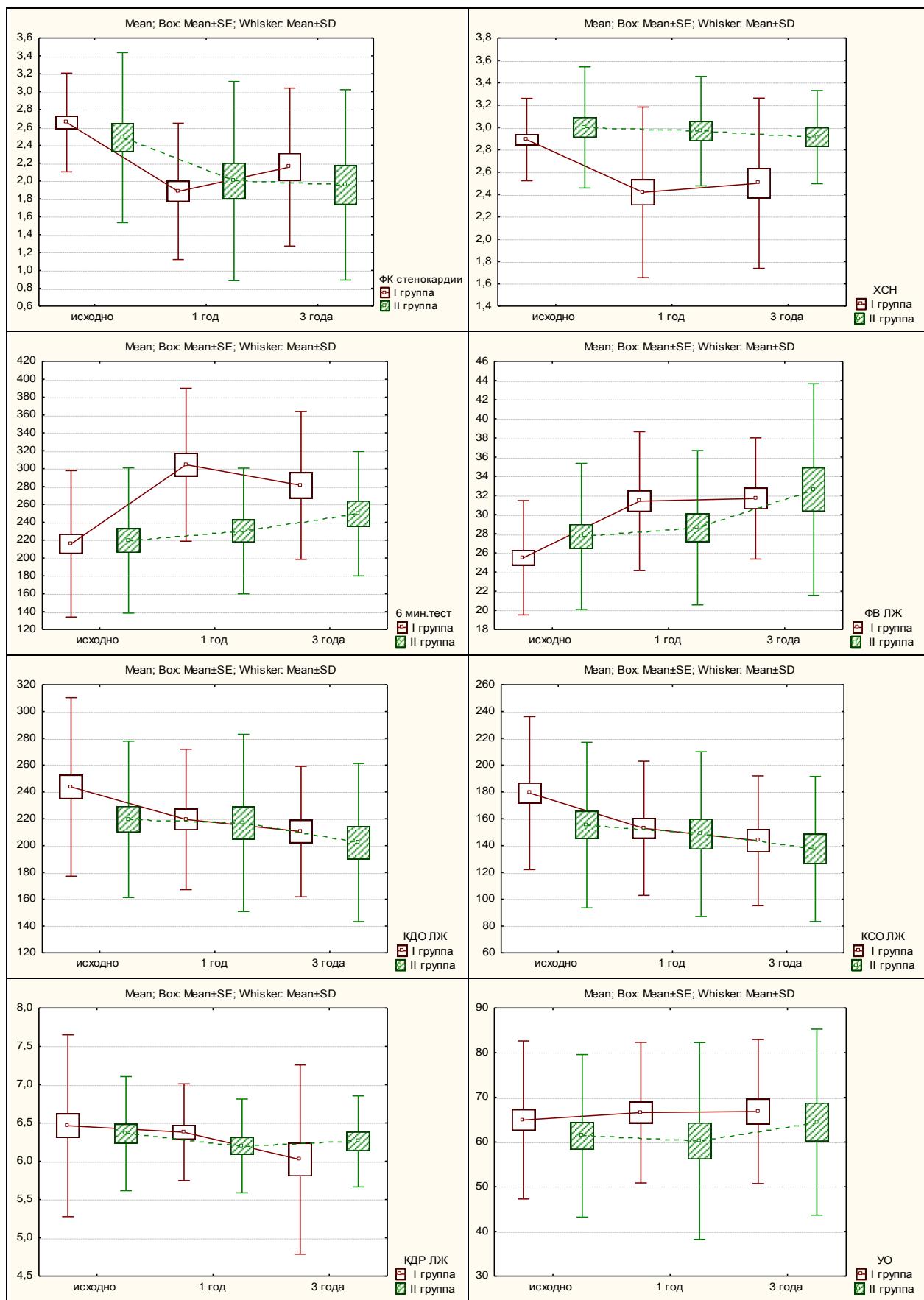
**Результаты расчетов по критерию Манна-Уитни: сравнение с исходными показателями**

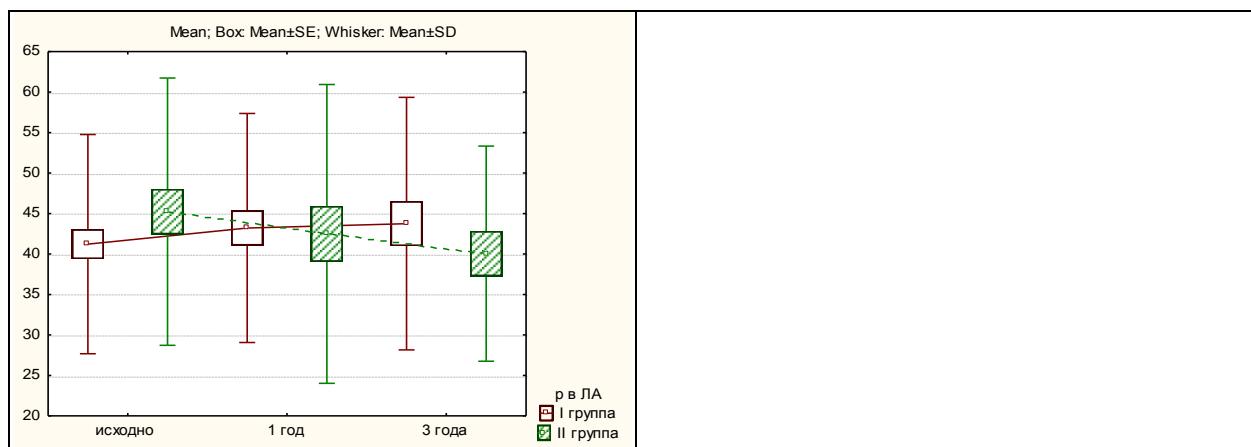
Показатель	Исходно		р-значение	
	$M \pm m$			
	I группа	II группа		
ФК СН	2,65±0,07	2,49±0,16	0,67	
ФК ХСН	2,89±0,05	3,00±0,09	0,28	
6 мин. тест	215,76±11,04	219,54±13,73	0,91	
ФВ ЛЖ	25,49±0,81	27,71±1,29	0,051	
КДО ЛЖ	243,74±8,98	219,57±9,86	0,052	
КСО ЛЖ	179,12±7,70	155,31±10,44	0,036	
КДР ЛЖ	6,46±0,16	6,36±0,13	0,18	
УО	64,94±2,38	61,39±3,07	0,67	
р в ЛА	41,22±1,83	45,23±2,79	0,28	
12 месяцев				
Показатель	$M \pm m$		р-значение	
	$M \pm m$			
	I группа	II группа		
ФК СН	1,88±0,12	2,00±0,20	0,26	
ФК ХСН	2,42±0,12	2,97±0,09	0,0016	
6 мин. тест	304,30±13,04	230,20±12,83	0,00018	
ФВ ЛЖ	31,40±1,11	28,62±1,50	0,30	
КДО ЛЖ	219,48±7,99	216,89±12,27	0,53	
КСО ЛЖ	152,87±7,63	148,53±11,41	0,64	
КДР ЛЖ	6,38±0,10	6,20±0,12	0,18	
УО	66,59±2,40	60,25±4,09	0,14	
р в ЛА	43,21±2,16	42,48±3,43	0,42	

Показатель	M±m		р-значение
	I группа	II группа	
ФК СН	2,16±0,16	1,96±0,22	0,55
ФК ХСН	2,50±0,13	2,91±0,09	0,035
6 мин. Тест	281,19±14,61	249,52±14,51	0,19
ФВ ЛЖ	31,68±1,12	32,62±2,30	0,83
КДО ЛЖ	210,45±8,60	202,26±12,30	0,45
КСО ЛЖ	143,61±8,56	137,44±11,29	0,46
КДР ЛЖ	6,02±0,22	6,26±0,13	0,67
УО	66,83±2,85	64,47±4,34	0,46
р в ЛА	43,75±2,76	40,04±2,77	0,43

Статистически значимо между исходными значениями показателей в обеих группах отличались ФВ ЛЖ, КДО ЛЖ и КСО ЛЖ. Через 12 месяцев наблюдений статистически значимо отличаются в исследуемых группах показатели ХСН и 6-минутный тест. Во второй группе среднее значение ХСН (2,97) выше, чем в первой (2,42). По показателю 6-минутного теста: среднее значение во второй группе (230,2), чем в первой (304,3). Через 36 месяцев наблюдений статистически значимые различия при уровне значимости 0,05 наблюдаются только по показателю ХСН.

Ниже на рис. 32 также отражены изменения основных клинико-функциональных показателей через 12 и 36 месяцев контрольного наблюдения. Обе группы практически мало отличаются по клинико-функциональным показателям, за исключением показателей ФК ХСН и 6-минутного теста в первой группе, которые улучшаются к 12 месяцам наблюдения, но к концу 36 месячного наблюдения сохраняется положительная динамика только показателя ФК ХСН.





*Рисунок 32. Графики Бокса-Вискера изменения основных клинико-функциональных показателей ( $\Phi В ЛЖ \leq 35\% МФККМ$  и медикаментозная группы)*

Для проверки гипотезы о статистической значимости отличий между показателями в первой и второй группах с  $\Phi В ЛЖ \leq 35\%$  исходно, через 12 месяцев и через 36 месяцев наблюдений использовался критерий хи-квадрат Пирсона. В табл. 50 приведены результаты расчетов по критерию.

**Таблица 50**

**Результаты расчетов по критерию хи-квадрат сравнения показателей у больных с  $\Phi В ЛЖ \leq 35\%$ : медикаментозная и после имплантации МФККМ**

Показатель	Период	p-значение
ФК СН	исходно	0,051
ФК ХСН	исходно	0,062
ФК СН	12 месяцев	0,056
ФК ХСН	12 месяцев	0,0097
ФК СН	36 месяцев	0,56
ФК ХСН	36 месяцев	0,046

Как видно из таблицы, исходно показатели ФК СН и ХСН не отличаются статистически значимо при уровне значимости 0,05. Через 12 и через 36 месяцев наблюдений статистически значимо отличается показатель ХСН. Аналогичные выводы были получены в результате применения критерия Манна-Уитни.

### *Динамика качества жизни*

Для оценки изменения качества жизни между больными, после эндоокардиальной имплантации МФКМ в сочетании с современным медикаментозным лечением (I-я группа) и получавшими только медикаментозное лечение (II группа) с течением времени (контрольные наблюдения: исходно, через 12 месяцев, через 36 месяцев) применялся критерий Манна-Уитни (Mann-Whitney - U Test). Сравнивались приросты показателей качества жизни: разница между показателем через 12 месяцев наблюдений и исходным показателем; разница между показателем через 36 месяца наблюдений и исходным показателем. Критерий Манна-Уитни – непараметрический, используется для сравнения двух независимых подгрупп наблюдений, проверяет основную гипотезу о статистической незначимости отличий между двумя группами независимых наблюдений.

В табл. 51 представлены статистические результаты расчетов прироста показателей качества жизни через 12 месяцев.

**Таблица 51**

**Результаты расчетов по критерию Манна-Уитни: прирост показателя качества жизни через 12 месяцев**

Показатель	M±m		р-значение
	I группа	II группа	
PF	20,00±2,70	12,83±3,20	0,092
RP	27,33±5,75	-6,67±4,31	0,0002
BP	25,56±3,59	4,53±4,83	0,00011
GH	7,40±2,18	-1,00±3,12	0,051
VT	11,63±2,29	6,17±4,29	0,2
SF	22,00±2,86	0,03±1,57	0,00000011
RE	27,72±2,46	6,60±7,72	0,011
MH	6,79±1,65	-0,60±2,74	0,0068

В первой группе статистически значимо улучшился показатель качества жизни: RP (ролевое функционирование, обусловленное физическим состоянием), средний прирост значения показателя через 12 месяцев после операции составил 27,33, а во второй, наоборот, наблюдается ухудшение

показателя RP через 12 месяцев медикаментозного лечения, обусловленное ухудшением эмоционального фона. Аналогичная ситуация наблюдается по показателям GH (общее состояние здоровья) и MH (психическое здоровье). Показатели PF (физическое функционирование), BP (интенсивность боли), VT (жизненная активность), SF (социальное функционирование), RE (ролевое функционирование, обусловленное эмоциональным состоянием) в абсолютном выражении увеличились в обеих исследуемых группах через 12 месяцев наблюдений. Однако, улучшение по показателям PF, BP, SF и RE в первой группе значительно больше, чем в второй. По этим показателям наблюдается статистически значимая разность приростов по группам при уровне значимости 0,05.

Через 36 месяцев наблюдений по сравнению с исходным состоянием улучшаются показатели качества жизни по обеим группам (за исключением VT). В первой группе в абсолютном выражении улучшение значений показателей больше, однако, статистическая значимость отличий при уровне 0,05 не наблюдается (не достигнута) за исключением показателя SF (табл.52)

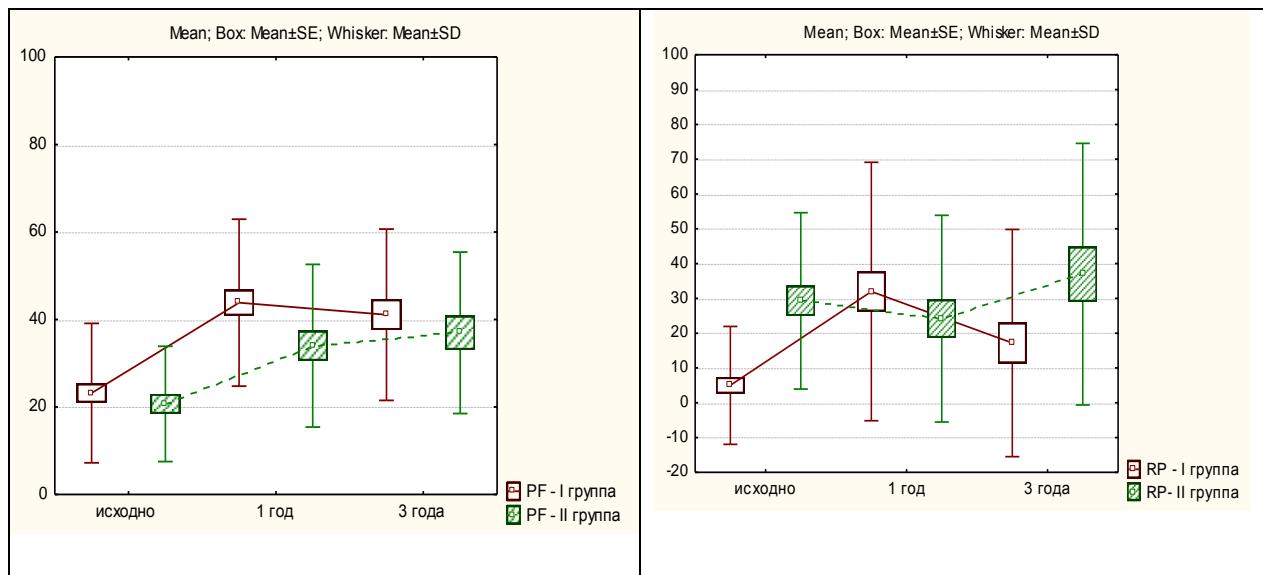
**Таблица 52**

**Результаты расчетов по критерию Манна-Уитни: прирост показателя качества жизни через 36 месяцев**

Показатель	M±m		р-значение
	I группа	II группа	
PF	15,00±3,64	14,35±3,96	0,91
RP	10,94±6,64	6,52±5,02	0,97
BP	12,59±3,74	9,57±4,86	0,6
GH	5,25±2,76	2,78±2,58	0,49
VT	9,22±2,60	15,22±3,66	0,28
SF	13,81±2,97	-0,91±2,19	0,00066
RE	12,44±3,57	5,61±7,45	0,35
MH	6,87±1,90	0,35±0,26	0,025

Ниже на рис. 33 изображены графики, отражающие изменения показателей качества жизни в обеих группах в контрольные периоды наблюдения. Видно,

что в первой группе через 12 месяцев после имплантации МФККМ улучшился показатель качества жизни RP (ролевое функционирование), а во второй группе, наоборот, наблюдается ухудшение показателя RP. Аналогичная ситуация наблюдается по показателям GH (общее состояние здоровья) и MH (психическое здоровье). Показатели PF (физическое функционирование), BP (интенсивность боли), VT (жизненная активность), SF (социальное функционирование), RE (ролевое функционирование) через 12 месяцев улучшились в обеих группах. Однако, в сравнении со второй группой, в первой отмечено улучшение больше по показателям PF, BP, SF и RE. Через 36 месяцев наблюдений по сравнению с исходным состоянием сохраняется улучшение показателей качества жизни по обеим группам (за исключением VT), за исключением показателей SF и MH в медикаментозной группе, которые не изменились в динамике в сравнении с исходными показателями.



