

На правах рукописи

РУДЕНКО
Николай Иванович

**ОЦЕНКА РИСКА ВОЗНИКНОВЕНИЯ АРИТМИЙ ПОСЛЕ
СТИМУЛЯЦИИ АНГИО/МИОГЕНЕЗА МЕТОДОМ КЛЕТОЧНОЙ
ТЕРАПИИ У ПАЦИЕНТОВ С РАЗЛИЧНЫМИ СЕРДЕЧНО-
СОСУДИСТЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ**

Сердечно-сосудистая хирургия – 14.00.44

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2006

Диссертационная работа выполнена в Научном Центре
сердечно-сосудистой хирургии им. А. Н. Бакулева РАМН.

Научный руководитель:

академик РАМН, доктор медицинских наук, профессор
Лео Антонович Бокерия

Официальные оппоненты:

член-корреспондент РАМН, доктор медицинских наук, профессор
Александр Васильевич Гавриленко

доктор медицинских наук, профессор **Иван Иванович Скопин**

Ведущая организация:

МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского

Защита диссертации состоится «15» декабря 2006 года в «14-00» часов
на заседании диссертационного совета Д 001.015.01 при Научном
Центре сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева РАМН
(117931, Москва, Рублевское шоссе, 135).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке НЦ ССХ
им. А.Н. Бакулева РАМН.

Автореферат разослан «10» ноября 2006 года.

Ученый секретарь

диссертационного совета

доктор медицинских наук _____ **Д. Ш. Газизова**

Общая характеристика диссертационной работы.

Актуальность проблемы.

Несмотря на значительные достижения в лечении сердечно-сосудистых заболеваний с использованием различных методов хирургической реваскуляризации и медикаментозной терапии, ишемическая болезнь сердца (ИБС) остается ведущей причиной смертности взрослого населения. Увеличивается число пациентов с прогрессирующим течением ИБС, с тяжёлым атеросклеротическим поражением дистального русла коронарных артерий (КА), для которых не могут быть использованы методы прямой реваскуляризации миокарда. Кроме того, актуальным является лечение больных с некоторыми формами врождённых пороков сердца, таких как синдром аномального отхождения левой коронарной артерии от лёгочного ствола, когда в исходе заболевания формируется выраженная дисфункция и аневризма левого желудочка (ЛЖ). Всё это является стимулом к поиску принципиально новых подходов к лечению данной категории больных на основе достижений молекулярной биологии и генетики (Л. А. Бокерия, Е. З. Голухова, М. В. Еремеева, 2002, 2004). В последние 30 лет целью многих исследований стало изучение возможности нормализации кровообращения и сократительной способности миокарда при ИБС путём стимуляции ангио- и миогенеза. На сегодняшний день выполнены и продолжают анализироваться результаты целого ряда исследований в области клеточной терапии.

Однако, при использовании в экспериментальной и клинической практике различных типов клеток (фетальных кардиомиоцитов (ФК), эмбриональных стволовых клеток (ЭСК), мезенхимальных стволовых клеток (МСК), аллогенных и аутологичных скелетных миобластов), в ряде случаев были зарегистрированы нарушения ритма сердца (НРС).

В Научном Центре сердечно-сосудистой хирургии имени А. Н. Бакулева РАМН под руководством академика РАМН Лео Антоновича Бокерия исследования ангиогенеза при ИБС ведутся с 1999 года, а с 2001 года было начато применение генных и клеточных технологий (использование гена VEGF 165, аутологичных клеток-предшественников CD 133+ и ФК) при различных сердечно-сосудистых заболеваниях. В 2003 году в НЦ ССХ им. А. Н. Бакулева РАМН совместно с Международной организацией по клеточной трансплантологии, возглавляемой профессором Р. К. Law, было начато осуществление научно-исследовательского проекта по применению аллогенных скелетных миобластов в лечении больных с ишемической кардиомиопатией. Целью данного исследования явилось определение безопасности, осуществимости и эффективности трансплантации миобластных клеток в качестве дополнения к операции аортокоронарного шунтирования (АКШ). Было выполнено 3 операции АКШ с искусственным кровообращением в сочетании с интрамиокардиальным введением аллогенных скелетных миобластов в перинфарктную зону. В раннем послеоперационном периоде у всех пациентов наблюдались транзиторные ЖНР (желудочковая тахикардия (ЖТ) и/или злокачественные желудочковые экстрасистолы (ЖЭ)), которые были эффективно купированы амиодароном. Других послеоперационных осложнений не было. Один пациент умер от рецидивирующих, некупирующихся медикаментозно и при проведении радиочастотной аблации желудочковых аритмий.

