

© Коллектив авторов, 2011
УДК 616.126.32-007-089::616.71-018.46:615.036

В.В. Давыденко, В.В. Гриценко, В.И. Амосов, Б.В. Афанасьев, Н.В. Майоров,
С.В. Лапекин, А.А. Пушкарев, А.П. Литвинов

ОТДАЛЁННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МОНОНУКЛЕАРНОЙ ФРАКЦИИ КЛЕТОК АУТОЛОГИЧНОГО КОСТНОГО МОЗГА В КОМПЛЕКСНОМ ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ С ПОРОКАМИ КЛАПАНОВ СЕРДЦА

ГОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова
Росздрава» (и. о. ректора — д-р мед. наук проф. С.М. Яшин)

Ключевые слова: пороки клапанов сердца, моноклеарная фракция клеток аутологичного костного мозга, перфузия миокарда.

Введение. В последнее десятилетие изучается возможность улучшения перфузии и сократимости миокарда в случаях его ишемии, рубцового изменения и при хронической сердечной недостаточности различной этиологии на основе применения новой медицинской технологии: стимуляции неоангиогенеза, путем введения в миокард различных клеток аутологичного костного мозга [6–12]. Специального исследования по применению метода стимуляции ангиогенеза в комплексном хирургическом лечении больных с пороками клапанов сердца (ПКС) не проводилось, хотя для этой категории больных характерны гипоперфузия миокарда и развитие кардиосклероза. После стандартного хирургического лечения ПКС в зонах рубцовых изменений миокарда, как правило, существенного улучшения перфузии не происходит [3].

Цель настоящей работы — представить данные продолжительного наблюдения за этими больными через (5 ± 2) года после имплантации моноклеарной фракции клеток аутологичного костного мозга (МФКАКМ).

Материал и методы. С этой целью в клинике госпитальной хирургии № 2 ГОУ ВПО СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова Росздрава в 2004–2005 гг., после предварительно проведенного экспериментального исследования, выполнено пилотное клиническое исследование для оценки возможности применения, безопасности и эффективности

интракардиального введения свежесобранной МФКАКМ у больных с ПКС в качестве дополнительной процедуры к стандартному хирургическому лечению.

У 10 больных с ПКС различной этиологии III–IV функционального класса (ФК) хронической сердечной недостаточности (ХСН) (по NYHA), исходно имевших зоны рубцового изменения миокарда с выраженной и резкой гипоперфузией, на начальном этапе операции путем пункций грудины выполнена эксфузия (120 ± 5) мл аутологичного костного мозга с последующим выделением из него методом седиментации $(1,0 \pm 0,3) \times 10^9$ МФКАКМ объемом (20 ± 5) мл, содержащих $(1,4 \pm 0,4)\%$ CD34+. Введение МФКАКМ в миокард осуществлялось после завершения основного этапа операции (протезирования клапанов сердца) путем множественных интрамиокардиальных микроинъекций $(0,1–0,15)$ мл в зоны резкой и выраженной гипоперфузии или вокруг рубцовых тканей, а также интракоронарно с последней кардиоплегией. Непосредственные и ближайшие результаты этого пилотного исследования ранее были опубликованы [3].

К моменту контрольного обследования живыми оставались 7 пациентов. Из них 6 мужчин и 1 женщина в возрасте от 37 до 63 лет — (52 ± 11) лет.

По этиологии, виду ПКС, наличию сопутствующей ИБС и выполненной хирургической коррекции пациенты распределялись следующим образом (табл. 1).

При обследовании пациентов был собран анамнез течения послеоперационного, послегоспитального периода, проанализированы жалобы, выполнен объективный осмотр, лабораторное исследование крови и мочи, рентгенография органов грудной клетки, электрокардиография (ЭКГ), а также эхокардиография (ЭхоКГ) по стандартному протоколу, особое внимание уделялось функции протеза клапана и состоянию миокарда левого желудочка, в частности наличию в зонах введения МФКАКМ очагов патологической эхоплотности. Перфузия и регионарная сократимость миокарда определялась методом однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ) на томографической