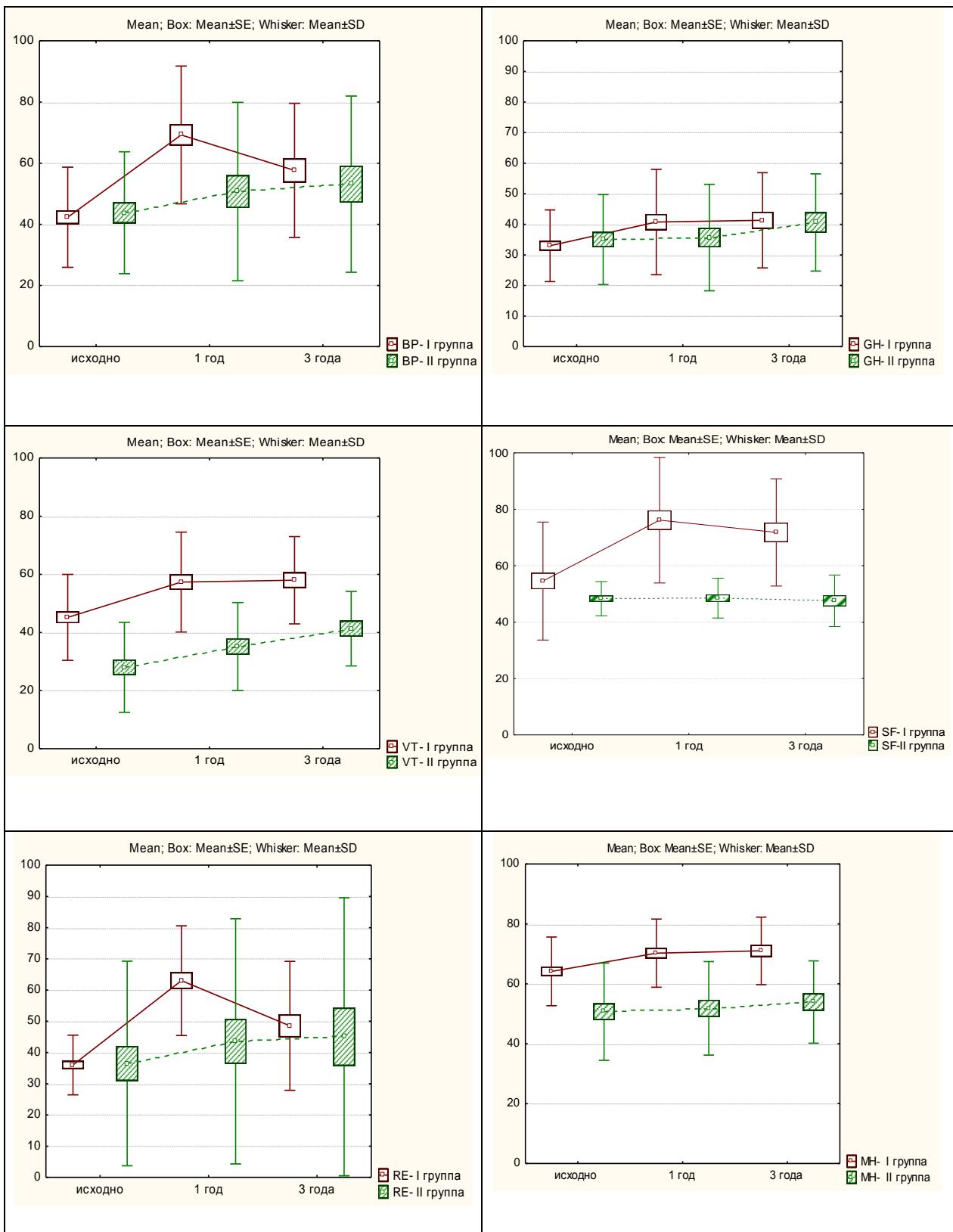


Рисунок 33. Графики Бокса-Вискера изменения показателей качества жизни ( $\Phi В ЛЖ \leq 35\%$ : I группа- МФКМ и II- медикаментозная)

## РЕЗЮМЕ

Таким образом, больные после эндомиокардиальной имплантации МФККМ в сочетании с современной медикаментозной терапией (I группа) по данным таблицы времен жизни с вероятностью равной 1 проживают на 104 дня больше, чем больные с изолированной медикаментозной терапией (II группа) (1269 против 1165 дней). Эта положительная тенденция в разнице сохраняется до конца исследования - разница между первой и второй группой составляет 9 дней (соответственно 119 и 110 дней) при вероятности доли выживших соответственно равной 0,5 и 0,6. Функция мгновенного риска для пациентов первой группы также указывает на низкую вероятность смерти в первые дни после операции (0,0001), который затем в динамике имеет разнонаправленную тенденцию с последующим его максимальным повышением к 1200 дню до уровня вероятности смерти 0,0018. Во второй группе риск наступления летального исхода находится на практически едином уровне до 1000 дня (в границах 0,0004-0,0007), который затем резко повышается к 1107 дню и превышает аналогичный показатель первой группы практически в 2 раза (0,0035).

На более значимый положительный эффект у пациентов в лечении которых использовалась эндомиокардиальная имплантация МФККМ в сочетании с современным медикаментозным лечением, указывает и кумулятивная оценка функции выживаемости по данным анализа Каплан – Майер. В первой группе она расположена выше функции выживаемости, построенной по второй группе (медикаментозное лечение), фактически на всем периоде наблюдения. Кроме этого вероятность выживания по данным анализа Survival probability на этапе первого и второго года наблюдения у больных первой группы статистически значимо выше аналогичного показателя второй группы: (log-rank test,  $p=0,0461$  и  $p=0,0391$  соответственно). Следовательно, можно констатировать, что в этом временном промежутке у больных после выполнения эндомиокардиальной имплантации МФККМ значимо улучшается прогноз продолжительности

жизни, с последующим снижением статистической значимости выживаемости ( $p=0,97$ ). По данным проведенного многофакторного регрессионного анализа Кокса, КДР ЛЖ (ОР 4,4 (1,77-10,9),  $p=0,0014$ ) был независимым предиктором всех случаев смертности и госпитализаций.

Согласно результатам теста 6-ти минутной ходьбы к исходу 12-ти и 36-ти месячного наблюдения, соответственно 27(62,7%) и 21 (68,7%) ( $p<0,001$ ) пациентов I группы были респондерами, у остальных пациентов не было выявлено увеличение этого показателя. Во второй группе (медикаментозное лечение) в изучаемые временные промежутки респондеров было практически в 2 и 2,5 раза меньше - 14 (31,8%) и 9 (27,7%) пациентов ( $p<0,02$ ) соответственно

Статистически значимо между исходными значениями показателей в обеих группах отличались ФВ ЛЖ, КДО ЛЖ и КСО ЛЖ. Через 12 месяцев наблюдений статистически значимо отличаются в исследуемых группах показатели ХСН и 6-минутного теста. Во второй группе среднее значение ХСН (2,97) было выше, чем в первой (2,42).

В первой группе статистически значимо улучшался показатель качества жизни RP, а во второй группе наоборот наблюдалось ухудшение этого показателя (RP) через 12 месяцев. Аналогичная ситуация наблюдалась по показателям GH и МН. Улучшение по показателям PF, BP, SF и RE в первой группе значительно больше, чем во второй. По этим показателям наблюдается статистически значимая разница приростов по группам при уровне значимости 0,05. Через 36 месяцев наблюдений в сравнении с исходным состоянием улучшаются показатели качества жизни по обеим группам (за исключением VT).

Таким образом, у большинства больных первой группы после выполнения эндомиокардиальной имплантации МФККМ в сочетании с современной медикаментозной терапией в сравнении с группой изолированного медикаментозного лечения отмечено улучшение клинико-функционального состояния, переносимости физической нагрузки и качества жизни.

Положительный эффект клеточной терапии сохранялся в течение 12 -24 месяцев с постепенным его снижением к концу 36 месячного наблюдения.

## ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Несмотря на значительные успехи современной медицины в оказании высокоспециализированной кардиохирургической помощи, ишемическая болезнь сердца (ИБС) остается одной из ведущих причин инвалидизации и смертности взрослого населения ведущих стран мира [Белов Ю.В., 2002; Беленков Ю.Н., 2004; Багрий А.Э., с соавт, 2009; Perin E.S., 2003]. Применяемые на сегодняшний день различные традиционные методы терапевтического и хирургического лечения ИБС, такие как аортокоронарное шунтирование, чрезкожная транслюминальная баллонная ангиопластика со стентированием коронарных артерий, не всегда оказываются эффективными и остаются больные, которым эти методы применить не удается. Это, прежде всего группа пациентов с диффузным атеросклеротическим поражением коронарных артерий, либо с коронарными артериями небольших размеров, у которых их шунтирование технически не представляется возможным. Кроме этого существует группа пациентов с возвратной, у которых операция АКШ уже была выполнена, а повторная операция невозможна. [Silva G., 2004; Fuchs S., 2006].

В последние годы развитие кардиохирургии идет быстрыми темпами, совершенствуются интервенционная кардиология. Однако, инфаркт миокарда и последующая ХСН как были, так и остаются одной из главных причин летальности [Малая Л. Т., 1981; Беленков Ю.Н., 2003, 2007; Коноплянников М.А., с соавт. 2012; Березикова Е.Н., 2013].

Имеющаяся на сегодняшний день современная медикаментозная терапия обычно оказывается недостаточно эффективной в предотвращении процессов ремоделирования миокарда, так как она не обеспечивает фактическое замещение утраченных кардиомиоцитов. Недавние достижения в области биологии стволовой клетки кардинально изменили все представления о регенеративной способности миокарда и породили появление нового терапевтического направления – клеточной кардиомиопластики, нацеленного на замещение поврежденных функций миокарда путем трансплантации

стволовых клеток. Свойства стволовых клеток регулировать и активировать процессы ангиогенеза в миокарде открыли новые горизонты в терапии ИБС и профилактики таких ее осложнений как инфаркт миокарда, стенокардия, хроническая сердечная недостаточность [Корочкин Л.Н., 2003; Кругляков П.В., 2008].

Трансплантация клеток костного мозга рассматривается как потенциально многообещающая терапия для больных с хронической ишемической болезнью сердца. Известные клинические исследования подтвердили безопасность метода эндомиокардиального введения аутологичных мононуклеарных клеток костного мозга [Tse, H.F., et al. 2003; Fuchs S., et al. 2003; Perin E.C., et al. 2003-2012; Beeres S., et al., 2006].

Кроме того, результаты данных исследований доказали уменьшение ангинальных симптомов, увеличение миокардиальной перфузии и улучшение сократительной функции при трансплантации аутологичных стволовых клеток костного мозга [Коркин Ю.Г., 2008; Steiner J.K, et al., 2012; Junge C.E, et al., 2012]. Однако результаты этих исследований основаны на небольших по количеству выборках, более масштабных исследований по оценке эффективности эндомиокардиальной имплантации МФКМ у больных с сердечной недостаточностью до сих пор не проводилось [Beeres S., et al., 2006; Losordo D.W, et al., 2009; Quevedo H.C., et al., 2009; Willerson JT, et al., 2010; Assmus B, et al., 2012; Perin E.C., et al., 2012].

Данная работа состоит из 2 исследований: 1) оценка безопасности применения эндомиокардиальной имплантации МФКМ в сочетании с медикаментозной терапией у больных ХИБС с нормальной и умеренной сниженной фракцией выброса левого желудочка ( $\text{ФВ ЛЖ} \geq 36\%$ ) 2) сравнение клинической эффективности эндомиокардиальной имплантации МФКМ в сочетании с медикаментозным лечением у больных с выраженной дисфункцией левого желудочка ( $\text{ФВ ЛЖ} \leq 35\%$ ) с изолированным

медикаментозным лечением. В первое исследование было включено 48 пациентов, которым выполнена эндомиокардиальная имплантация МФКМ в сочетании с современной медикаментозной терапией.

Средний возраст больных в первом исследовании составил  $58,6 \pm 1,6$  лет. В нем участвовало 42 (87,5%) мужчин и 6 (12,5%) женщин. Всем больным была выполнена эндомиокардиальная имплантация МФКМ, которая сочеталась с современным медикаментозным лечением.

Во втором исследовании больные с ФВ ЛЖ  $\leq 35\%$  ( $n=107$ ) были рандомизированы и соответственно составили I и II группы. Во I группу вошли 55 больных с выраженной ишемической дисфункцией миокарда, которым также выполнялась эндомиокардиальная имплантация МФКМ в комбинации с современной медикаментозной терапией ХСН и ИБС. II группу ( $n=52$ ) составили больные, получавшие только современную медикаментозную терапию ХСН и ИБС. Длительность наблюдения за пациентами всех групп в обоих исследованиях составила 36 месяцев.

В I-ой группе с ФВ левого желудочка 35% и менее (МФКМ) средний возраст составил  $57,0 \pm 1,1$  лет, и соотношение мужчин и женщин 49/6 (89,1%/10,9%). Во II-ой группе (медикаментозной) соотношение мужчин/женщин составило соответственно 45/7 (86,5/13,5%), а средний возраст больных  $58,0 \pm 1,4$  лет.

Основной целью настоящего исследования была оценка безопасности, клинической эффективности долгосрочных результатов современной медикаментозной терапии и эндомиокардиального введения мононуклеарной фракции аутологичных клеток костного мозга больным с ишемической дисфункцией миокарда.

Полученные клинические результаты показали, что эндомиокардиальная имплантация МФКМ является безопасной, клинически эффективной процедурой для больных ХИБС и не требует длительного пребывания последних в стационаре. Риск мгновенного наступления летального исхода у

больных с ФВ ЛЖ более 36% с первых дней находился на низком уровне до 1143 дня (в границах 0,0005) и повышался лишь к 1429 дню до максимального уровня 0,0045. Данные полученные при оценке времени жизни пациентов после операции показывали на то, что на начальном этапе больные после эндомиокардиальной имплантации МФКМ с вероятностью равной 1 проживают больше 1442 дней, а на последнем двенадцатом интервале 71 день с вероятностью равной 0,5. Подобные эффекты были частично описаны другими исследователями [Шумаков В.И. и др., 2002; Wollert K.C, 2004; Erbs S, 2007; van Ramshorst J, 2009].

Часть исследователей, при использовании аутологичного материала, отмечает его низкую аритмогенность; однако в некоторых случаях их применения были аритмии [Menasche P., 2003; Smits P.C, van Geuns R.J, 2003], которые в ряде случаев были причинами летальных исходов [Бокерия Л.А., 2007]. В настоящем проведенном исследовании ни у одного из пациентов не развивалось интраоперационных осложнений, не было зарегистрировано аритмологических осложнений, в том числе жизнеугрожающих. Ни в одном случае эндомиокардиальной имплантации МФКМ не было зафиксировано повышение кардиоспецифических ферментов. В течение 24 часов последовательного ЭКГ мониторинга непосредственно, а также через 6, 12 и 36 месяцев после процедуры введения МФКМ не было зарегистрировано новых эпизодов аритмий, которые могли быть обусловлены имплантацией МФКМ. Все пациенты были выписаны из стационара на 3-5-е сутки после процедуры имплантации.

В ходе настоящего исследования у больных ИБС с ФВ ЛЖ  $\geq 36\%$  при контролльном обследовании через 6, 12 и 36 месяцев отмечено значимое улучшение функционального класса стенокардии относительно исходных показателей: через 6 месяцев у 38(78,6%) ( $p= 0,0006$ ), через 12 месяцев у 34(69,7%) ( $p=0,001$ ) и через 36 месяцев у 26 (48,5%) ( $p= 0,02$ ) больных, а также функционального класса ХСН (NYHA, который уменьшился через 6

месяцев у 34(69,8%) ( $p= 0,001$ ); 12 месяцев у 29(59,1%) ( $p=0,002$ ) и через 36 месяцев у 17 (26,9%) ( $p= 0,05$ ) пациентов.

В I группе с ФВ ЛЖ  $\leq 35\%$  после эндомиокардиальной имплантации МФККМ в сочетании с медикаментозной терапией, направленной на уменьшение проявлений стенокардии и ХСН, функциональный класс стенокардии достоверно улучшился через 6 месяцев у 25 (49,0%) больных ( $p= 0,00004$ ), через 12 месяцев у 26 (50,9%) ( $p=0,00003$ ) и через 36 месяцев у 20 (46,5%) пациентов ( $p= 0,003$ ). Класс ХСН (NYHA) повысился также статистически значимо через 6 месяцев у 19(30,5%) больных ( $p= 0,0003$ ); 12 месяцев у 23(29,2%) ( $p=0,001$ ) и через 36 месяцев у 27(21,8%) больных ( $p= 0,005$ ). В связи с этим отмечена динамика снижения приема сублингвальных нитратов: по истечении 6 месяцев наблюдения их принимали 19(44,1%) ( $p= 0,04$ ), 12 месяцев - 16(37,2%) ( $p=0,03$ ) и 36 месяцев - 11(34,3%) ( $p=0,01$ ) больных.

