

ЦЕНТР ЛАЗЕРНОЙ КАРДИОХИРУРГИИ И НОВЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Проведен сравнительный анализ ангио- и васкулогенного потенциала CD34⁺ клеток и нефракционированных моноклеарных клеток костного мозга при различных вариантах интрамиокардиальной имплантации.

Несмотря на достижения в области хирургии коронарных сосудов сердца, остается значительная группа пациентов, для которых традиционные методы прямой реваскуляризации миокарда не эффективны.

В 2005 г. был выполнен сравнительный морфологический и молекулярно-генетический анализ процессов ангио- и васкулогенеза в миокарде при различных вариантах имплантации моноклеарных или CD34⁺ клеток костного мозга в условиях хронической экспериментальной ишемии с использованием собаки в качестве объекта эксперимента.

Результаты работы

1. Нефракционированные моноклеарные клетки КМ (МККМ) и CD34⁺ клетки стимулируют ангио- и васкулогенез в миокарде. При введении МККМ и CD34⁺ клеток в лазерные каналы плотность сосудов с диаметром до 20 мкм превышала контрольные значения в 3,9 и в 2,8 раз соответственно ($p < 0,05$). При механической инъекции МККМ и CD34⁺ клеток, плотность сосудов увеличивалась в 2,7 и в 1,7 раз соответственно ($p < 0,05$). Таким образом, более выраженный ангиогенный эффект наблюдается при лазерном способе введения нефракционированных МККМ.

2. Формирование лазерного канала в отличие от механической пункции миокарда модулирует тканевое микроокружение, индуцируя увеличение экспрессии хемокинов и ангиогенных факторов в миокарде через 5-6 часов после воздействия. В первом случае, уровень экспрессии мРНК генов SDF, VEGF, Ang1, Ang2 увеличивался по сравнению с контрольным уровнем в 1,6, 5,6, 1,8 и 3,4 раза соответственно ($p < 0,05$), во втором случае статистически значимых различий между экспериментальными и контрольными значениями не выявлено. В последующие четыре недели сохранялся повышенный уровень экспрессии мРНК генов SDF, VEGF, Ang1, Ang2, при этом его значения в группе с имплантацией клеток в лазерные каналы существенно превышали соответствующие значения в группе с интрамиокардиальной инъекций клеток КМ.

3. Данные г-сцинтиграфии с использованием изотопа ^{99m}TcMIBI свидетельствуют, о том что имплантация клеток КМ при помощи инъекции в меньшей степени способствует восстановлению перфузии миокарда, чем имплантация клеток КМ в слепые лазерные каналы (на 30 ± 2 и $85 \pm 25\%$ соответственно).

4. Интрамиокардиальная инъекция нефракционированных моноклеарных клеток КМ на фоне хронического ишемического статуса миокарда может иметь нежелательные последствия, такие как формирование диффузных костных балок, островков хрящевой ткани и массивных очагов кальцификации в эпикарде, подлежащем миокарде и в области рубца.

Кроме того, в 2005 г. проводились эксперименты по оценке жизнеспособности и степени децеллюляризации клапаносодержащих фрагментов аорт с помощью лазерной спектроскопии.

В настоящее время в современной литературе не освещён вопрос морфологической трансформации ткани аорты в ацеллюлярную матрицу, 3D реактор для заселения клеток. Наш морфологический анализ показал, что исходно разнородный материал претерпевает односторонние изменения, диссоциацию кальциевых депозитов обнаруживаемых при гистологическом изучении образцов, а также при сканирующей электронной микроскопии с уточнением характера минерализации – апатитная. Это документировано отсутствием субэндотелиальных линейно-прерывистых депозитов, наблюдаемых во всех нативных аортах, а также глыбчатых депозитов на этапах децеллюляризации 24 и 48 ч. Более того, статистический анализ цифровых данных полученных при рентгеноспектральном изучении образцов тканей аорт, а также результатов флюориметрии, отчетливо продемонстрировал значительное снижение уровня кальция в сочетании с подъемом уровня фосфора.