Таблица 1

Характеристика обследованных больных — участников пилотного исследования

Скринин- говый номер*	Пол	Возраст на момент обследо- вания, лет	Этиология ПКС	Вид ПКС	Наличие значимых стенозов коро- нарных артерий до операции	Характер кардиохирургического вмешательства
1	М	60	Дегенерация с кальцинозом	АС	Да	Протезирование АК+АКШ+КТ
2	М	37	Инфекционный эндокардит	АН	Нет	Протезирование АК+КТ
4	М	54	Бикуспидальный аортальный клапан	КАП	Нет	Протезирование АК+КТ
5	М	42	ХРБС	КМП	Нет	Протезирование МК+КТ
6	М	48	ХРБС	КМП	Нет	Протезирование МК+КТ
9	М	63	Дегенерация с кальцинозом	КАП	Да	Протезирование АК+АКШ+КТ
10	Ж	61	Инфекционный эндокардит	МН	Нет	Протезирование МК+КТ

Примечание. ПКС — порок клапана сердца; АК — аортальный клапан; МК — митральный клапан; АКШ — аортокоронарное шунтирование; КТ — клеточная терапия — введение МФКАКМ в миокард; АС — аортальный стеноз; АН — аортальная недостаточность; КАП — комбинированный аортальный порок; КМП — комбинированный митральный порок; МН — митральная недостаточность; ХРБС — хроническая ревматическая болезнь сердца.

Здесь и в табл. 2–4: * Регистрационный номер пациента в исследовании.

двухдетекторной гамма-камере «Philips Forte» с использованием радиофармацевтического препарата (РФП) ^{99m}Tc -технетрил («Диамед», Россия). Основой количественной оценки являлось ориентированное в одной плоскости реконструированное изображение миокарда левого желудочка (bull eye). Полученные изображения (полярные перфузионные диаграммы) разделялись на 20 сегментов, позволяющих точно локализовать и количественно оценить характер перфузии. Участки ишемии миокарда визуализируются в виде снижения накопления РФП «дефектов перфузии» по отношению к интактному миокарду. Различали следующие степени нарушения перфузии миокарда: «незначительное снижение» (снижение накопления РФП менее 30% от максимального), «умеренное снижение» (от 30 до 50%), «выраженное снижение» (от 50 до 70%), «резкое снижение» (свыше 70%), соответствующее рубцовым изменениям [5]. По стандартной методике в каждом сегменте количественно оценивались подвижность и систолическое утолщение миокарда.

Трое пациентов (2 мужчин и 1 женщина) умерли через 21, 43 и 52 мес после операции. Данные об этих пациентах и

результаты протоколов патологоанатомического исследования отражены в табл. 2

Результаты и обсуждение. Через 6 лет после операции все обследованные пациенты отмечают улучшение самочувствия. У них зарегистрировано улучшение ФК NYHA (табл.3). 5 пациентов вернулись к трудовой деятельности. Ни у кого из обследованных не было выявлено признаков возникновения злокачественных новообразований в организме.

По данным ЭКГ, у 6 пациентов синусовый ритм, у 1 — нормосистолическая форма фибрилляции предсердий. Улучшение кровоснабжения миокарда отмечено у всех пациентов. По данным ЭхоКГ, у всех пациентов функция искусственного клапана сердца (ИКС) удовлетворительная, у 1 пациента имеет место малозначимая пара-

Таблица 2

Характеристика пациентов — участников пилотного исследования, умерших в послегоспитальном послеоперационном периоде

Скринин- говый номер*	Пол	Возраст на мо- мент смерти, лет	Этиология ПКС	Вид ПКС	Наличие значимых стенозов коронарных артерий до операции	Характер кар- диохирургического вмешательства	Срок смерти после операции (мес)	Причина смерти
3	ж	64	ХРБС	МН	Нет	Протезирование МК+КТ	21	Протезный эндокардит, ССН
8	м	76	ХРБС	КМП	Да	Протезирование МК+АКШ+КТ	43	ОНМК, гипостатическая пневмония
7	ж	62	Дегенерация с кальцинозом	АС	Да	Протезирование АК+АКШ+КТ	52	ОИМ

Примечание. ССН — сердечно-сосудистая недостаточность; ОНМК — острое нарушение мозгового кровообращения; ОИМ — острый инфаркт миокарда.