Данные проверки статистической значимости отличий между значениями показателей, измеренными в разные моменты времени с использованием критерия Фридмана выявили статистически значимые изменения показателей ФК стенокардии, ХСН, 6 минутный тест, ФВ ЛЖ, КДО ЛЖ, КСО ЛЖ. Анализ проверки гипотезы о статистической значимости отличий между значениями показателей в разные моменты парных измерений с использованием критерия Вилкоксона выявил статистически значимые изменения показателей ФК стенокардии, ХСН, 6 минутный тест, ФВ ЛЖ, КСО ЛЖ.

Улучшение клинического течения, объёмных характеристик, региональной тканевой перфузии и сократительной функции левого желудочка также документировано после интрамиокардиального введения стволовых клеток так и в других исследованиях, в частности [Hamano K et al, 2001; Kimikazu Hamano., 2002; Perin E.C., et al, 2004].

По данным литературы от трети до половины больных, госпитализированных по поводу сердечной недостаточности, имеют нормальную систолическую функцию левого желудочка. Данные о прогнозе этих больных противоречивы, но не так давно было показано, что долгосрочный прогноз и риск повторных госпитализаций у них такой же, как при систолической дисфункции левого желудочка [Zile M.R., Brutsaert D.L., 2002].

В проведенном первом исследовании с ФВ ЛЖ более 36%, ФВ ЛЖ, как и показатели КДО ЛЖ, КСО ЛЖ, УО, степени митральной регургитации и давления в стволе легочной артерии (рЛА) остались практически неизменными на протяжении 6, 12 и 36 месячного контроля.

Во втором исследовании в I группе больных с ФВ ЛЖ  $\leq 35\%$  после имплантации МФККМ отмечено в целом значимое улучшение функции ЛЖ на всех этапах контроля. ФВ ЛЖ увеличилась в среднем с исходных  $25,4 \pm 0,7\%$  до  $31,6 \pm 1,1\%$  через 36 месяцев ( $p = 0,01$ ); КДР и УО левого желудочка ( $p=0,009$  и  $p=0,03$ ). Показатели конечно-диастолического и конечно-систолического объемов также статистически значимо снижались от исходных  $242,7 \pm 9,0$  мл и  $179,1 \pm 7,7$  мл до  $210,5 \pm 10,8$  мл и  $145,6 \pm 8,7$  мл через 36 месяцев соответственно ( $p=0,02$  и  $p=0,002$ ). Степень МН на протяжении всего периода снизилась также у большинства больных: к 36 месяцам исследования у 12 больных с первой степенью, 7 со второй степенью, 4 с третьей степенью и у 1 с четвертой степенью.

Одним из основных клинических проявлений ХСН, связанным с ее тяжестью и прогнозом, является степень снижения физической работоспособности или толерантности к нагрузке [Полтавская, М. Г. 2003; Bautmans I., 2006]. В настоящее время для определения данного показателя применяются различные пробы с физической нагрузкой: велоэргометрия, тредмил-тест, тест с шестиминутной ходьбой [Полтавская, М. Г. 2003;

Терещенко, С. Н. 2004]. В клинической практике этот тест часто используют для объективизации функционального состояния и контроля лечения ХСН [Воронков Л.Г., 2004].

В первом исследовании настоящей работы, расстояние, пройденное больными во время 6-минутного теста ходьбы возросло с исходных  $255,2 \pm 17,4$  метров до процедуры до  $354,1 \pm 16,5$  ( $p=0,0005$ ) и  $357,8 \pm 17,9$  ( $p=0,0003$ ) и  $317,1 \pm 16,6$  ( $p=0,03$ ) метров соответственно.

Во втором исследовании расстояние, пройденное больными первой группы во время 6-ти минутного теста ходьбы статистически значимо возросло на всех контрольных этапах исследования с исходных  $215,7 \pm 11,0$  метров до процедуры до  $302,1 \pm 10,6$  ( $p=0,0000001$ ) и  $304,3 \pm 13,0$  ( $p=0,00001$ ) и  $281,1 \pm 14,6$  ( $p=0,006$ ) метров соответственно. В медикаментозной группе данный показатель имел слабую статистически не значимую положительную динамику и увеличился с исходных  $219,5 \pm 13,7$  метров до процедуры до  $230,2 \pm 12,8$  ( $p=0,9$ ) и  $249,5 \pm 14,5$  ( $p=0,2$ ) метров соответственно.

По данным [Meyer G.P., Wollert K.C., 2006] скорость восстановления сократительной функции ЛЖ была значительно выше через 18 мес., т.е. однократное введение суспензии стволовых клеток костного мозга не обеспечило длительного улучшения систолической функции ЛЖ после ИМ, что было продемонстрировано в других, менее продолжительных, исследованиях. Детальный анализ позволил данным авторам выявить, что увеличение глобальной сократительной функции у больных происходило в основном за счет повышения сократимости пограничных с областью рубца зон миокарда ЛЖ.

Среди многочисленных методов обследования больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями уникальное место занимает радионуклидное исследование перфузии миокарда левого желудочка сердца – сцинтиграфия миокарда (СГМ). СГМ – высокоинформативный метод исследования, который позволяет выявить нарушения перфузии миокарда на ранней стадии

заболевания, оценить тяжесть патологического процесса у больных, перенесших инфаркт миокарда (ИМ), и определить тактику ведения больного. Чувствительность и специфичность СГМ в оценке наличия участков ишемии миокарда составляют 80–90%, а постинфарктных рубцовых изменений – 100%. В отличие от коронарографии, которая обеспечивает информацию о распространенности и степени коронарного стеноза, СГМ отображает функциональное состояние перфузии миокарда в соответственной зоне коронарного поражения. [Беленков Ю.Н., 2002; Кундин В.Ю., 2009].

В обоих проведенных исследованиях у больных после введения МФККМ по прошествии 6 и 12-ти месяцев суммарный индекс перфузии в покое и в ходе нагрузки улучшился и оставался практически неизменным через 36 месяцев. Уменьшение количества зон ишемии после введения аутологичных мононуклеарных клеток, определяемое с помощью позитронноэмиссионной томографии, на общую площадь миокарда было также зарегистрировано у пациентов с ХСН в исследованиях S. Beeres [Beeres S., Bax J., 2006].

Электроанатомическое картирование левого желудочка показало улучшение перфузии миокарда в ранее нарушенных участках на всех этапах исследования во всех группах после эндокардиальной имплантации МФККМ. В частности, у больных с ФВ ЛЖ  $\leq 35\%$  на всех контрольных этапах общее число точек и их распределение (число точек в сегменте) незначительно отличалось от первоначального картирования. Общий униполярный вольтаж (UV) увеличился с исходных  $9,1 \pm 2,4$  мВ до  $14,2 \pm 3,2$  через 12 месяцев ( $p=0,03$ ), в основном, за счет увеличенного вольтажа в тех сегментах, в которые были имплантирована МФККМ ( $5,6 \pm 1,2$  мВ изначально и  $11,2 \pm 2,1$  мВ через 12 месяцев;  $p=0,006$ ) и в дальнейшем наблюдался незначительный рост данных показателей в течении 36 месяцев. В тех сегментах, в которые МФККМ не вводилась, униполярный вольтаж

оставался практически неизменным на протяжении 36 месяцев ( $14,3\pm3,2$  mV и  $15,6\pm2,8$  mV;  $p=0,2$ ). Подобные результаты получены в исследовании [Briguori C., 2006], в котором принимали участие 10 больных, страдающих ИБС (стенокардия III—IV ФК), длительность наблюдения составила 12 месяцев. Всем больным проводили электромеханическое картирование, после чего интрамиокардиально вводили аутологичные клетки костного мозга. При контрольном обследовании также отмечалось улучшение перфузии миокарда, однако остальные результаты не были столь оптимистичными, в частности ФК стенокардии улучшился лишь у 20% больных.

Качество жизни больного (КЖ) - один из новых критериев оценки эффективности лечения, получивших в последние годы широкое распространение в странах с высоким уровнем развития медицины [Недошивин А.О., 2010; Ware J.E., 1993, 1994].

Определение КЖ основано на понятии здоровья, предложенного Всемирной организации здравоохранения, "здоровье - это полное физическое, социальное и психологическое благополучие человека, а не просто отсутствие заболевания". В исследованиях, посвященных поиску оптимальной стратегии лечения, особенно хронических заболеваний, КЖ широко применяется как надежный индикатор при оценке результатов терапии. Даже в случаях, когда применяются радикальные методы лечения, и болезнь удается устраниТЬ, как, например, при многих хирургических операциях, важным итогом лечения является собственная оценка больным комфортности своего состояния, которая может изменяться в широком диапазоне в зависимости от побочных эффектов вмешательства. В этой связи КЖ приобретает значение одного из основных критериев успешного лечения. В исследованиях [Perin E., 2003; Beeres S., Bax J. 2006; Fuchs S., 2006] проведенных также у пациентов с ИБС после интрамиокардального введения мононуклеарных клеток со сроком наблюдения до 12 месяцев, также

отмечено улучшение качества жизни, определенное с помощью Сиатльского опросника по стенокардии.

В проведенном исследовании использован Минесотский опросник качества жизни SF – 36 [Ware J.E., 1993, 1994]. В первом исследовании у больных с ФВ ЛЖ более 36% после эндомиокардиальной имплантации МФККМ, на этапе 6, 12 и 36-ти месячного контроля наибольшие значения по полной функциональной связи (W) имели: PF (физическое функционирование), BP (интенсивность боли), RE (эмоциональное состояние).

В группе больных с ФВ ЛЖ  $\leq 35\%$ , которым была выполнена эндомиокардиальная имплантация МФККМ все изучаемые показатели имели статистически значимое улучшение по отношению к исходным, но наибольшие значения по полной функциональной связи (W) имели: PF (физическое функционирование), RE (эмоциональное состояние), SF (социальное функционирование). Статистически значимая величина коэффициента конкордации свидетельствует о высокой степени согласованности изменений показателей качества жизни, измеренных в контрольные моменты времени (исходно, через 6 месяцев, через 12 месяцев, через 36 месяцев) у больных в группе с ФВ ЛЖ  $\leq 35\%$  после эндомиокардиальной имплантации МФККМ.

В медикаментозной группе больных ИБС с ФВ ЛЖ  $\leq 35\%$  за весь период наблюдения различия статистически значимые изменения были только по показателям PF (физическое функционирование), VT (жизненная активность). По остальным показателям статистически значимых улучшений через 12 и 36 месяцев контрольных наблюдений не отмечалось. Расстояние, пройденное пациентами при проведении 6-минутного теста ходьбы на протяжении всего периода наблюдения не имело статистически значимых изменений.

Ишемическая болезнь сердца является ведущей причиной и одним из главных факторов развития ХСН. Распространенность ХСН не только не

снижается, но неуклонно возрастает. Несмотря на очевидные достижения современной медицины, она продолжает оставаться одной из основных проблем среди заболеваний сердечно-сосудистой системы, приводящей к летальному исходу [Бокерия Л.А. и соавт, 2004; Агеев Ф.Т., с соавт, 2006; Фомин И.В., 2010; Tarakji K.G., et al., 2006; Opie L.H., et al. 2006].

В проведенном первом исследовании общая летальность на этапе 36-месячного контроля составила 14,5% (7 больных), из них от кардиальных причин умерло через 12 месяцев 4,1% (2 больных), через 36 месяцев 8,3% (4 больных). 6,2% (3 больных) погибли от вненесердечных причин (несчастный случай, ЖКК и ОНМК).

Во втором исследовании общая летальность за 36 месяцев наблюдения у пациентов I группы составила 23 больных (41,8%). За время 6-ти месячного наблюдения от СН погибло 5,4% (3 больных), еще 1 (1,8%) больной умер от вненесердечных причин. После 12-ти месяцев летальность от вышеуказанных причин составила соответственно 14,5% (8 больных) и 3(5,4%), еще одному больному выполнена операция ортопедической трансплантации сердца (1,8%) и, наконец, через 36 месяцев от СН умерло 32,7% (19) и 4 (7,2%) больных погибло от вненесердечных причин (2 несчастных случая, 1 случай онкологии и ОНМК). Во II группе за время 12-ти и 36-ти месячного наблюдения смертность от СН составила 15,2% (8 больных) и 36,5% (19 больных) соответственно.

При проверке гипотезы о статистической значимости отличий среди пациентов с ФВ ЛЖ  $\geq 36\%$  (I группа) в значениях исходных показателей с летальным исходом («умерших») и «выживших» по результатам 36 месячных наблюдений с применением критерия Манна-Уитни статистически значимо при уровне значимости 0,05 отличались показатели ФВ ЛЖ, КДО ЛЖ, КСО ЛЖ, КДР ЛЖ, р в ЛА. Показатели ФК стенокардии, ХСН, МР не изменились статистически значимо при уровне 0,05, при использовании критерия хи-

квадрат Пирсона. Аналогичные результаты получены в результате применения критерия Манна-Уитни.

В результате проведения многофакторного регрессионного анализа Кокса, основным независимым предиктором летальности являлся только КДР ЛЖ (ОР 4,4 (1,77-10,9),  $p=0,0014$ ).

По данным выстроенной таблицы времен жизни больные после эндоцикардиальной имплантации МФККМ в сочетании с современной медикаментозной терапией (I группа) с вероятностью равной 1 проживают на 104 дня больше, чем больные с изолированной медикаментозной терапией (II группа) (1269 против 1165 дней), сохраняя эту положительную тенденцию в разнице до конца исследования разница между первой и второй группой составляет 9 дней (соответственно 119 и 110 дней) при вероятности доли выживших соответственно равной 0,5 и 0,6. Функция мгновенного риска для пациентов первой группы также указывает на низкую вероятность смерти в первые дни после операции (0,0001), который затем имеет разнонаправленную тенденцию с последующим его максимальным повышением к 1200 дню до уровня вероятности смерти 0,0018. Во второй группе риск наступления летального исхода находится на одинаковом уровне до 1000 дня (в границах 0,0004-0,0007), который затем резко повышается к 1107 дню и превышает аналогичный показатель первой группы практически в 2 раза (0,0035).

На более благоприятное течение заболевания у больных, в лечении которых использовалась эндоцикардиальная имплантация МФККМ в сочетании с современным медикаментозной терапией, в сравнении с медикаментозной группой указывает и полученная графическая кумулятивная оценка функция выживаемости (Каплан – Майер). Она расположена выше функции выживаемости, построенной по группе с медикаментозным лечением фактически на всем периоде наблюдения. Кроме этого результаты графического теста Survival probability позволяют заключить о том, что у больных с эндоцикардиальной имплантацией

МФККМ статистически значимо улучшается прогноз продолжительности жизни на протяжении двух лет после ее выполнения в сравнении с медикаментозной группой.

Исторически стволовые клетки костного мозга традиционно считались предшественниками лишь клеток гемопоэтического ряда, однако результаты исследований последних лет заставляют пересмотреть существовавшее положение. Так появились работы, сообщающие о возможности стволовых клеток дифференцироваться в функциональные клеточные структуры различных тканей, включая гепатоциты [Lagasse E. et al., 2000], эпителиальные клетки пищевода, тонкого и толстого кишечника, бронхов и желчных протоков (Krause DS., 2006), скелетных мышц, нейронов и астроцитов (Ferrari G, 1998).

Помимо способности стволовых клеток дифференцироваться в различные типы клеток, включая клетки сердца, они также способны стимулировать ангиогенез. [Schultz A., et al., 1999; van Royen N, et al., 2004; Panchal V., et al 2004]. Эти два основных свойства и объясняют их клиническое применение в кардиологии. На сегодняшний день, более детально изучены клеточные молекулярные механизмы, посредством которых эндотелиальные и гладкомышечные клетки взаимодействуют между собой. [Грищенко В. И., 2005; Попов С.В., 2008]. Эндотелиальные клетки сами могут инициировать формирование и рост эндотелиального канала (ангиогенез) в ответ на какое-либо стимулирование. Пре- и эндотелиальные клетки необходимы для дальнейшего формирования сосудов. Присоединение гладкомышечных предшественников, обеспечивает сосудам эластичностью, вазомоторными свойствами и способностью реагировать на изменения перфузии тканей [Чернявский А.М., 2007; Ларионов П. М., 2009]. Эта, более поздняя стадия, называется артериогенезом и играет ведущую роль в формировании коллатералей. Эндотелиальные предшественники могут быть

выделены как из периферического кровотока, так и из костного мозга, как это было выполнено и в проведенном нами исследовании.

В многочисленных работах показана значительная индивидуальная вариабельность состояния естественных механизмов неоваскуляризации, вероятно, генетически детерминированных, что может влиять и на эффективность ангиогенной терапии [van Royen N, 2004; Schultz A, 1999; Panchal V, 2004]. Воскелогенез тесно ассоциирован с ангиогенезом и является обязательным участником формирования новых сосудистых отростков и неоваскуляризации, как физиологической (в ишемизированных тканях), так и патологической (в опухолях) [Smadja D.M, 2007; Dong C., 2007]. Активация ангиогенеза в ткани, пограничной с местом повреждения, была выявлена во всех исследованных моделях инфаркта миокарда и ишемического инсульта, которые были вызваны резким нарушением кровообращения [Freedman S.B, 2001,2002; Повещенко, О. В.,2012].