Таким образом, использование клеточных технологий у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями представляет определённые перспективы, но для выяснения эффективности и безопасности этих методов необходимы дальнейшие исследования. Данная тема является

фрагментом целевой комплексной программы «Новые клеточные и генные технологии в кардиохирургии», разрабатываемой в НЦ ССХ им. А.Н. Бакулева РАМН.

Необходимость внедрения клеточных технологий в сердечно-сосудистую хирургию определило выбор **цели исследования**: оценка риска возникновения аритмий при использовании клеточных технологий для стимуляции ангио/миогенеза.

Для достижения поставленной цели были поставлены следующие задачи исследования:

1. Оценить безопасность использования клеточных технологий при лечении пациентов с различными сердечно-сосудистыми заболеваниями с точки зрения возникновения нарушений ритма сердца.
2. Выявить риск возникновения аритмий в зависимости от способа введения стволовых клеток.
3. Определить наиболее оптимальное место введения клеточных препаратов.

Научная новизна исследования.

Впервые в нашей стране проведено исследование, доказывающее безопасность, с точки зрения возникновения аритмий, имплантации плюрипотентных аутологичных клеток-предшественников, экспрессирующих поверхностный антиген CD133+, при различных заболеваниях сердечно-сосудистой системы. Установлено, что частота возникновения жизнеугрожающих нарушений ритма сердца не зависит от факта применения данного типа СК и способа их имплантации. Разработаны оптимальные хирургические методы введения клеточных препаратов и доказана их безопасность. В мировой печати такие данные не встречаются.

Практическая значимость работы.

Нарушения ритма сердца часто встречаются при ИБС и представляют собой одно из наиболее серьезных осложнений, которое определяет исход лечения. Выявить влияние имплантации клеточных препаратов на развитие аритмий в данной ситуации очень важно, так как это позволит применять клеточные технологии при тяжелых заболеваниях сердечно-сосудистой системы (в частности, ИБС, дилатационная кардиомиопатия (ДКМП)). Проведенное исследование доказывает возможность применения СК при этих патологиях, так как результаты работы показали, что при имплантации данного типа клеток различными способами (интракоронарно, интрамиокардиально, трансэндокардиально), риск возникновения аритмий минимален, так как не получено достоверного различия с результатами группы контроля. Возникающие ЖНР во всех случаях успешно купировались лидокаином. В любом случае, при имплантации различных видов стволовых клеток рекомендуется проведение постоянного мониторингирования ЭКГ ближайшем послеоперационном периоде.

Внедрение в практику.

Результаты проведенного исследования, выводы и сформулированные практические рекомендации начинают внедряться в клиническую практику НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН и могут быть рекомендованы для использования в других кардиологических и кардиохирургических центрах.

Апробация диссертации состоялась на объединенной научной конференции НЦ ССХ им. А. Н. Бакулева РАМН 8 июня 2006 года. Материалы исследования доложены и обсуждены на девятой ежегодной сессии НЦ ССХ им. А. Н. Бакулева РАМН с Всероссийской конференцией молодых ученых.

Положения, выносимые на защиту.

Плюрипотентные аутологичные клетки-предшественники, экспрессирующие поверхностный антиген CD133+, могут применяться с целью стимуляции ангио/миогенеза при ИБС, ДКМП без риска возникновения аритмий.

Разработанные методы имплантации данного типа клеток, а именно, интракоронарный, интрамиокардиальный и субэндокардиальный, также являются эффективными и безопасными, то есть могут использоваться при сердечно-сосудистых заболеваниях, характеризующихся низкой сократительной способностью миокарда ЛЖ (например, ИБС, ДКМП).