Таблица 3

Данные клинического и функционального обследования пациентов — участников пилотного исследования до операции и в отдаленные сроки после введения МФКАКМ

Скрининговый номер*	Функциональный класс ХСН (NYHA)		Функциональный класс стенокардии (при обследовании)	ЭКГ (участки коронарной недостаточности, рубцовые изменения)		ЭхоКГ (фракция выброса, %; фракция укорочения, %; функция ИКС)	
	до операции	через 72 мес		до операции	через 72 мес	до операции	через 72 мес
1	III	I	I	Передняя, боковая стенка, рубцовые изменения задней стенки	Рубцовые изменения задней стенки	27, 13	62, 26, не нарушена
2	III	I	I	Передняя стенка	Нет	62, 35	68, 37, не нарушена
5	III	I	Нет	Боковая стенка	Боковая стенка	72, 42	68, 38, не нарушена
6	III	I	I	Нет	Нет	71, 41	64, 35, не нарушена
9	III	I	Нет	Нет	Нет	65, 36	62, 34, не нарушена
10	IV	I	I	Рубцовые изменения задней стенки	Рубцовые изменения задней стенки	71, 41	60, 32, не нарушена**
				Боковая стенка	Нет	73, 43	77, 45, не нарушена

** Гемодинамически незначимая парепротезная фистула, без ухудшения в течение 6 мес наблюдения.

протезная фистула. У всех пациентов отмечена нормализация систолической функции сердца, улучшилась кинетика стенок левого желудочка, а у 3 пациентов исчезли зоны гипокинезии. В толще миокарда левого желудочка у всех пациентов патологических структур не отмечено. По данным ОФЭКТ, у всех пациентов имеет место положительная динамика перфузии и регионарной сократительной способности в областях введения МФКАКМ (табл. 4). Пример выраженной положительной динамики перфузии после введения МФКАКМ в зону рубцового изменения миокарда у пациента со скрининговым номером 1 представлен на рисунке.

По данным патологоанатомического исследования у всех 3 умерших пациентов миокард имел изменения, характерные для основного заболевания, а в областях введения МФКАКМ не было выявлено очагов патологической пролиферации и дифференцировки в несвойственные типы клеток. Злокачественных новообразований в организме умерших пациентов также не обнаружено.

Прошло 10 лет после первой публикации о клиническом использовании интрамиокардиального введения МФКАКМ в лечении хронической ишемии сердца [10]. К настоящему времени в мире накоплен уже довольно значительный опыт использования этих клеток в острую и хроническую стадию инфаркта миокарда, при кардиомиопатии и ХСН, позволивший A.Abdel-Lafit и соавт. [8] представить систематизированные данные и провести метаанализ 18 наиболее полноценных мировых научных исследований, включавших 999 пациентов [7]. В этой работе был сделан вывод, что трансплантация МФКАКМ в миокард при указанной патологии безопасна и способствует улучшению физиологических и анатомических параметров миокарда, улучшает функциональное состояние пациентов и может в дальнейшем входить в стандарты лечения. В клинических исследованиях при интрамиокардиальном введении МФКАКМ было зафиксировано улучшение перфузии поврежденного миокарда [8–12], повышение региональной [8–11] и глобальной [8–12] сократительной способности миокарда, уменьшение конечного диастолического размера левого желудочка и зоны инфарктного рубца [7].

В представленном нами пилотном исследовании у пациентов с ПКС были получены сходные положительные данные в динамике перфузии и регионарной сократительной способности миокарда в зонах с исходной выраженной и резкой гипоперфузией и гипокинезией после введения в них МФКАКМ, как в ближайшие, так и в отдаленные сроки наблюдения. Этот терапевтический эффект связывают как с паракринным действием

Таблица 4

Показатели перфузии и регионарной сократимости в сегментах миокарда, где вводилась МФКАКМ до операции и в отдаленные сроки после операции у пациентов — участников пилотного исследования