В данной работе был проведен морфологический анализ миокарда эксплантированного сердца больного через 24 месяца после эндомиокардиальной имплантации МФКМ, больному была выполнена ортоптическая пересадка сердца. После полученных результатов полного комплекса иммуногистохимических и гистологических методов исследования мы предположили, что интенсивный неоваскулогенез после имплантации костномозговых клеток в перирубцовую зону обусловлен не только непосредственным участием МФКМ, но и экспрессией этими клетками таких факторов ангиогенеза, как фактор роста эндотелия сосудов, ангиопоэтина и других. Вышеперечисленные процессы имеют максимальный клинико-морфологический эффект в первые 12 месяцев после эндомиокардиальной имплантации клеток, который затем несколько снижается с течением времени. На это же указывает полученное нами негативное окрашивание на CD34, который является клеточным поверхностным антигеном, экспрессирующимся как на гематopoэтических

прогениторных клетках, включая миелоидную и лимфоидную линии клеток-предшественников так и на сосудистом эндотелии, при чем пролиферирующие эндотелиальные клетки экспрессируют эти молекулы в большем количестве, чем непролиферирующие. Данный результат указывает на отсутствие какого-либо активного процесса деления эндотелиоцитов и соответственно активной реваскуляризации по истечении двух лет после эндомиокардиального введения МФКМ.

Подобные результаты были опубликованы H. Dohmann и соавт. (2005), которые проанализировали патологоанатомические, морфометрические и иммуноцитохимические параметры материала, полученного при вскрытии тела больного с рефрактерной ИБС и ХСН ишемического генеза, который скончался через 11 мес. после клеточной кардиомиопластики (эндокардиальное введение аутологичных мононуклеаров костного мозга) [Dohmann H.F., 2005]. В месте инъекции стволовых клеток признаков поражения миокарда не было выявлено. Плотность капилляров на 1 см<sup>3</sup> ткани была выше в переднебоковой области в отличие от задней стенки ЛЖ. Кроме того, в зоне введения стволовых клеток отмечалась гиперплазия интрамуральных клеток и адвенции. Таким образом, в зоне применения клеточной терапии также был продемонстрирован активный процесс ангиогенеза в течение 12 месяца после трансэндокардиального введения аутологичных мононуклеаров костного мозга.

Особое внимание в работе было уделено больным ИБС с низкой фракцией выброса ЛЖ, ранее перенесшим АКШ, которым выполнение повторного коронарного шунтирования невозможно [В.И. Бураковский, 1988; Чазов Е.И., 2003; D. Effler 1971], а также больным с диффузным поражением коронарных артерий и несостоятельным дистальным руслом, которым, несмотря, на достижения в области коронарной хирургии применение традиционных методов прямой реваскуляризации миокарда не эффективно [Кнышев Г.В. 1994, Salomon N. 1990, Verheul H. 1991; Hong H, 2002; Fukushima S., 2007]. Кроме этого изучались результаты группы больных, которым в течении всего

срока исследования проводилось только медикаментозное лечение, которое на сегодняшний день является единственным методом, применяемым у вышеперечисленной категории больных, направленным на уменьшение симптомов прогрессирования сердечной недостаточности, улучшения качества жизни и прогноза заболевания [Беленков Ю.Н., 2006].

Полученные результаты показали, что в группе с ФВ ЛЖ  $\leq 35$  (МФККМ) после эндомиокардиальной имплантации МФФКМ в сочетании с медикаментозной терапией статистически значимо улучшился показатель качества жизни RP (средний прирост значения показателя через 12 месяцев после операции составил 27,33), а в медикаментозной группе наоборот наблюдается ухудшение этого показателя (RP). Аналогичная ситуация наблюдается по показателям GH и МН. Показатели PF, BP, VT, SF, RE в абсолютном выражении увеличились в обеих исследуемых группах через 12 месяцев наблюдений. Однако, улучшение по показателям PF, BP, SF и RE в группе после эндомиокардиальной имплантации МФККМ значительно больше, чем в группе медикаментозной. По этим показателям наблюдается статистически значимая разность приростов по группам при уровне значимости 0,05.

Через 36 месяцев наблюдений по сравнению с исходным состоянием улучшаются показатели качества жизни по обеим группам (за исключением VT). В группе после эндомиокардиальной имплантации МФККМ в абсолютном выражении улучшение значений показателей больше, однако статистическая значимость отличий при уровне 0,05 не наблюдается (не достигнута) за исключением показателя SF.

Статистически значимых отличий между исходными значениями клинико-функциональных показателей в обеих группах не выявлено. Через 12 месяцев наблюдений статистически значимо отличаются в исследуемых группах показатели ХСН и 6-минутный тест. В медикаментозной группе среднее значение ХСН (2,97) выше, чем в группе (2,42) после имплантации МФККМ.

По показателю 6-минутный тест: среднее значение в медикаментозной группе ниже (230,2), чем в стволовой (304,3). Через 36 месяцев исследования статистически значимые отличия при уровне значимости 0,05 наблюдаются только по показателю ХСН.

По критерию хи-квадрат сравнения показателей в группе с ФВ ЛЖ  $\leq 35\%$ : исходно показатели ФК стенокардии и ХСН не отличаются статистически значимо. Через 12 и 36 месяцев наблюдений статистически значимо отличается только показатель ХСН. Аналогичные выводы были получены в результате применения критерия Манна-Уитни.

Практические потребности кардиохирургии, кардиологии направляют исследователей на поиски создания новых оптимальных комбинаций лечения больных с ХСН, не имеющих возможности для первичной или повторной прямой реваскуляризации, которые позволяют увеличить отдаленную выживаемость, улучшить качество жизни и увеличить ее продолжительность [Акчурин Р.С., 2004; Гуреев С.В., 2004; Фомин И.В., 2010; Кочегура Т.Н., 2010].

Решение такой задачи невозможно без изучения общей характеристики клинико-функциональных, морфологических процессов, происходящих при хронической ишемической болезни сердца. Учитывая полученные в ходе проведенного исследования данные, можно сделать следующее заключение о том, что эндомиокардиальная имплантация МФКМ пациентам ИБС с выраженной дисфункцией ЛЖ является безопасным методом и улучшает клинические данные и прогноз. Введение МФКМ в ишемизированные сегменты улучшает перфузию без индукции дополнительных рубцовых зон. К сожалению, в настоящее время не существует другой альтернативы для адекватной терапии больных с проявлениями сердечной недостаточности которая бы имела минимальное число негативных эффектов и, в тоже время, давала бы больным реальный шанс на положительный эффект терапии. Использование клеточных технологий позволяет у большинства тяжелой

категории больных ИБС уменьшить выраженность явлений ХСН, стабилизировать состояние, уменьшить частоту повторных госпитализаций, а в ряде случаев дождаться операции трансплантации сердца.

Полученные в настоящей работе данные принципиально новы. При этом на основе многолетнего клинико-функционального анализа прослежена динамика различных, жизненно важных клинических, функциональных и гемодинамических показателей у больных с ХИБС после эндомиокардиальной имплантации МФКМ. При подходе к лечению пациентов с ХИБС важно учитывать всю совокупность структурных процессов, вызванных нарушениями гемодинамики и использовать весь высокотехнологичный потенциал, имеющийся в настоящее время в арсенале кардиохирургических клиник, включая более широкое использование клеточной терапии.

## ВЫВОДЫ

1. Эндомиокардиальная имплантация МФККМ в сочетании с современной медикаментозной терапией является клинически безопасным методом лечения больных с хронической ишемической болезнью сердца.
2. Установлено достоверное улучшение функционального класса стенокардии после имплантации МФККМ у больных с выраженной ишемической дисфункцией миокарда: через 12 месяцев у 26 (50,9%) ( $p=0,00003$ ), через 36 месяцев у 20 (46,5%) пациентов ( $p= 0,003$ ), а также повышение функционального класса ХСН (NYHA) через 12 месяцев у 23(29,2%) ( $p=0,001$ ) и через 36 месяцев у 27(21,8%) пациентов ( $p= 0,005$ ).
3. Расстояние, пройденное больными с ФВ ЛЖ  $\leq 35\%$  (МФККМ) во время прохождения 6-ти минутного теста ходьбы статистически значимо возросло на всех контрольных этапах исследования с исходных  $215,7 \pm 11,0$  метров до процедуры до  $302,1 \pm 10,6$  ( $p=0,0000001$ ) и  $304,3 \pm 13,0$  ( $p=0,00001$ ) и  $281,1 \pm 14,6$  ( $p=0,006$ ) метров, через 6,12 и 36 месяцев соответственно.
4. Установлена положительная динамика ЭХОКГ показателей после эндомиокардиальной имплантации МФККМ в группе пациентов с ФВ ЛЖ  $\leq 35\%$ : отмечен прирост ФВ ЛЖ по сравнению с исходными данными ( $25,4 \pm 0,7\%$  и  $31,6 \pm 1,1\%$ ) через 36 месяцев; КДО и КСО также значимо снижались на этом этапе в сравнении с исходными значениями ( $242,7 \pm 9,0$  мл и  $179,1 \pm 7,7$  мл до  $210,5 \pm 10,8$  мл и  $145,6 \pm 8,7$  мл) соответственно ( $p<0,05$ ).
5. По данным двухэтапной сцинтиграфии через 6 и 12 месяцев после эндомиокардиальной имплантации МФККМ установлено достоверное уменьшение глубины и площади дефектов перфузии миокарда с улучшением показателей суммарного индекса перфузии в

покое и при нагрузке, с дальнейшей их стабилизацией на этапе 36-ти месячного контроля во всех исследованиях.

6. Эндомиокардиальная имплантация МФККМ по результатам электроанатомического картирования левого желудочка, отражающего перфузию миокарда, показала улучшение общего униполярного вольтажа (UV) через 12 месяцев в группе с ФВ ЛЖ  $\leq 35\%$  (МФККМ) с исходных  $9,1 \pm 2,4$  mV до  $14,2 \pm 3,2$  ( $p=0,03$ ) с дальнейшим незначительным ростом данных показателей в течении 24 и 36 месяцев.

7. Эндомиокардиальная имплантация МФККМ улучшает основные показатели качества жизни: физического функционирования (PF), интенсивности боли (BP), повседневной деятельности (RE) и социального функционирования (SF), вне зависимости от исходной степени выраженности ишемической дисфункции. Статистически значимая величина коэффициента конкордации свидетельствует о высокой степени согласованности изменений показателей качества жизни, измеренных в контрольные моменты времени (исходно, через 6 месяцев, через 12 и 36 месяцев).

8. Эндомиокардиальная имплантация МФККМ оказывает влияние на снижение летальности от сердечной недостаточности у пациентов ХИБС в группе с ФВ ЛЖ  $\leq 35\%$ . После её выполнения на протяжении двух лет значительно улучшается прогноз продолжительности жизни больных с последующим снижением статистической значимости отличий. В медикаментозной группе функция мгновенного риска резко повышается к 1107 дню и превышает аналогичный показатель первой группы в 2 раза (0,0035 против 0,0018).

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Эндомиокардиальная имплантация мононуклеарной фракции аутологичных клеток костного мозга в лечении пациентов с ишемической дисфункцией сердца может быть использована в качестве компонента комплексной терапии больных ИБС, независимо от исходной функции левого желудочка.
2. Показаниями к выполнению клеточной терапии являются: давность инфаркта миокарда более 12 месяцев; выраженные клинические симптомы сердечной недостаточности; резистентность к максимальной медикаментозной терапии и отсутствие выбора для стандартной реваскуляризации.
3. Противопоказаниями к выполнению клеточной терапии являются: возможность для чрезкожного коронарного вмешательства, стентирования коронарной артерии, хирургического ремоделирования левого желудочка или кардиальной ресинхронизирующей терапии; геморрагические симптомы; выраженные почечная и печеночная недостаточность; тромб в полости левого желудочка по данным ЭХОКГ; изменение аортального клапана с его стенозированием; протезирование аортального клапана, фибрилляция предсердий; наличие онкозаболеваний.
4. С учетом динамики достижения максимального клинико-функционального эффекта пациентам с выраженной дисфункцией миокарда после двух лет имплантации МФКМ возможно рассмотрение вопроса о выполнении повторного курса клеточной терапии.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агеев Ф.Т., Беленков Ю.В., Фомин И.В. // Сердечная недостаточность. 2006. № 7. С. 112–115.
2. Акчурин Р.С., Ширяев А.А., Актуальные проблемы коронарной хирургии// М. «Геотар-Медиа» -2004.
3. Багрий А.Э., Дядык А.И., Воробьев А.С. Хроническая сердечная недостаточность в современной клинической практике. Львов, 2009.
4. Байкова Ю.П., с соавт. Репарация миокарда при трансплантации мононуклеарных клеток костного мозга // Клеточные технологии в биологии и медицине – 2010. – № 4. – С. 203–210
5. Беленков Ю.Н., Сайдова М.А. Оценка жизнеспособности миокарда: клинические аспекты, методы исследования //Кардиология- 1999-№1- С.6-13.
6. Беленков Ю.Н., Мареев В.Ю. Принципы рационального лечения сердечной недостаточности //М. «Геотар-Медиа». -2000.
7. Беленков Ю.Н. // Сердечная недостаточность. 2004. № 5 (2). С. 77–85.
8. Беленков Ю.Н., Мареев В.Ю., Агеев Ф.Т. Хроническая сердечная недостаточность//М. «Геотар-Медиа». -2006.
9. Беленков Ю. Н. Дисфункция левого желудочка у больных с ишемической болезнью сердца: современные методы диагностики, медикаментозной и немедикаментозной коррекции /Беленков Ю. Н. //Рус. мед. журн. -2000. - Т. 3. - № 17.- С. 685–693.
10. Беленков Ю.Н. Ремоделирование левого желудочка: комплексный подход /Беленков Ю. Н. //Сердечная недостаточность. - 2002. - Т. 3. - № 4. - С. 161–169.
11. Беленков Ю. Н., Агеев Ф. Т., Мареев В. Ю., Савченко В. Г. Мобилизация стволовых клеток костного мозга в лечении больных с сердечной недостаточностью // Кардиология. — 2003. — № 3. — С. 7–12.

12. Беленков Ю. Н., с соавт. Истинная распространенность ХСН в европейской части российской федерации (исследование эпоха, госпитальный этап// Журнал сердечная недостаточность. – 2011. – Т. 12. – № 2. – С. 63–68.
13. Белов Ю.В., Вараксин В.А. Акинетические и дискинетические постинфарктные аневризмы левого желудочка: особенности клинического течения и результаты операций// Грудная и сердечно-сосудистая хирургия. -2002.-№ 5. - С.23-28.
14. Белевитин А.Б., с соавт., Клеточная терапия патологии миокарда // Вестник российской военно-медицинской академии. – 2010. – Т. 2. – № 10. – С. 194–200.
15. Березикова Е.Н., Пустоветова М.Г., Шилов С.Н. //Патология кровообращения и кардиохирургия. 2013. № 4. С. 45–51.
16. Бокерия Л.А. Минимально инвазивная хирургия сердца// М.: Медицина - 1998. –С. 92.
17. Бокерия Л. А., Ступаков И. Н., Гудкова Р. Г., Самородская И. В. Сердечно-сосудистая хирургия в России: методы оценки результатов и перспектив развития // Грудная и серд.-сосуд, хир. -2002. -№3. -С. 4-11.
18. Бокерия Л.А., Беришвили И.И., Сигаев И.Ю. Современные тенденции и перспективы развития коронарной хирургии. Журнал Анналы хирургии. 2004; 4: 31-45.
19. Бокерия Л.А., Ло П.К., Беришвили И.И., с соавт. Первый клинический опыт применения аллогенных скелетных миобластов для лечения пациентов с ишемической кардиомиопатией//Бюллетень НЦССХ им. А.В. Бакулева РАМН, том 5, № 4. -2004. С. 142-151.
20. Бокерия Л.А., с соавт., Первый опыт применения стволовых клеток костного мозга для регенерационной терапии ишемической болезни сердца // Кардиология. – 2004. – Т. 44. – № 9. – С. 16–22.
21. Бокерия Л.А. и др. // Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН 2005. Т. 6, № 2. С. 36–41.