Потеря кальция тканями гомографтов аорт носит комбинированный характер, как экстрацеллюлярный, так и внутриклеточный.

Также одной из черт односторонней трансформации тканей гомографта поздних этапов децеллюляризации, которую мы охарактеризовали как формирование сетчатой структуры, сопровождалось снижением содержания ядросодержащих клеток (ядерного материала), появлением распростра-

раненного интерстициального отека, набуханием волокон эластического каркаса и образованием трехмерной волокнисто-ячеистой структуры – каркаса за счет потери экстрацеллюлярного матрикса, что подтверждается структурным анализом при растровой микроскопии и по данным флуориметрии с использованием зондов ориентированных на окрашивание ДНК.

Анализ спектров ЛИФ при сопоставлении с гистологическими, флуоресцентными и рентген-спектроскопическими методами позволяет использовать лазерно-индуцированную флуоресценцию для контроля за всеми этапами биотехнологии аортального гомографта.

Несмотря на исходные характерологические различия спектров трупного материала, после

проведения всех биотехнологических этапов по созданию ацеллюлярного гомографта, мы видим, что полный цикл децеллюляризации графтов аорт, приводит к исчезновению 2-го пика в полосе от 420 до 570 нм. Это является следствием декальцификации и элиминации ядерного материала.

Нами показано, что после внесения фрагментов децеллюляризованных аортальных гомографтов в раствор, содержащий суспензию моноклеарных клеток, происходит заселение трехмерного аллогенного экстрацеллюлярного матрикса клетками реципиента. Это говорит о перспективности использования аутологических клеток костного мозга для реконструкции клапаносодержащего аортального графта на этапах биотехнологии гомографта.

ЛАБОРАТОРИЯ ИСКУССТВЕННОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

Научная работа в отчетном году в лаборатории искусственного кровообращения продолжалась по поисковой теме «Проблема экстракорпорального кровообращения в кардиохирургии», в рамках которой были проведены исследования, направленные на совершенствование метода искусственного кровообращения у кардиохирургических больных. Работы проводились совместно с отделом анестезиологии–реаниматологии, группой нейрофизиологии, при активном участии сотрудников клинической лаборатории.

Научная работа

1. Совершенствование методики проведения перфузии у детей раннего возраста;
2. Использование внутриаортальной баллонной контрпульсации у больных ИБС с низкими резервами миокарда;
3. Оценка нейropsychологического статуса у больных ИБС, оперированных в условиях искусственного кровообращения;
4. Влияние условий перфузии на системы организма человека.

Следует отметить, что в рамках совершенствования перфузии у детей раннего возраста в 2005 году впервые в России был использован аппарат Khuri, предназначенный для мониторинга показателя pH миокарда.

Внедрена комплексная программа анестезиологического и реанимационного обеспечения для больных ИБС со сниженной сократительной

способностью миокарда, включающая использование внутриаортальной баллонной контрпульсации (ВАБК) начиная за сутки до оперативного вмешательства, применение холодовой кровяной кардиopleгии, фармакологической поддержки. Сочетание этих методик позволяет в большинстве случаев отказаться от применения кардиотонической поддержки в постперфузионном периоде и снизить летальность до 6% (при расчетной летальности 11% по EuroSCORE).

При изучении гемодинамического профиля больных в исследуемых группах установлено, что использование ВАБК в пред- и послеоперационном периоде при операциях КШ приводит к достоверному увеличению сердечного выброса и индекса потребления кислорода, способствуя более благоприятному течению послеоперационного периода. Также доказано, что использование ВАБК при операциях реваскуляризации миокарда у больных ИБС с низкой ФВ ЛЖ приводит к достоверному снижению активности процессов ПОЛ, способствуя более благоприятному течению послеоперационного периода. Применение водорастворимого антиоксиданта мексидола при операциях реваскуляризации миокарда в условиях ИК оказывает антиоксидантное действие, более выраженное у больных ИБС с фракцией выброса ЛЖ менее 40%.

В совместных исследованиях с группой нейрофизиологии было выявлено, что церебральные функции у больных ИБС снижены из-