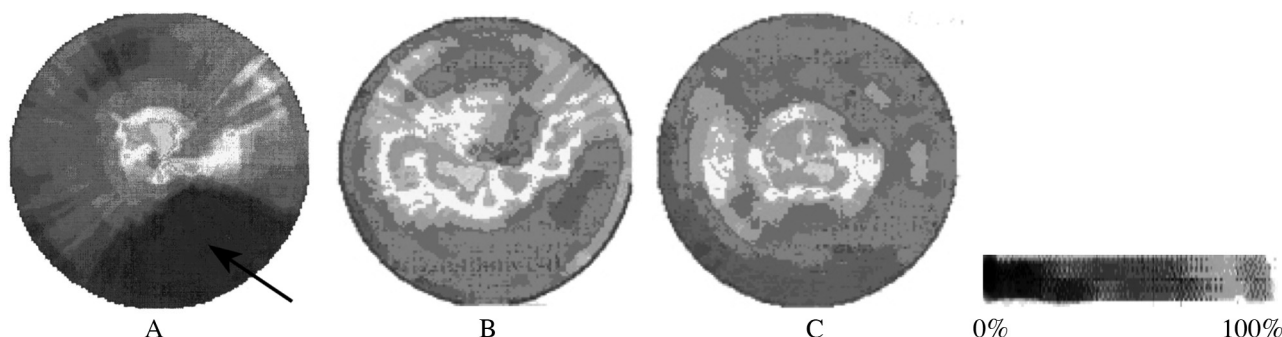
Скрининговый номер*	Возраст, лет	Область введения	Перфузия миокарда в области введения, % от максимального		Кинетика миокарда в области введения (подвижность), % от максимального	
			до операции	через 72 мес	до операции	через 72 мес
1	60	Задняя	35	62	37	47
		Боковая	29	66	36	42
2	37	Верхушка	42	72	55	67
		Боковая	80	84	48	53
4	54	Верхушка	43	76	50	56
		Боковая	40	90	43	46
5	42	Верхушка	60	75	73	76
		Боковая	53	86	50	55
		Задняя	34	67	47	51
6	48	Верхушка	50	74	50	57
		Боковая	76	85	40	44
9	64	Верхушка	60	71	60	69
		Боковая	75	86	57	60
		Задняя	45	62	40	45
10	61	Верхушка	67	77	67	80
		Боковая	47	79	49	58
		Задняя	48	83	55	66

вводимых клеток костного мозга, так и наличием в трансплантате клеток-предшественников эндотелиоцитов, обеспечивающих неоангиогенез и васкулогенез в зоне поврежденного миокарда и уменьшающих гибернацию кардиомиоцитов [6].

Важным остается решение вопроса о безопасности интрамиокардиального введения МФКАКМ, являющейся смесью клеток, включающих как гемопоэтические и мезенхимные стволовые клетки, различные клетки-предшественники, так и уже дифференцированные клетки. В единичных экспериментальных работах на животных были

зафиксированы случаи образования кальцификатов и даже оссификатов, а также ангиоматозных образований в зонах введения МФКАКМ в миокард [4]. Однако во всех клинических исследованиях, включая и данное пилотное исследование, у больных с ПКС таких находок не было, не только по результатам ЭхоКГ, но и по данным морфологического исследования сердец умерших пациентов.

В научной литературе также обсуждается такая проблема клеточной терапии, как возможность малигнизации трансплантированных клеток костного мозга или их способность индуцировать



Динамика перфузионных полярных томосцинтиграмм миокарда левого желудочка у больного А., 60 лет (№ 1) после протезирования аортального клапана, АКШ и интрамиокардиальной трансплантации МФКАКМ в зону постинфарктного рубца.

А — до операции; В — через 12 мес; С — через 72 мес после операции. Стрелка указывает на резкий дефект перфузии задней стенки миокарда левого желудочка в зоне постинфарктного рубца. Шкала перфузии от 0 до 100%.

образование в организме различных онкологических процессов [1]. Такая потенциальная опасность зафиксирована сегодня лишь в эксперименте на животных в отношении трансплантации длительно культивированных мультипотентных мезенхимальных клеток костного мозга, за счет изменения кариотипа клеток [1]. В клинических же исследованиях при использовании МФКАКМ таких данных не зарегистрировано. В нашем пилотном исследовании также ни среди живущих, ни среди умерших пациентов в указанные сроки наблюдения не отмечено возникновения онкологических процессов, что позволяет согласиться с мнением других исследователей о безопасности использования этих клеток для лечения заболеваний сердца.

Представленное исследование носило характер «пилотного», полученные в нем результаты показали воспроизводимость, безопасность и зафиксировали положительный терапевтический эффект от интрамиокардиального введения МФКАКМ больным с ПКС. Однако для окончательного вывода об эффективности и полноценной оценки роли этой технологии в улучшении состояния миокарда и его места в комплексном хирургическом лечении больных с ПКС требуется дальнейшее исследование и проведение следующих фаз научного клинического исследования в соответствии с требованиями доказательной медицины.