22. Бокерия Л.А., Гудкова Р.Г. Сердечно-сосудистая хирургия–2011. Болезни и врожденные аномалии системы кровообращения. М., 2012.
23. Бондарь В.Ю. Направленный ангиоваскулогенез при хирургическом лечении ИБС (клинико-экспериментальное исследование) //Автореф. диссертации к.м.н. Новосибирск. 2011 . С. 41
24. Боярских У.А. Сравнительный анализ ангио- и васкулогенного потенциала CD34+ клеток и нефракционированных мононуклеарных клеток костного мозга при различных вариантах интрамиокардиальной имплантации (экспериментальное исследование) // Автореф. дис. канд-та мед. наук. - Новосибирск. - 2006. - 19 с.
25. Бураковский В. И. Первые шаги. Записки кардиохирурга//М.: Медицина - 1988. –С. 34.
26. Буховец И.Л., с соавт. Клеточная кардиомиопластика в хирургическом лечении больных с ишемической болезнью сердца и постинфарктным кардиосклерозом: результат 3- летнего наблюдения //Сибирский медицинский журнал. – 2011. – Т. 26. – № 4. – С. 51–58.
27. Волковская И.В. Возможности клеточных технологий при лечении сердечной недостаточности// Автореф. дис. канд-та мед. наук. - Москва. - 2006. - 17 с.
28. Воронков Л.Г. Хронічна серцева недостатність: Практичний посібник. — К.: Четверта хвиля, 2004. — 198 с.
29. Грищенко М.Ю., Волкова Э.Г., Левашов С.Ю. Динамика факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний по данным мониторинга 2002–2007 гг. // Последипломное образование и наука. - 2009. - № 1. - С. 21–27.
30. Грищенко В. И., Прокопюк О. С., Юрченко Т. П. Клеточная терапия: фундаментальные и клинические аспекты // Тез. докл. III Всерос. съезда трансплантол. искусств. орг., 28–30 октября 2005, Москва. — С. 41–42.

31. Герасимов Ю.В., Фриденштейн А.Я., Чайлахян Р.К.. Дифференцировочные потенции клональных штаммов костномозговых фибробластов. // Бюлл. эксперим. биол. и мед. - 1986. - №6. - с. 717-719.
32. Гуреев С.В. Аортокоронарное шунтирование и трансплантация аутологичных стволовых клеток костного мозга в лечении ишемической сердечной недостаточности. // Автореф. дисс...д-ра мед. наук. - Москва. 2004.
33. Головнева Е.С., Попов Г.К. Экспрессия фактора роста сосудистого эндотелия при формировании новой сосудистой сети под воздействием высокоинтенсивного лазерного излучения. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2003. - том 136. - С. 624-626.
34. Залесский В. Н., Гавриленко Т. Н. Апоптоз при ишемии и репродукции миокарда // Врач. дело. — 2002. — № 1. — С. 8–15.
35. Капелько В.И. Значение оценки диастолы желудочков в диагностике заболеваний сердца // Кардиология – 1997. - № 6.- С. 10-13.
36. Караськов А.М., П.М. Ларионов, А.М. Чернявский и соавт./ Морфофункциональная и молекулярно-генетическая оценка экспериментальных результатов вариантов непрямой реваскуляризации с использованием различных клеток костномозгового происхождения //Патология кровообращения и кардиохирургия - 2007.- № 4.- С.75-81
37. Кардиология: национальное руководство/Под ред. Ю.Н. Беленкова, Р.Г. Оганова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 1232 с.
38. Кундин В.Ю. Миокардиосцинтиграфия в кардиологической практике// Мистецтво лікування. – 2009. – № 1 (57). – С. 76-80.
39. Коноплянников М.А., Кальсин В.А., Аверьянов А.В. Стволовые клетки для терапии ишемической болезни сердца: достижения и перспективы//Клиническая практика- 2012. -№ 3.- С.63-73

40. Коркин Ю.Г. Использование аутологичных мононуклеарных клеток костного мозга в лечении больных с ИБС и постинфарктным кардиосклерозом в условиях аортокоронарного шунтирования //Диссертация канд-та мед. Наук. - Томск. - 2008. - с. 144.
41. Корочкин Л. Н. Стволовые клетки // Онтогенез. — 2003. — Т. 34, № 3. — С. 164–166.
42. Кругляков П. В., Соколова И. Б., Полынцев Д. Г. Клеточная терапия инфаркта миокарда // Цитология. — 2008. — Т. 50, № 6. — С. 521–527.
43. Ларионов П. М., Чернявский А. М., Кузнецова И. В. и др. Регенерация кардиомиоцитов перирубцовой зоны миокарда при лазерном тоннелировании и имплантации мононуклеарных клеток костного мозга // Клет. технол. биол. мед. — 2009. — № 4. — С. 201–205.
44. Ларионов П.М., А.М. Чернявский, У.А. Боярских и др. Различные варианты непрямой реваскуляризации миокарда с использованием аутологичных стволовых клеток// Медицинская консультация. – 2004- Том 45- № 4. - С.2-6.
45. Лурия Е.А., Чахава О.В., Фридленштейн А.Я. Происхождение фибробластоподобных клеток в культуре костного мозга. // Цитология - 1996. – №1. – с. 115-119.
46. Малая Л. Т., Власенко М. А., Микляев И. Ю. Инфаркт миокарда. — М.: Медицина, 1981. — 488 с.
47. Недошивин А.О., Кутузова А.Э., Петрова Н.Н., с соавт. Исследование качества жизни и психологического статуса больных с хронической сердечной недостаточностью// Сердечная недостаточность: Том 1/N 4/2000
48. Омаров А.А./Автореф. дис. канд-та мед. наук. - Новосибирск. - 2006. - с. 22.
49. Потапов И.В., Башкина Л.В., Зайденов В.А., и др. Влияние пересадки эмбриональных кардиомиоцитов и мезенхимальных клеток костного мозга на сократительную функцию сердца при экспериментальном

- инфаркте миокарда // Вестник трансплантологии и искусственных органов. - 2002 - 3 - С.88-89.
50. Повещенко О. В. и др. Физиологические и цитологические основы клеточной регуляции ангиогенеза // Успехи физиологических наук. – 2012. – № 3. – С. 48–61.
51. Попов С. В., Рябов В. В., Суслова Т. Е. и др. Фундаментальные и прикладные аспекты клеточных технологий в кардиологии и хирургии // Бюл. СО РАМН. — 2008. — № 4. — С. 5–15.
52. Полтавская, М. Г. Пробы с физической нагрузкой у больных с хронической сердечной недостаточностью / М. Г. Полтавская // Сердце. 2003. Т. 2. № 2. С. 81 - 83.
53. Плотников Д.Б., Зоров Г.Т., Сухих Г.Т. с соавт. Стволовые клетки в репаративной терапии сердечных заболеваний: роль межклеточных взаимодействий// Клеточная трансплантология и генная инженерия. 2009.-Т. 4.-№1. С. 43-49.
54. Репин В.С., Ржанинова А.А. Эмбриональные стволовые клетки: фундаментальная биология и медицина// М.: РeМeTЭкс - 2002. –С. 24-
55. Смоляников А.Б., Горелов А.И. Кардиология будущего и клеточная терапия. СПб. 2006.
56. Стрельников А.Г., Романов А.Б., Артеменко С.Н., Лосик Д.В., Гражданкин И.О., Камиев Р.Т., Туров А.Н., Покушалов Е.А. Коррекция последствий инфаркта миокарда при помощи интрамиокардиальных инъекций аутологичных стволовых клеток-предшественниц костного мозга// Патология кровообращения и кардиохирургия 4. 2013. С.34-39
57. Тепляков А.Т., Куликова Н.В. Реабилитация больных хронической сердечной недостаточностью. Томск: STT, 2010. - 284 с.
58. Терещенко, С. Н. Хроническая сердечная недостаточность. Вопросы диагностики и лечения / С. Н. Терещенко, Н. А. Джаниани. М.: РКИ Соверо пресс, 2004. 48 с.

59. Флоря В.Г. Роль ремоделирования левого желудочка в патогенезе хронической недостаточности кровообращения - Ж. // Кардиология. 1997. - № 5
60. Фомин И.В. // Хроническая сердечная недостаточность /Агеев Ф.Т., Арутюнов Г.П., Беленков Ю.Н. и др. М., 2010. С.7-77.
61. Фомичев А.В. Клинико-функциональная оценка метода трансмиокардиальной лазерной реваскуляризации в сочетании с имплантацией стволовых клеток в хирургии ишемической болезни сердца. // Автореф. дисс. канд.мед. наук... Новосибирск 2008. – С. 19.
62. Фридenstein А.Я., Чайлахян Р.К., Латыкина К.С. О фибробластоподобных клетках в культурах кроветворной ткани морских свинок // Цитология, 1970. – №9. – с. 1147-1155.
63. Чазов Е.И. Кардиология начала XXI века. Некоторые проблемы врачевания //Кардиоваскулярная терапия и профилактика-2003. -№3.- 4-8.
64. Чернявский А.М., П.М. Ларионов, А.В. Фомичев, Д.В. Субботин, Д.С. Сергеевичев, Чернявский М.А. Морфо-функциональная оценка различных методов непрямой реваскуляризации миокарда в эксперименте// Вестник трансплантологии и искусственных органов. - 2007.- № 6.- С. 30-36.
65. Шевченко Ю.Л. Экспериментальное обоснование возможности имплантации эмбриональных кардиомиоцитов в комплексной терапии миокардиальной слабости. // Физиология человека, 1999. – №4. – С. 109-17.
66. Шумаков В.И., Казаков Э.Н., Онищенко Н.А. Первый опыт клинического применения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга для восстановления сократительной функции миокарда //Российский кардиологический журнал- 2003- №5. С 8-11.
67. Шумаков В.И., Онищенко Н.А., Крашенинников М.Е. и др. Костный мозг как источник получения мезенхимальных клеток для

- восстановительной терапии поврежденных органов //Вестник трансплантологии и искусственных органов - 2002 - № 4, С.3-6.
68. Яновский Г.В. и др. Диастолическое наполнение ЛЖ в зависимости от его гипертрофии у больных с ИБС //Кардиология – 1991 - № 6
  69. Abdel-Latif A, Bolli R, Tleyjeh IM, Montori VM, Perin EC, Hornung CA, et al. Adult bone marrow derived cells for cardiac repair: A systematic review and meta-analysis. Arch Intern Med 2007; 167: 989 - 997.
  70. Abraham MR, Henrikson CA, Tung L. Antiarrhythmic engineering of skeletal myoblasts for cardiac transplantation. // Circ Res. - 2005. - Vol. - 97(2). - P. 159-167.
  71. ACC/AHA 2005 Guideline update for the diagnosis and management of chronic heart failure in the adult: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association. <http://www.acc.org/qualityand-science/clinical/guidelines/failure/update/index.pdf>.
  72. Agbulut O, Vandervelde S, Al Attar N. Comparison of human skeletal myoblasts and bone marrow-derived CD133+ progenitors for the repair of infarcted myocardium// J Am Coll Cardiol - 2004. - Vol. 44(2) - P. 458-463.
  73. Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. Blood 2005. Feb 15;;105 (4):1815-1822
  74. Amado LC, Schuleri KH, Salariaris AP, et al. Multimodality noninvasive imaging demonstrates in vivo cardiac regeneration after mesenchymal stem cell therapy. J Am Coll Cardiol. 2006. Nov 21;;48(10):2116-2124
  75. Asahara N., Masuda H., Takahashi T. et al. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization // Circ. Res. –1999. –Vol. 85. –P. 221-228.
  76. Ashton BA, Allen TD, Howlett CR et al. Formation of bone and cartilage by marrow stromal cells in diffusion chambers in vivo. // Clin Orthop. – 1980. – Vol. 151. – P. 294–307.

77. Assmus B, Honold J, Lehmann R. et al. Transcoronary transplantation of progenitor cells and recovery of left ventricular function in patients with chronic ischemic heart disease: results of a randomized, controlled trial. // Circulation. - 2004. - Vol. 110 (suppl III) - P. 238.
78. Assmus B, Honold J, Schachinger V. Transcoronary transplantation of progenitor cells after myocardial infarction. // N. Engl. J. Mod. - 2006. - Vol. 355. - P. 1222-1232.
79. Assmus B, Schachinger V, Teupe C. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI). // Circulation. - 2002. - Vol. 106(24). - P. 3009-3017.
80. Assmus B, Walter DH, Seeger FH, Leistner DM, Lutz A, Khaled W, et al. Cardiac extracorporeal shock wave application to enhance the efficiency of intracoronary cell therapy in chronic heart failure - Final results of the randomized, double-blind, placebo-controlled CELLWAVE trial. Circulation. 2012; Vol. 126 (21 Suppl 1): Abstract 13050. American Heart Association 2012 Scientific Sessions and Resuscitation Science Symposium, 3 – 6 November 2012, Los Angeles, CA.
81. Alderman E.L., Bourassa M.G., Cohen L.S. et al. Ten year follow up of survival and myocardial infarction in the randomized Coronary Artery Surgery Study // Circulation. 1990. Vol. 82. P. 1629–1646.
82. Bautmans I., Lambert M., Mets T. The sixminute walktest in community dwelling elderly: influence of health status //http://creativecommons.org/licenses/by/2.0.
83. Barile L, Messina E, Giacomello A, Marbán E. Endogenous cardiac stem cells. Prog Cardiovasc Dis. 2007;50 (1):31-48
84. Bartunek J, Vanderheyden M, Vanderkerckhove B et al. Intracoronary injection of CD133-positive enriched bone marrow progenitor cells promotes cardiac recovery after recent myocardial infarction. Circulation 2005; 112 (suppl. I): I-178–I-183.

85. Bartunek J, Behfar A, Dolatabadi D, Ostojic M, Dens J, Vanderheyden M., et al. Cardiopoietic stem cell therapy in heart failure: The multicenter randomized c-cure trial. *Circulation.* 2012; Vol. 126 (Suppl 1): Abstract 18117. American Heart Association 2012 Scientific Sessions and Resuscitation Science Symposium, 3 - 6 November 2012, Los Angeles, CA.
86. Bartunek J, Dolatabadi D, Vanderheyden M, Dens J, Ostojic M, Behfar A, et al. Cardiopoietic mesenchymal stem cells for treatment of ischemic cardiomyopathy: First in man phase II multicentre clinical trial. *European Heart Journal.* 2011; Vol. 32:815.
87. Bartunek J, Wijns W, Dolatabadi D, Vanderheyden M, Dens J, Ostojic M, et al. C-cure multicenter trial: Lineage specified bone marrow derived cardiopoietic mesenchymal stem cells for treatment of ischemic cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology.* 2011; Vol. 57 (14 Suppl 1): E200.
88. Barbash I.M., Chouragui P., Baron J. et al. Systemic delivery bone marrow-derived mesenchymal stern cells to infarcted myocardium // *Circulation.* - 2005.-Vol.112., suppl.I. P 178-179
89. Bearzi C, Rota M, Hosoda T, et al. Human cardiac stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007. Aug 28;;104(35):14068-14073
90. Beeres S., Bax J., Dibbets P., et al. Effect of Intramyocardial Injection of Autologous Bone Marrow-Derived Mononuclear Cells on Perfusion, Function, and Viability in Patients with Drug-Refractory Chronic Ischemia. *J. Nucl. Med.* 2006; 47: 574–580.
91. Beeres S.L., Bax J.J., Schneider P. et al. // *Am. J. Cardiol.* 2007. V.3. P. 1094–1098.
92. Beltrami A. P., Urbanek K., Kajstura J. et al. Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction // *New Engl. J. Med.* — 2001. — V. 344, N 23. — P. 1750–1757.
93. Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D, et al. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell* 2003;114(6):763-776

94. Bergmann O, Bhardwaj RD, Bernard S, et al. Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. *Science* 2009;324 (5923):98-102.
95. Braunwald E. Shattuck Lecture cardiovascular medicine at the turn of the millennium: triumphs, concerns; and opportunities // *N Engl J Med*; - 1997. -Vol. 337.-P. 1360-1369:
96. Braunwald E, Bristow MR. Congestive heart failure: Fifty years of progress. *Circulation* 2000; 102: IV-14—IV-23.).
97. 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.-Vol.108.-P. 1-7
98. Brockes J. P., Kumar A., Velloso C. P. Regeneration as an evolutionary variable // *J. Anat.* — 2001. — V. 199. — P. 3–11.
99. Carmeliet P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nat Med* 2000; 6. (4): 389–95.
100. Chen SL, Fang WW, Ye F. Effect on left ventricular function of intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cell in patients with acute myocardial infarction. // *Am J Cardiol*. - 2004. - Vol. 94(1). - P. 92-95.
101. Deb A., Wang S., Skelding K.A., Miller D., et al. Bone marrow-derived cardiomyocytes are present in adult human heart// *Circulation*.-2003.- Vol.107.-P.1247-1249
102. Dib N, Dinsmore J, Lababidi Z, et al. One-year follow-up of feasibility and safety of the first U.S., randomized, controlled study using 3-dimensional guided catheter-based delivery of autologous skeletal myoblasts for ischemic cardiomyopathy (CAuSMIC study). *JACC Cardiovasc Interv*. 2009; 2 (1): 9-16.
103. Diwan A., Dorn G.W. 2nd. Decompensation of cardiac hypertrophy: Cellular mechanisms and novel therapeutic targets. *Physiology (Bethesda)* 2007; 22: 56-64.

104. Diwan A., Krenz M, Syed FM, Wansapura J, Ren X, Koesters AG, et al. Inhibition of ischemic cardiomyocyt apoptosis through targeted ablation of bnip3 restrains postinfarction remodeling in mice. *J Clin Invest* 2007; 117: 2825 – 2833.
105. Dong C, Goldschmidt-Clermont PJ. Endothelial progenitor cells: a promising therapeutic alternative for cardiovascular disease. *J Interv Cardiol* 2007; 20 (2): 93–95.
106. Dohmann H., Silva S., Souza A., et al. Bonemarrow mononuclear cell therapy of severe ischemic heart failure. *C. R. Biologies* 2007; 330: 543–549.
107. Dzemali O., Risteski P., Bakhtiar F. Surgical left ventricular remodeling leads to better long-term survival and exercise tolerance than coronary artery bypass grafting alone in patients with moderate ischemic cardiomyopathy // *J. Torac. Cardiovasc. Surg.*-2009.-Vol.138.-P.663-668.
108. Effler D.B. Myocardial revascularization - direct or indirect? // *J. thorac. cardiovasc. Surg.* -1971. -Vol. 61. - P. 498-500.
109. Erb S, Linke A, Adams V. Transplantation of blood-derived progenitor cells after recanalization of chronic coronary artery occlusion: first randomized and placebo-controlled study.// *Circ Res.* - 2005 - Vol. 97 - P. 756–762.
110. Erbs S, Linke A, Schächinger V, et al. Restoration of microvascular function in the infarct-related artery by intracoronary transplantation of bone marrow progenitor cells in patients with acute myocardial infarction: the Doppler Substudy of the Reinfusion of Enriched Progenitor Cells and Infarct Remodeling in Acute Myocardial Infarction (REPAIR-AMI) trial. *Circulation* 2007. Jul 24;116 (4):366-374
111. Faulkner S.L., Stoney W.S., Alford W.C. et al. Ischemic cardiomyopathy; Medical versus surgical treatment // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1977. Vol. 74. P. 77–72.

112. Ferrari G, Angelis GC, Colletta M et al. Muscle regeneration by bone marrowderived myogenic progenitors. // Science. – 1998. – Vol. 279. – P. 1528–1530.
113. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. N Engl J Med 1971; 285: 1182–6.
114. Forrester JS, White AJ, Matsushita S, Chakravarty T, Makkar RR. New paradigms of myocardial regeneration post-infarction: tissue preservation, cell environment, and pluripotent cell sources. JACC Cardiovasc Interv. 2009; 2(1):1-8.
115. Fisher SA, Brunskill SJ, Doree C, Mathur A, Taggart DP, Martin-Rendon E. This is a reprint of a Cochrane review, prepared and maintained by The Cochrane Collaboration and published in The Cochrane Library 2014, Issue 4.
116. Fransioli J, Bailey B, Gude NA, et al. Evolution of the c-kit-positive cell response to pathological challenge in the myocardium. Stem Cells 2008. May; 26(5):1315-1324
117. Friedenstein AJ, Chailakhyan R, Gerasimov UV. Bone marrow osteogenic stem cells: in vitro cultivation and transplantation in diffusion chambers. // Cell Tissue Kinet. – 1987. – Vol. 20. –263–272.
118. Freedman SB, Isner JM. Therapeutic angiogenesis for coronary artery disease. //Ann Intern Med.-2002.-Vol.136.-P. 54–71.
119. Freedman SB, Isner JM. Therapeutic angiogenesis for ischemic cardiovascular artery disease. //J. Mol. Cell Cardiol.- 2001.- Vol.33.- P.379-393.
120. Fuchs S, Baffour R, Zhou YF, 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. - 2001. - Vol. 37 - P. 1726–1732.
121. Fuchs S., Satler L, Kornowski R., et al. Catheterbased autologous bone marrow myocardial injection in nooption patients with advanced coronary

- artery disease: a feasibility study. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2003; 41: 1721–1724.
122. Fuchs S., Kornowski R., Weisz G., et al. Safety and feasibility of transendocardial autologous bone-marrow cell transplantation in patients with advanced heart disease. *Am. J. Cardiol.* 2006; 97: 823–829.
123. Fukushima S., Anabel Varela-Carver, Steven R. Coppen et al. Direct Intramyocardial But Not Intracoronary Injection of Bone Marrow Cells Induces Ventricular Arrhythmias in a Rat Chronic Ischemic Heart Failure Model//*Circulation*. –2007.-Vol.115.-P.2254-2261.
124. Gersh BJ.; Simari RD.; Behfar A., et al. Cardiac Cell Repair Therapy: A Clinical Perspective *Mayo Clin Proc.* 2009 October; 84(10): 876–892.
125. Gryshchenko O, Lu ZJ, Fleischmann BK, Hescheler J. Outwards currents in embryonic stem cell-derived cardiomyocytes. // *Eur J Physiol.* – 2000. – Vol. 439. –P. 798–807.
126. Grauss W.Robert, Elizabeth M. Winter, John van Tuyn et al. Mesenchymal stem cells from ischemic heart disease patients improve left ventricular function after acute myocardial infarction //*Am J Physiol Heart Circ Physiol.* - 2007. -Vol. 438. – H 2447.
127. Hamano K, Li TS, Kobayashi T. Therapeutic angiogenesis induced by local autologous bone marrow cell implantation. // *Ann Thorac Surg.* - 2002. - Vol. 73(4). - P. 1210-1215.
128. Hamano K, Nishida M, Hirata K et al. Local implantation of autologous bone marrow cells for therapeutic angiogenesis in patients with ischemic heart disease: clinical trial and preliminary results// *Jpn Circ J.* - 2001. - Vol. 65. P. 845–847.
129. Henry TD, Annex BH, McK Kendall GR, Azrin MA, Lopez JJ, Giordano FJ, Shah PK, Willerson JT, Benza RL, Berman DS, Gibson CM, Bajamonde A, Rundle AC, Fine J, McCluskey ER: The VIVA trial: Vascular endothelial growth factor in Ischemia for Vascular Angiogenesis. *Circulation* 2003, 107:1359-1365.

130. Huber I, Itzhaki I, Caspi O, et al. Identification and selection of cardiomyocytes during human embryonic stem cell differentiation. *FASEB J.* 2007; 21(10):2551-2563 Epub 2007 Apr 1.
131. Hung SC, Chen NJ, Hsieh SL et al. Isolation and Characterization of Size-Sieved Stem Cells from Human Bone Marrow. // *Stem Cells.* – 2002. – Vol. 20. – P. 249-258.
132. Huss R.N. Isolation of Primary and Immortalized CD34– Hematopoietic and Mesenchymal Stem Cells from Various Sources // *Stem cell* –2000. – Vol. 18. –P. 1-9.
133. Hu S, Liu S, Zheng Z, Yuan X, Li L, Lu M, et al. Isolated coronary artery bypass graft combined with bone marrow mononuclear cells delivered through a graft vessel for patients with previous myocardial infarction and chronic heart failure: a single-center, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Journal of the American College of Cardiology* 2011; 57(24):2409–15.
134. Hong H, Aksakov S, Guan X, et al. Remodeling of small intramyocardial coronary arteries distal to a severe epicardial coronary artery stenosis. // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* - 2002.-Vol.22.-P.2059–2065.
135. Ioannis Dimarakis, Nagy A. Habib a, Myrtle Y.A. Gordon. Adult bone marrow-derived stem cells and the injured heart: just the beginning? // *Eur J Cardiothorac Surg.* - 2005. Vol. 28. - P. 665-676.
136. Iwaguro H, Yamaguchi J, Kalka C et al. Endothelial progenitor cell vascular endothelial growth factor gene transfer for vascular regeneration. *Circulation* 2002; 105: 732–8.
137. Janssens S, Dubois C, Bogaert. Autologous bone marrow-derived stem-cell transfer in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: double-blind, randomised controlled trial. // *Lancet.* - 2005 - Vol. 367 - P. 113–121.

138. Jackson K.A., Majka S.M., Wang H. et al. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. // J. Clin. Invest. 2001. Vol. 107, P. 1395–1402.
139. Jih-Shiuan Wang, Dominique Shum-Tim, Edgar Chedrawy et al. The coronary delivery of marrow stromal cells for myocardial regeneration: Pathophysiologic and therapeutic implications// J. Thorac. Cardiovas. Surg. - 2001 - Vol. 122 - P. 699-705.
140. Jimenez-Quevedo P, Gonzalez FJ, Llorente L, Sabate M, Garcia MX, Hernandez-Antolin R, et al. Selected CD133+ endothelial progenitor cells to create angiogenesis in nooption patients: The design of the PROGENITOR randomized trial. European Heart Journal. 2011; Vol. 32: 816: Abstract P 4654.
141. Jimenez-Quevedo P, Gonzalez-Ferrer JJ, Sabat M, Garcia-Mol X, Llorent L, Hernandez-Antoli R, et al. Selected CD133+ endothelial progenitor cells to create angiogenesis in no-option patients: Preliminary 3-months results of the progenitor trial. Circulation. 2012; Vol. 126: 21 (Suppl 1): American Heart Association 2012 Scientific Sessions and Resuscitation Science Symposium, 3 - 6 November 2012, Los Angeles, CA.
142. Jimenez-Quevedo P, Gonzalez-Ferrer JJ, Sabate M, Garcia-Moll X, Alfonso F, Hernandez-Antolin R, et al. Selected CD133+ endothelial progenitor cells to create angiogenesis in no-option patients: Preliminary results of safety and feasibility. Journal of the American College of Cardiology. 2012; Vol. 60:B112.
143. Junge CE, Motlagh D, Debelak J, Cohen A, Hammel S, Nada A, et al. Clinical parameters influencing cell mobilization and impact of mobilization ability on efficacy outcomes: An analysis from ACT34-CMI. Circulation. 2012; Vol. 126 (21 Suppl 1): Abstract 12015. American Heart Association 2012 Scientific Sessions and Resuscitation Science Symposium, 3 - 6 November 2012, Los Angeles, CA.

144. Kamihata H, Matsubara H, Nishiue T. et al. Implantation of bone marrow mononuclear cells into ischemic myocardium enhances collateral perfusion and regional function via side supply of angioblasts, angiogenic ligands, and cytokines. // Circulation. - 2001.Vol. 104. - P.1046–1052.
145. KAESEMAYER WH. Holding smokers accountable for heart disease costs.//Circulation 1994; 90:1029-1032.
146. Kawamoto A., Tkebuchava T., Yamaguchi J. et al. Intramyocardial transplantation of autologous endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization of myocardial ischemia // Circulation. — 2003. — V. 107. — P. 461–468.
147. Kajstura J., Cheng W., Reiss K. et al. Apoptotic and necrotic myocyte cell death are independent contributing variables of infarct size in rats // Lab. Invest. — 1996. — V. 74. — P. 86–107.
148. Kajstura J., Leri A, Finato N. Et al. Myocyte proliferation in end stage cardiac failure in humans//Proc. Nat. Academ of Sci USA.-1998.-Vol.95.- P.8801-5.
149. Kim BO, Tian H, Prasongsukarn K, et al. Cell transplantation improves ventricular function after a myocardial infarction: a preclinical study of human unrestricted somatic stem cells in a porcine model. Circulation 2005; 112 (9) (suppl):I96-I104.
150. Kimikazu Hamano, Tao-Sheng Li, Toshiro Kobayashi, Ken Hirata, Masafumi Yano, Michihiro Kohno, Masunori Matsuzaki "Therapeutic angiogenesis induced by local autologous bone marrow cell implantation", Ann Thorac Surg 2002;73:1210-1215.
151. Kumar S., Hall R.J., Mani A.R. et al. Myocardial stunning is associated with impaired calcium uptake by sarcoplasmis reticulum //Biochem. Biophys. Res. Commun.- 2009.- Vol. 387.- P. 77-82.
152. Kloner R.A., Shook T., Antman E.M. et al. Prospective temporal analysis of the onset of preinfarction angina versus outcome: an ancillary study in TIMI-9B //Circulation.-1998.- Vol. 97.-P. 1042-1045.

153. Klug MG, Soonpaa MH, Koh GY et al. Genetically Selected Cardiomyocytes from Differentiating Embryonic Stem Cells Form Stable Intracardiac Grafts. // J Clin Invest. – 1996. – Vol. 98. – P. 216–224.
154. Kocher AA, Schuster, Szabolcs MJ, et al. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function// Nat. Med. - 2001- Vol. 7 (4) - P. 412-3.
155. Kornowski R, Fuchs S, Leon MB, et al. Delivery strategies to achieve therapeutic myocardial angiogenesis. // Circulation. - 2000. Vol. 101 - P. 454–458.
156. Kuethe F, Richartz BM, Sayer HG. Lack of regeneration of myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans with large anterior myocardial infarctions.// Int J Cardiol. - 2004. - Vol. 97(1). P. 123-127.
157. Kwong H.F., Chan Y.L., Lo J.K. et al. // Lancet. 2003. V. 8. P. 47–49.  
Lagasse E.N., Connors H.A., Al-Dhalimy M.L. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo // Nat. Med. –2000. – Vol. 6. –P. 1229-1234.
158. Lange R., Ingwall J.S., Halle S.L. et al. Effects of recurrent ischemia on myocardial high energy phosphate content in canine hearts // Basic Res. Cardiol. - 1984. - Vol. 79. – P. 469-478.
159. Levenberg S, Golub JS, Amit M. Endothelial cells derived from human embryonic stem cells. // Proc Natl Acad Sci USA. – 2002. – Vol. 99. – P. 4391-4396.
160. Leor J., Patterson M., Qumones M. J. et al. Transplantation of Fetal Myocardial Tissue Into the Infarcted Myocardium of Rat. A Potential Method for Repair of Infarcted Myocardium? // Circulation. — 1996. — V. 94. — P. 332–336.

161. Li C.L., Jonson G.R. Murine hematopoietic stem and progenitor cells: I. Enrichment and biologic characterization // Blood –1995. –Vol. 85. –P. 1472-1479.
161. Li RK, Jia ZQ, Weisel RD et al. Cardiomyocyte transplantation improves heart function. // Ann Thorac Surg. – 1996. – Vol. 62. – P. 654-660.
162. Li RK, Jia ZQ, Weisel RD et al. Smooth Muscle Cell Transplantation into Myocardial Scar Tissue Improves Heart Function. // J Mol Cell Cardiol. – 1999. – Vol. 31. – P. 513–522.
163. Li RK, Mickle DAG, Weisel RD et al. In Vivo Survival and Function of Transplanted Rat Cardiomyocytes. // Circ Res. – 1996. – Vol. 78. – P. 283-288.
164. Li Z, Lee A, Huang M, et al. Imaging survival and function of transplanted cardiac resident stem cells. J Am Coll Cardiol. 2009; 53 (14):1229-1240.
165. Lim H, Fallavollita JA, Hard R, Kerr CW, Carty JM Jr. Profound apoptotic-mediated regional myocyte loss and compensatory hypertrophy in pigs with hibernating myocardium.// Circulation.-1999.- Vol. 100.- P.2380–2386.
166. Livingston D, Motlagh D, Debelak J, Cohen A, Story K, Hammel S, et al. Phase 2 study of intramyocardial injection of autologous CD34+ cells to treat subjects with refractory chronic myocardial ischemia (CMI): Factors influencing mobilization and apheresis. Blood. 2009; Vol. 114: Abstract 3227. 51st Annual Meeting of the American Society of Hematology, ASH, 5 - 8 December 2009, New Orleans,LA.
167. Losordo DW, Henry T, Schatz RA, Lee JS, Costa M, BassT, et al. Autologous CD34+ cell therapy for refractory angina: 12 month results of the phase II ACT34-CMI study. Circuation. 2009; Vol. 120 (18 Suppl): Abstract 5638. American Heart Association Scientific Sessions 2009, 14 - 18 November 2009, Orlando, FL.