Выводы. 1. Дополнение стандартного хирургического лечения больных с ПКС интрамиокардиальным введением МФКАКМ в зоны выраженной и резкой гипоперфузии и рубцового изменения миокарда безопасно.

2. В зонах введения МФКАКМ отмечается улучшение перфузии и регионарной сократимости миокарда в ближайшие и отдаленные сроки наблюдения.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Григорян А.С., Кругляков П.В. Спонтанная злокачественная трансформация мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток в культуре — происходит ли она в действительности? // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. — 2009. — № 4. — С. 78–82.
2. Давыденко В.В. Микрососудистая ишемия миокарда у больных пороками клапанов сердца, современные возможности ее хирургической коррекции (клинико-экспериментальное исследование): Дис. ... д-ра мед. наук. — СПб., 2008. — 312 с.
3. Давыденко В.В., Гриценко В.В., Афанасьев Б.В. и др. Интрамиокардиальная трансплантация мононуклеарных клеток аутологичного костного мозга в комплексном лечении больных пороками клапанов сердца // Вестн. хир. — 2007. — № 3. — С. 16–21.
4. Ларионов П.М., Сергеевичев А.М., Чернявский А.М. и др. Ангиоматоз и эктопическая оссификация в миокарде собак после интрамиокардиальной имплантации аутологичных мононуклеаров костного мозга при экспериментальных заболеваниях коронарных артерий // Бюл. exper. биол. — 2009. — № 5. — С. 644–649.
5. Лишманов Ю.Б., Чернов В.И. Сцинтиграфия миокарда в ядерной кардиологии. — Томск: Изд-во Томск. ун-та, 1997. — 276 с.
6. Pokushalov E., Romanov A., Chernyavsky A. et al. Efficiency of intramyocardial injection of autologous bone marrow mononuclear cells in patients with ischemic heart failure: a randomized study // J. Cardiovasc. Transl. Res. — 2010. — Vol. 3, № 2. — P. 160–168.
7. Смолянинов А.Б., Жаров Е.В., Козлов К.Л., Кириллов Д.А. Основы клеточной и генной терапии сердечно-сосудистых заболеваний. — М., 2005. — 192 с.
8. Abdel-Latif A., Bolli R., Tleyjeh I.M. et al. Adult bone marrow derived cells for cardiac repair: a systematic review and meta-analysis // Arch. Intern. Med. — 2007. — Vol. 167, № 10. — P. 989–997.
9. Beers S.L., Bax J.J., Dibbets-Schneider P. et al. Intramyocardial injection of autologous bone marrow mononuclear cells in patients with chronic myocardial infarction and severe left ventricular dysfunction // Am. J. Cardiol. — 2007. — Vol. 10, № 7. — P. 1094–1098.
10. Charwat S., Lang I., Dettke M. et al. Effect of intramyocardial delivery of autologous bone marrow mononuclear stem cells on the regional myocardial perfusion. NOGA-guided subanalysis of the MYSTAR prospective randomized study // Thromb. Haemost. — 2010. — Vol. 103, № 3. — P. 564–571.
11. 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, № 7. — P. 845–847.
12. Van Ramshorst J., Bax J.J., Beers S.L. et al. Intramyocardial bone marrow cell injection for chronic myocardial ischemia: a randomized controlled trial // JAMA. — 2009. — Vol. 301, № 319. — P. 1997–2004.

Поступила в редакцию 18.05.2011 г.

V.V.Davydenko, V.V.Gritsenko, V.I.Amosov,
B.V.Afanasiev, N.V.Majorov, S.V.Lapekin,
A.A.Pushkarev, A.P.Litvinov

LONG-TERM RESULTS OF USING MONONUCLEAR FRACTION OF AUTOLOGOUS BONE MARROW CELLS IN COMPLEX SURGICAL TREATMENT OF PATIENTS WITH HEART VALVE FAILURE

The article is devoted to long-term results of pilot clinical investigation of using mononuclear fraction of autologous bone marrow cells as an additional procedure to standard surgical treatment of heart valve failure in order to improve local perfusion and contractive ability of the myocardium. The article presents results of an analysis of findings of the examination of 7 living patients within 6 years or 7 years after operation as also data of pathologicoanatomical investigation of three dead patients. The data obtained show the safety and effectiveness of this method of cell therapy in patients with heart valve failure.