168. Losordo DW, Henry TD, Davidson C, Sup Lee J, Costa MA, Bass T, et al. ACT34-CMI Investigators. Intramyocardial, autologous CD34+ cell therapy for refractory angina. *Circulation Research* 2011;109 (4):428–36.
169. Lloyd-Jones D, Adams R, Carnethon M. et al. American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation*. 2009 Jan 27; 119 (3):e21-181.
170. Mackenzie TC, Flake AW. Human Mesenchymal Stem Cells Persist, Demonstrate Site-Specific Multipotential Differentiation, and Are Present in Sites of Wound Healing and Tissue Regeneration after Transplantation into Fetal Sheep. // *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. – 2001. – Vol. 27. – P. 601–604.
171. Makino S, Fukuda K, Miyoshi S. Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells in vitro // *J Clin Invest*. - 1999 - Vol. 103 - P. 697–705.
172. Mathur A, Martin JF. Stem cells and repair of the heart. *Lancet* 2004; 364 (9429):183-192.
173. Mazo M, Planat-Bénard V, Abizanda G, et al. Transplantation of adipose derived stromal cells is associated with functional improvement in a rat model of chronic myocardial infarction. *Eur J Heart Fail* 2008. May;10(5):454-462
174. Majumdar MK, Keane-Moore M, Buyaner D. Characterization and functionality of cell surface molecules on human mesenchymal stem cell. // *J Biomed Sci*. - 2003. - Vol. 10. P. 228–241.
175. McClelan R, Miyamoto T, Bick-Forrester J. et al., Intramyocardial injection of allogenic bone marrow-derived mesenchymal stem cells without immunosuppression preserves cardiac function in a porcine model of myocardial infarction. // *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. - 2005. - Vol. 10(4).-P.225-233.
176. Menasché P, Alfieri O, Janssens S, et al. The Myoblast Autologous Grafting in Ischemic Cardiomyopathy (MAGIC) trial: first randomized

- placebo-controlled study of myoblast transplantation. *Circulation* 2008. Mar 4; 117(9):1189-1200.
177. Menasche P, Hagege AA, Vilquin JT. Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction. // *J Am Coll Cardiol.* - 2003. - Vol. - 41(7). - P. 1078-1083.
178. Menasché P. Skeletal myoblasts and cardiac repair. *J Mol Cell Cardiol.* 2008. Oct; 45 (4):545-553
179. Menasché P. Skeletal myoblasts as a therapeutic agent. *Prog Cardiovasc Dis.* 2007; 50 (1):7-17
180. Meyer GP, Wollert KC, Lotz J. Intracoronary bone marrow cell transfer after myocardial infarction: eighteen months' follow-up data from the randomized, controlled BOOST (Bone Marrow Transfer to Enhance ST-Elevation Infarct Regeneration) Trial. // *Circulation.* - 2006. - Vol. 113 - P. 1287–1294.
181. Min J-Y, Sullivan MF, Yang Y. Significant improvement of heart function by cotransplantation of human mesenchymal stem cells and fetal cardiomyocytes in postinfarcted pigs. // *Ann Thorac Surg.* – 2002. - Vol. 74 - P. 1568–1575.
182. Mummery C, Oostwaard DW, Doevedans P et al. Differentiation of Human Embryonic Stem Cells to Cardiomyocytes. Role of Coculture With Visceral Endoderm-Like Cells. // *Circulation.* – 2002. – Vol. 107. – P. 2733-2740.
183. Murry CE, Field LJ, Menasché P. Cell-based cardiac repair: reflections at the 10-year point. *Circulation* 2005; 112(20):3174-3183
184. Murry CE, Kay MA, Bartosek T et al. Muscle Differentiation during Repair of Myocardial Necrosis in Rats via Gene Transfer with MyoD. // *J Clin Invest.* – 1996. – Vol. 98. – P. 2209–2217.
185. Murry CE, Keller G. Differentiation of embryonic stem cells to clinically relevant populations: lessons from embryonic development. *Cell* 2008; 132 (4):661-680.

186. Murry CE, Wiseman RW, Schwartz SM et al. Skeletal Myoblast Transplantation for Repair of Myocardial Necrosis. // J Clin Invest. – 1996. – Vol. 98. – P. 2512–2523.
187. Nasser BA, Kikuchi M, Danel M, Ebelle W, Hetzer R, Stamm C. Autologous CD133+ bone marrow cells and bypass grafting for regeneration of ischemic myocardium: Results of the CARDIO133 trial. Journal of the American College of Cardiology. 2012; Vol. 59 (13 Suppl 1): E864.
188. Nasser BA, Klose K, Ebelle W, Danel M, Kukucka M, Gebker R, et al. Improved regional contractile function and reduced scar size after clinical cell therapy with CD133- positive cells. Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery. 2013; Vol. 16 (2):S233. 3 rd EACTS Meeting on Cardiac and Pulmonary Regeneration, 14 - 15 December 2012, Berlin, Germany.
189. Nagamine H, Watanabe G, Shiobara S. Intramyocardial CD34+ cell transplantation combined with off-pump coronary artery bypass grafting. // Heart Surg Forum. - 2004. - Vol. 7(4). - P. E285-E287.
190. Nakagawa M, Koyanagi M, Tanabe K, et al. Generation of induced pluripotent stem cells without Myc from mouse and human fibroblasts. Nat Biotechnol. 2008. Jan; 26 (1):101-106.
191. Noiseux N, Gnechi M, Lopez-Ilasaca M et al. Mesenchymal stem cells overexpressing akt dramatically repair infarcted myocardium and improve cardiac function despite infrequent cellular fusion or differentiation. Mol Ther 2006; 14: 840–50.
192. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. // Proc Natl Acad Sci USA. - 2001. - Vol. 98(18) - P. 10344-10349.
193. Orlic D., Kajstura J., Chimehti S. et al. Transplanted Adult Bone Marrow Cells Repair Myocardial Infarcts in Mice // Ann. N.Y. Acad. Sci. –2001. - Vol. 938.–P. 221 – 230.

194. Orlic D., Kajstura J., Chimenti S., Jakoniuk I., et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium// Nature - 2001- Vol. 410 - P. 701 - 705.
195. Opie L.H., Commerford F.J., Gerch B.J. et al. // Lancet. 2006. V. 367. P. 356–367.
195. Otsuji Y., Handschumacher M.D., Schwammthal E. et al. //Circulation.- 1997.-Vol.96.-P.1999-2008.
196. Oh H., Wang S. C., Prahash A. et al. Telomere attrition and Chk2 activation in human heartfailure // Ibid. — 2003. — V. 100. — P. 5378– 5383.
197. Panchal V, Rehman J, Nguyen A et al. Reduced pericardial levels of endostatin correlate with collateral development in patients with ischemic heart disease. J Am Coll Cardiol 2004; 43: 1383–7.
198. Pavan Atluri MD, Corinna M. Panlilio BA, George P. Et al. Transmyocardial revascularization to enhance myocardial vasculogenesis and hemodynamic function.// The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery – 2008 – Vol. 135 – P. 283-291.e1.
199. Passier R, van Laake LW, Mummary CL. Stem-cell-based therapy and lessons from the heart. Nature 2008; 453 (7193):322-329.
200. Perin EC, Silva GV, Sarmento-Leite R, et al. Assessing myocardial viability and infarct transmurality with left ventricular electromechanical mapping in patients with stable coronary artery disease: validation by delayed-enhancement magnetic resonance imaging. // Circulation. - 2002 - Vol. 106 - P. 957–961.
201. Perin E.S., Yong-Jian Geng, Willerson J.T. Adult Stem Cell Therapy in Perspective. // Circulation. - 2003 - Vol. 107 - P. 935-938.
202. Perin E.C., Dohmann HF, Borojevic R, et al. Improved exercise capacity and ischemia 6 and 12 months after transendocardial injection of autologous bone marrow mononuclear cells for ischemic cardiomyopathy // Circulation. - 2004. - Vol. 110 (suppl II). P. 213–218.

203. Perin EC, Dohmann HFR, Borojevic R, Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. // Circulation. - 2003 - Vol. 107 - P. 2294–2302.
204. Perin EC, Silva GV, Fernandes MR, Henry T, Moore W, Coulter S, et al. FOCUS-HF: The first US randomized blinded controlled trial of transendocardial injection of bone marrow mononuclear cells in chronic severe ischemic heart failure patients. Journal of the American College of Cardiology. 2009; Vol. 53 (10 Suppl):A193, Abstract 1051-191. American College of Cardiology 58th Annual Scientific Session and i2 Summit: Innovation in Intervention, 29 - 31 September 2009, Orlando, FL.
205. Perin EC, Silva GV, Zheng Y, Fernandez MR, Moore W, Coulter S, et al. First in man transendocardial injection of autologous aldehyde dehydrogenase-bright cells in heart failure patients (FOCUS-Bright). Circulation. 2009; Vol. 120 (18 Suppl) :Abstract 3502. American Heart Association Scientific Sessions 2009; 14 - 18 November 2009; Orlando, FL.
206. Perin EC, Silva GV, Zheng Y, Gahremanpour A, Canales J, Patel D, et al. Randomized, double-blind pilot study of transendocardial injection of autologous aldehyde dehydrogenase-bright stem cells in patients with ischemic heart failure. American Heart Journal 2012; 163(3): 415-21, 421.
207. Perin EC, Silva GV, Henry TD, Cabreira-Hansen MG, Moore WH, Coulter SA, et al. A randomized study of transendocardial injection of autologous bone marrowmononuclear cells and cell function analysis in ischemic heart failure (FOCUS-HF). American Heart Journal 2011; 161(6):1078–87.
208. Perin EC, Willerson TJ, Pepine CJ, Henry TD, Ellis SG, Zhao DX, et al. Cardiovascular Cell Therapy Research Network CCTRN. Effect of transendocardial delivery of autologous bone marrow mononuclear cells on functional capacity, left ventricular function, and perfusion in chronic heart failure: the FOCUS-CCTRN trial. JAMA 2012; 307 (16):1717–26.

209. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC et al. Multilineage potential of adult human mesenchimal stem cells. // Science. – 1999. – Vol. 284. – P. 143-147.
210. Pittenger MF, Marshak DR. Mesenchymal stem cells of human adult bone marrow. // Stem Cell Biology. - 2001. - P. 949–973.
211. Pittenger MF, Martin BJ. Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics// Circ Res. - 2004 -Vol. 95 - P. 9–20.
212. Planat-Bénard V, Menard C, André M, et al. Spontaneous cardiomyocyte differentiation from adipose tissue stroma cells. Circ Res. 2004. Feb; 94 (2):223-229.
213. Planat-Benard V, Silvestre JS, Cousin B, et al. Plasticity of human adipose lineage cells toward endothelial cells: physiological and therapeutic perspectives. Circulation 2004. Feb 10; 109(5):656-663.
214. Pokushalov E, Romanov A, Artemenko S, Cherniavskiy A, Larionov P, Terehov I, et al. Efficacy of intramyocardial injections of autologous bone marrow mononuclear stem cells in patients with ischemic heart failure: Long term results: ACC poster contributions. Journal of the American College of Cardiology. 2010; Vol. 55 (10 Suppl 1):A24: Abstract E228. Amercan College of Cardiology's 59th Annual Scientific Session and i2 Summit: innovation in Intervention, 14 - 16 March 2010, Atlanta, GA.
215. Pokushalov E, Romanov A, Artemenko S, Larionov P, Cherniavskiy A. Efficiency of intramyocardial injections of autologous bone marrow mononuclear stem cells in patients with ischemic heart failure: Long-term results. Journal of Cardiac Failure. 2009; Vol. 15 (6 Suppl 1):S44, Abstract 138. 13th Annual Scientific Meeting of the Heart Failure Society of America, 13 - 16 September 2009, Boston, MA.
216. Pokushalov E, Romanov A, Cherniavskiy A, Artemenko S, Larionov P, Terehov I, et al. Efficiency of intramyocardial injections of autologous bone marrow mononuclear stem cells in patients with ischemic heart failure: Longterm results. American Journal of Cardiology. 2009; Vol.

- 104 (6 Suppl 1):74D - 75D, Abstract TCT-194. Transcatheter Cardiovascular Therapeutics Symposium, 21 - 25 September 2009, San Francisco, CA.
217. Pokushalov E, Romanov A, Chernyavsky A, Larionov P, Terekhov I, Artyomenko S, et al. Efficiency of intramyocardial injections of autologous bone marrow mononuclear cells in patients with ischemic heart failure: a randomized study. *Journal of Cardiovascular Translational Research* 2010; 3(2):160–8.
  218. Pokushalov E, Romanov A, Corbucci G, Prohorova D, Chernyavsky A, Larionov P, et al. Cardiac resynchronization therapy and bone marrow cell transplantation in patients with ischemic heart failure and electromechanical dyssynchrony: a randomized pilot study. *Journal of Cardiovascular Translational Research* 2011; 4 (6):767–78.
  219. Prockop D.G. Marrow Stromal Cells as Stem Cells for Nonhematopoietic Tissues // *Science* –1997. -Vol. 276. – P. 1634-1642.
  220. The Lancet "Успехи и недостатки современной терапии сердечной недостаточности." Heart failure. Vol. 352'1998.
  221. Quirici N, Soligo D, Caneva L et al. Differentiation and expansion of endothelial cells from human bone marrow CD133+ cells. // *British J Haematol.* – 2001. – Vol. 115. – P. 186-194.
  222. Quevedo H.C., Hatzistergos K.E., Oskouei B.N. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 2009. V. 6. P. 14022–14028.
  223. Rehman J, Li J, Orschell CM, March KL. Peripheral blood “endothelial progenitor cells” are derived from monocyte/macrophages and secrete angiogenic growth factors. *Circulation* 2003;107 (8):1164-1169
  224. Reinecke H, MacDonald GH, Hauschka SD et al. Electromechanical Coupling between Skeletal and Cardiac Muscle: Implications for Infarct Repair. // *J Cell Biol.* – 2000. – Vol. 149. – P. 731–740.

225. Retuerto MA, Beckmann JT, Carbray J et al. Angiogenic pretreatment to enhance myocardial function after cellular cardiomyoplasty with skeletal myoblasts J Thorac Cardiovasc Surg 2007; 133: 478–84.
226. Rolande D.M., Fantini J.P., Cardinalli N.A. et al. // Arq. Bras. Cardiol. 2012. V. 98 (1). P. 76–84. 4. Liu L., Eisen H.J. // Cardiol. Clin. 2014. V. 32 (1). P. 1–18.
227. Romanov A, Pokushalov E, Artemenko S, Larionov P, Terehov I, Kliver E, et al. Efficiency of intramyocardial injections of autologous bone marrow mononuclear stem cells in patients with ischemic heart failure: long-term results.. European Heart Journal. 2009; Vol. 30 (Suppl 1):504, Abstract P3097. European Society of Cardiology Congress 2009, 29 August - 2 September 2009, Barcelona, Spain.
228. Romanov A, Pokushalov E, Cherniavskiy A, Artemenko S, Larionov P, Terehov I, et al. Efficiency of intramyocardial injections of autologous bone marrow mononuclear cells in patients with ischemic heart failure: A randomized study. Heart Rhythm. 2010; Vol. 7 (5 Suppl 1):S348: Abstract P05-82. 31st Annual Scientific Sessions of the Heart Rhythm Society, 12 - 15 May 2010, Denver, Colorado.
229. Romanov A, Pokushalov E, Cherniavskiy A, Larionov P, Artemenko S, Terekhov I, et al. Efficiency of intramyocardial injections of autologous bone marrow mononuclear stem cells in patients with ischemic heart failure: long-term results. European Journal of Heart Failure. 2009; Vol. 8 (Suppl 2):ii705, Abstract 1401. Heart Failure Congress, 30 May - 2 June 2009, Nice, France.
230. Romanov A, Pokushalov E, Cherniavskiy A, Larionov P, Terekhov I, Kilver E, et al. Efficiency of intramyocardial injections of autologous bone marrow mononuclear cells in patients with ischemic heart failure: A randomized study. European Journal of Heart Failure. 2010; Vol. 9 (Suppl 1): S60-S61, Abstract 404. Heart Failure Congress 2010. 29 May - 1 June 2010, Berlin, Germany.

231. Romanov A, Pokushalov E, Cherniavskiy A, Larionov P, Terekhov I, Poveschenko O, et al. Efficiency of intramyocardial injections of autologous bone marrow mononuclear cells in patients with ischemic heart failure: a randomized study. European Heart Journal. 2010; Vol. 31 (Abstract Supplement):323, Abstract 2024. European Society of Cardiology Congress, 28 August - 1 September 2010, Stockholm, Sweden.
232. Romanov A, Pokushalov E, Prokhorova D, Cherniavskiy A, Artemenko S, Shirokova N, et al. Cardiac resynchronization therapy and bone marrow transplantation in patients with ischemic heart failure and electro-mechanical dyssynchrony. A randomized study. European Heart Journal. 2010; Vol. 31 (17 Suppl 1):591; Abstract 3476. European Society of Cardiology Congress, 28 August - 1 September 2010, Stockholm, Sweden.
233. Romanov AB, Pokushalov E, Cherniavskiy A, Kliver E, Karaskov A, Dib N. Efficiency of intramyocardial injections of autologous bone marrow mononuclear cells in patients with ischemic heart failure: A randomized study. Journal of the American College of Cardiology. 2011; Vol. 57 (14 Suppl 1):Abstract E241. 60th Annual Scientific Session and Expo ACC. 11, 2 - 5 April 2011, New Orleans.
234. Rodrigo S, Van Ramshorst J, Beeres SL, Al Younis I, Dibbets-Schneider P, De Roos A, et al. Intramyocardial injection of bone marrow mononuclear cells in chronic myocardial ischemia patients after previous placebo injection improves myocardial perfusion and angina symptoms: An intra-patient comparison. American Heart Journal 2012; 164 (5):771–8.
235. Rodrigo S, Van Ramshorst J, Beeres SL, Dibbets-Schneider P, De Roos A, Fibbe WE, et al. Intramyocardial injection of bone marrow mononuclear cells in patients with chronic myocardial ischemia: An intra-patient comparison. Circulation 2011; 124(Suppl 1).

236. Rodrigo S, Van Ramshorst J, Beeres SL, Dibbets-Schneider P, Stokkel M, Fibbe WE, et al. Intramyocardial bone marrow cell injection in patients with chronic myocardial ischemia: Results long term follow-up. *Circulation.* 2011; Vol. 124 (21 Suppl 1): Abstract A15175. American Heart Association Scientific Sessions, 12 - 16 November 2011, Orlando, FL.
237. Rodrigo S, Van Ramshorst J, Beeres SL, Dibbets-Schneider P, Stokkel M, Zwaginga JJ, et al. Intramyocardial bone marrow cell injection in patients with chronic myocardial ischemia: Results long term follow-up. *European Heart Journal.* 2011; Vol. 32:820, Abstract P4671. European Society of Cardiology Congress 2011, 27 - 31 August 2011, Paris, France.
238. Rissanen TT, Yla-Herttula S. Current status of cardiovascular gene therapy. *Mol Ther* 2007; 15: 1233–47.
239. Rizyllo W., Szwed H., Sadowski Z. et al. Efficacy of trimetazidine in patients with recurrent angina: a subgroup analysis of the TRIMPOL II study // *Curr. Med. Opin.* - 2004. - Vol. 20. – P. 1447-1454.
240. Sakai T, Li RK, Weisel RD. Autologous Heart Cell Transplantation Improves Cardiac Function After Myocardial Injury. // *Ann Thorac Surg.* – 1999. – Vol. 68. – P. 2074 –2081.
241. Salomon N. W., Page U. S., Bigelow J. C. et al. Reoperative coronary surgery. Comparative analysis of 6591 patients undergoing primary bypass and 508 patients undergoing reoperative coronary artery bypass // *J. thorac. cardiovasc. Surg.* -1990. -Vol. 100. - P. 250-260.
242. Sanborn T.A., Oesterle S.N., Heuser R.R. et al. Percutaneous laser revascularization (PMR) with a holmium laser // *Circulation.* -1998. -Vol. 98. –Suppl. 1. - P. 87.
243. Sanchez-Ramos J, Song S, Cardozo-Pelaez F et al. Adult Bone Marrow Stromal Cells Differentiate into Neural Cells in Vitro. // *Exp Neurology.* – 2000. – Vol. 164. –P. 247–256.

244. Sarić T, Frenzel LP, Hescheler J. Immunological barriers to embryonic stem cell-derived therapies. *Cells Tissues Organs* 2008; 188 (1-2):78-90 Epub 2008 Feb 27
245. Schachinger V., Assmus B., Britten M.B. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction: final one-year results of the TOPCARE-AMI Trial. // *J Am Coll Cardiol.* - 2004. - Vol. 44. - P.1690-1699.
246. Schofield P.M., Sharples L.D., Caine N. et al. Transmyocardial laser revascularization in patients with refractory angina // *Lancet.* -1999. -Vol. 353. -P. 519-524.
247. Schuleri KH, Amado LC, Boyle AJ, et al. Early improvement in cardiac tissue perfusion due to mesenchymal stem cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2008. May; 294 (5):H2002-H2011 Epub 2008 Feb 29
248. Schultz A, Lavie L, Hochberg I et al. Interindividual heterogeneity in the hypoxic regulation of VEGF: Significance for the development of the coronary artery collateral circulation. *Circulation* 1999; 100: 547–52
249. Spodick D. H. *Cardiology* 1999 // *Ann. Intern. Med.* - 2000. - Vol. 133, № 3. - P. 244.
250. Scorsin M, Hagege AA, Marotte F et al. Does Transplantation of Cardiomyocytes Improve Function of Infarcted Myocardium? // *Circulation.* – 1997. – Vol. 96[suppl II]. – P. II-188-II-193.
251. Segers VF, Lee RT. Stem-cell therapy for cardiac disease. *Nature* 2008;451 (7181):937-942.
252. Shake JG, Gruber PJ, Baumgartner WA. Mesenchymal stem cell implantation in a swine myocardial infarct model: engraftment and functional effects// *Ann Thorac Surg.* - 2002 - Vol. 73 - P. 1919–1926.
253. Siminiak T, Fiszer D, Jerzykowska O. Percutaneous trans-coronary-venous transplantation of autologous skeletal myoblasts in the treatment of post-infarction myocardial contractility impairment: the POZNAN trial. //*Eur Heart J.* - 2005. - Vol. 26(12). - P. 1188-1195.

254. Silva G., Perin E., Dohmann H., Borojevic R. 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.
255. Smadja DM, Cornet A, Emmerich J et al. Endothelial progenitor cells: characterization, in vitro expansion, and prospects for autologous cell therapy. Cell Biol Toxicol. 2007; 23 (4): 223–39.
256. Stamm C, Kleine HD, Westphal B. CABG and bone marrow stem cell transplantation after myocardial infarction. // Thorac Cardiovasc Surg 2004. - Vol. 52(3). - P. 152-158.
257. Stamm C, Kleine HD, Choi YH 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.
258. Stamm C, Westphal B, Kleine HD et al. Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. // Lancet. - 2003. - Vol. 361. - P. 45–46.
259. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. // Circulation. - 2002. - Vol. 106 - P. 1913–1918.
260. Steiner JK, Ziegler I, Assmus B, Seeger F, Walter F, Walter D, et al. Cardiac extracorporeal shock wave-facilitated cell therapy in patients with chronic heart failure (Cellwave trial) - mechanistic insights by magnetic resonance imaging. Circulation. 2012; Vol. 126 (21 Suppl 1): Abstract 14838. American Heart Association 2012 Scientific Sessions and Resuscitation Science Symposium, 3 - 6 November 2012, Los Angeles, CA.
261. Sliwa K., Woodiwis A., Kone V.N. et al. Therapy of ischemic cardiomyopathy with the immunomodulating agent pentoxifylline // Circulation. - 2004. - Vol. 109 - P.750-755.

262. Slezak J., Tribulova N., Okruhlicova L. e al. Hibernating myocardium: pathophysiology, diagnosis and treatment // Can. J. Physiol. Pharmacol.- 2009.- Vol.87.-P. 252-265.
263. Sun N, Panetta NJ, Gupta DM, et al. Feeder-free derivation of induced pluripotent stem cells from adult human adipose stem cells [published online ahead of print September 8, 2009] Proc Natl Acad Sci U S A doi:10.1073 /pnas.0908450106.
264. Suzuki G., V. Iyer, T. Cimato et al. Pravastatin Improves Function in Hibernating Myocardium by Mobilizing CD133+ and cKit+ Bone Marrow Progenitor Cells and Promoting Myocytes to Reenter the Growth Phase of the Cardiac Cell Cycle //Circulation Research. 2009.-Vol.104.- P.255-264.
265. Suzuki G., V. Iyer, T. Cimato, and J. M. Carty Pravastatin Improves Function in Hibernating Myocardium by Mobilizing CD133+ and cKit+ Bone Marrow Progenitor Cells and Promoting Myocytes to Reenter the Growth Phase of the Cardiac Cell Cycle//Circ. Res.- 2009.-Vol.104(2).- P.255 - 264.
266. Suzuki K, Brand NJ, Morrison KJ et al. Development of a Novel Method for Cell Transplantation via Coronary Artery. // Circulation. – 1999. – Vol. 100(suppl I). – P. I-164.
267. Svet-Moldavsky GJ, Chimishkyan KL. Tumor angiogenesis factor for revascularization in ischemia and myocardial infarction. Lancet 1977; 1: 913–6.
268. Tarakji K.G., Brunken R., McCarthy P.M. // Circulation. 2006. V. 113. P. 230–237.
269. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. Cell 2007; 131(5):861-872

270. Taylor D. A., Atkins B. Z., Hungspreugs P. et al. Regenerating functional myocardium: Improved performance after skeletal myoblast transplantation // Nature Medicine. — 1998. — N 4. — P. 929–933.
271. Tirziu D, Simons M. Angiogenesis in the human heart: Gene and cell therapy. *Angiogenesis* 2005; 8: 241–51.
272. Thompson CA, Nasseri BA, Makower J. Percutaneous transvenous cellular cardiomyoplasty: a novel nonsurgical approach for myocardial cell transplantation. // *J Am Coll Cardiol.* - 2003 - Vol. 41 - P. 1964–1971.
273. Toma C, Pittenger MF, Cahill KS. Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart. // *Circulation.* - 2002 - Vol. 105 - P. 93–98.
274. Tomescot A, Leschik J, Bellamy V, et al. Differentiation in vivo of cardiac committed human embryonic stem cells in postmyocardial infarcted rats. *Stem Cells* 2007; 25 (9):2200-2205 Epub 2007 May 31.
275. Tomita M., Adachi Y., Yamada T. et al. Bone marrow-derived stem cells can differentiate into retinal cells in injured rat retina // *Stem cell* –2002. – Vol. 20. –P. 279-283.
276. Tomita S, Li RK, Jia ZQ et al. Bone Marrow Cells Transplanted in a Cardiac Scar Induced Cardiomyogenesis and Angiogenesis and Improved Damaged Heart Function. // *Circulation.* – 1999. – Vol. 100(suppl I). – P. I-91-I-92.
277. Tomita S, Li RK, Weisel RD et al. Autologous transplantation of bone marrow cell improves damaged heart function. // *Circulation.* – 1999. – Vol. 100(suppl II). – P. II-247-II-256.
278. Tomita S, Mickle DA, Weisel RD. Improved heart function with myogenesis and angiogenesis after autologous porcine bone marrow stromal cell transplantation.// *J Thorac Cardiovasc Surg.* - 2002. - Vol. 123(6). - P. 1132-1140.
279. Turan RG, Bozdag-T I, Ortak J, Kische S, Akin I, Schneider H, et al. Improved functional activity of bone marrow derived circulating

- progenitor cells after intra coronary freshly isolated bone marrow cells transplantation in patients with ischemic heart disease. *Stem Cell Reviews* 2011; 7 (3):646–56.
280. Turan RG, Bozdag-Turan I, Ortak J, Akin I, Kische S, Schneider H, et al. Improved mobilization of the CD34(+) and CD133(+) bone marrow-derived circulating progenitor cells by freshly isolated intracoronary bone marrow cell transplantation in patients with ischemic heart disease. *Stem Cells and Development* 2011; 20(9):1491–501.
281. Tractuev D, Tsokolaeva Z, Shevelev A et al. Urokinase Gene Transfer Augments Angiogenesis In Ischemic Skeletal And Myocardial Muscle. *Mol Ther* 2007; 15.
282. Tse HF, Kwong YL, Chan JK. Angiogenesis in ischaemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation. // Lancet - 2003 - Vol. 361(9351) - P. 47-49.
283. Tse HF, Siu CW, Zhu SG et al Paracrine effects of direct intramyocardial implantation of bone marrow derived cells to enhance neovascularization in chronic ischaemic myocardium. //Eur J Heart Fail.- 2007.-Vol.9. - N8.- P.747-53.
284. Van Ramshorst J, Bax JJ, Beeres SLMA et al. Intramyocardial bone marrow cell for chronic myocardial ischemia. A randomized controlled trial. *JAMA* 2009; 301 (19): 1997–2004.
285. Van Ramshorst J, AntoniML, Beeres SL, Roes SD, Delgado V, Rodrigo SF, et al. Intramyocardial bone marrow-derived mononuclear cell injection for chronic myocardial ischemia: the effect on diastolic function. *Circulation, Cardiovascular Imaging* 2011; 4 (2):122–9.
286. Van Ramshorst J, Bax JJ, Beeres SL, Dibbets-Schneider P, Roes SD, Stokkel MP, et al. Intramyocardial bone marrow cell injection for chronic myocardial ischemia: a randomized controlled trial. *JAMA* 2009; 301(19): 1997–2004.

287. Van Ramshorst J, Bax JJ, Beeres SL, Dibbets-Schneider P, Roes SD, Stokkel MPM, et al. Intramyocardial injection of bone marrow-derived mononuclear cells for chronic myocardial ischemia: a randomized, double-blind, placebocontrolled trial. European Heart Journal. 2009; Vol. 30 (Suppl 1):452, Abstract 2819. European Society of Cardiology Congress, 29 August - 2 September 2009, Barcelona, Spain.
288. Van Ramshorst J, Bax JJ, Beeres SL, Roes SD, Dibbets P, De Roos A, et al. Intramyocardial autologous bone marrow cell injection in no-option patients with refractory angina pectoris and documented ischemia: A randomized, double blinded, placebo-controlled trial. Journal of the American College of Cardiology.2009; Vol. 53 (10 Suppl):A340, Abstract 1041-145. American College of Cardiology 58th Annual Scientific Session and i2 Summit: Innovation in Intervention, 29 - 31 March 2009, Orlando, FL.
289. van Ramshorst J., Bax J.J, Beeres SL, et al. Intramyocardial bone marrow cell injection for chronic myocardial ischemia: a randomized controlled trial. JAMA 2009; 301 (19):1997-2004
290. van Royen N, Voskuil M, Hoefer I et al. CD44 regulates arteriogenesis in mice and is differentially expressed in patients with poor and good collateralization. Circulation 2004; 109: 1647–52.
291. Varanauskas E. Survival, myocardial infarction and employment status in a prospective randomized study of coronary bypass surgery. Circulation 1985; 72:V90- V101.
292. von Degenfeld G, Banfi A, Springer ML, Blau HM. Myoblast-mediated gene transfer for therapeutic angiogenesis and arteriogenesis. Br J Pharmacol 2003; 140: 620–6.
293. Verfaillie C.M. Characterization of multipotent adult progenitor cells, a subpopulation of mesenchymal stem cells // Ann. NY Acad. Sci. –2000. – Vol. 938. –P. 231-235.

294. Verheul H.A., Moulijn A. C., Hondema S. et al. Late results of 200 repeat coronary artery bypass operations // Amer. J. Cardiol. -1991. -Vol. 67. - P.24-30.
295. Wang JS, Shum-Tim D, Chedrawy E. The coronary delivery of marrow stromal cells for myocardial regeneration: pathophysiologic and therapeutic implications. // J Thorac Cardiovasc Surg. 2001. - Vol. 122(4). P. 699-705.
296. Wang J.S, Shum-Tim D, Galipeau J et al. Marrow stromal cells for cellular cardiomyoplasty: feasibility and potential clinical advantages. // J Thorac Cardiovasc Surg. – 2000. – Vol. 120. – P. 999-1006.
297. Wang S-H, Cui J-Y, Lu M, Wang X, Li, X-M, Tan C, et al. Intracoronary transplantation with autologous bone marrow CD34+ stem cells for angina: a randomized controlled clinical analysis. Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research 2009; 13(14):2623–6.
298. Wang S, Cui J, Peng W, Lu M. Intracoronary autologous CD34+ stem cell therapy for intractable angina. Cardiology 2010; 117(2):140–7.
299. Ware J.E., Snow K.K., Kosinski M., Gandek B. SF-36 Health Survey. Manual and interpretation guide //The Health Institute, New England Medical Center. Boston, Mass.-1993.
300. Ware J.E., Kosinski M., Keller S.D. SF-36 Physical and Mental Health Summary Scales: A User`s Manual // The Health Institute, New England Medical Center. Boston, Mass.-1994.
301. Wollert KC, Meyer GP, Lotz J. Bone marrow transfer to enhance ST-elevation infarct regeneration (reported at Plenary Session III: Late Breaking Clinucal Trials, American Heart Association Scientific Sessions 2003; Orlando, Florida, USA: 9-12 November.
302. Wollert KC, Meyer GP, Lotz J. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. // Lancet - 2004 - Vol 364(9429) - P.141-148.

303. Wustmann K, Zbinden S, Windecker S et al. Is there functional collateral flow during vascular occlusion in angiographically normal coronary arteries? *Circulation* 2003; 107: 2213–20.
304. Xu C, Police S, Rao N, Carpenter MK. Characterization and enrichment of cardiomyocytes derived from human embryonic stem cells. // *Circ Res.* – 2002. – Vol. 91. – P. 501-508.
305. Yamanaka S. Strategies and new developments in the generation of patient-specific pluripotent stem cells. *Stem Cell* 2007;1 (1):39-49
306. Yamaguchi A., Adach H., Kawahito K. et al. Left ventricular reconstruction benefits patients with dilated ischemic cardiomyopathy // *Ann. Thorac. Surg.* 2005. Vol. 79. P.456–461.
307. Yla-Herttula S, Rissanen TT, Vajanto I. Vascular endothelial growth factors: biology and current status of clinical application in cardiovascular medicine. *JMCC* 2007; 49: 1015–26.
308. Yoo KJ, Li RK, Weisel RD et al. Autologous Smooth Muscle Cell Transplantation Improved Heart Function in Dilated Cardiomyopathy. // *Ann Thorac Surg.* – 2000. – Vol. 70. – P. 859 –865.
309. Yoon PD, Kao RL, Magovern GJ. Myocardial regeneration: transplanting satellite cells into damaged myocardium. // *Tex Heart Inst J.* – 1995. – Vol. 22. – P. 119-125.
310. Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science* 2007. Dec 21; 318(5858):1917-1920
311. Zile M.R., Brutsaert D.L. New concepts in diastolic dysfunction and diastolic heart failure. Diagnosis, prognosis, and measurements of diastolic function. *Circulation* 2002; 105: 1387-1393