СК необходимо имплантировать в зону с наличием жизнеспособного миокарда с выявленными дефектами перфузии, а также, в пограничную с рубцом зону для того, чтобы происходило формирование межклеточных контактов и, соответственно, их участие в сокращении миокарда.

Публикации.

Опубликовано 8 печатных работ, из них 1 статья опубликована на глобальном сайте молодых врачей и организаторов здравоохранения <http://info@medplus.org>, а также напечатана в сборнике научных трудов 7-й Международной медицинской научно-практической конференции «Здоровье и образование в XXI веке».

Объем и структура работы.

Диссертационная работа изложена на 145 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, выводов, практических рекомендаций и указателя литературы, включающего 54 отечественных и 130 иностранных источников. Работа содержит 17 таблиц и 21 рисунок.

Основное содержание работы.

Материал и методы исследования.

Во второй главе диссертационной работы представлены материалы и методы исследования. Кроме того, подробно описаны применяемые способы имплантации стволовых клеток, а также методика получения костного мозга. В данном разделе проведена сравнительная характеристика и показано, что пациенты, которым имплантировались стволовые клетки и больные группы контроля, у которых клеточные технологии не применялись, не отличались по клинико-анамнестическим показателям до операции. То есть, группы больных до операции были признаны равнозначными.

Материалом для данного исследования послужили результаты хирургического лечения 46 пациентов прооперированных в НЦ ССХ имени А. Н. Бакулева РАМН с 2003 по 2005 г. Все больные, вошедшие в исследование страдали тяжелыми формами заболеваний, характеризующихся низкой сократительной способностью миокарда, а также высокой степенью операционного риска (ИБС, осложненная формированием ПИА ЛЖ и ДКМП). Возраст больных варьировал от 20 до 72 лет и в среднем составил $46,7 \pm 12,3$ г. В исследование вошло мужчин – 40 (87%), женщин – 6 (13%). Из них 22 пациента подверглись процедуре имплантации плюрипотентных аутологичных клеток-предшественников, экспрессирующих поверхностный антиген CD133+.

СК выделялись из пунктата костного мозга методом магнитной сепарации (Miltenyi Biotec). Костный мозг был получен в каждом случае в количестве 40 мл с помощью пункции верхней задней ости левой подвздошной кости под местной анестезией 2% раствором лидокаина 6,0 мл.

Распределение больных, которым была выполнена имплантация СК, по основному заболеванию было следующим: 12 – ДКМП; 10 – ИБС, осложненная формированием ПИА ЛЖ. Группу контроля составили 24 больных с ПИА ЛЖ, которым СК не вводились.

В зависимости от метода введения СК пациенты были распределены на три группы: 1) CD 133+ вводились интракоронарно (6 больных – 4 ИБС, 2 ДКМП); 2) Интрамиокардиально в ЛЖ со стороны эпикарда (12 больных – 4 ИБС, 8 ДКМП); 3) Субэндокардиально с помощью специальной иглы (4 больных – 2 ИБС, 2 ДКМП).

В 1 группе трем пациентам интракоронарное введение CD 133+ было выполнено в переднюю межжелудочковую ветвь (ПМЖВ) левой КА, двум больным – в правую КА, одному – в коронарный синус. Клеточный препарат вводился во время проведения коронарографического исследования с одновременным созданием окклюзии в коронарном синусе в течении 30 секунд с целью замедления кровотока и улучшения условий имплантации СК. Среднее количество введенных CD 133+ – $1,5 \cdot 10^6 \pm 0,3 \cdot 10^6$ клеток.

2 группа может быть распределена по сочетанию с другими операциями следующим образом:

1) Шести пациентам совместно с процедурой имплантации CD 133+ в околорубцовую область была произведена операция геометрической реконструкции ЛЖ, при этом в 2 случаях совместно с АКШ (при ИБС), в 4 – в сочетании с пластикой МК и ТК (при ДКМП).

2) Четырём больным с ДКМП CD 133+ вводились в сочетании с различными операциями пластики МК и ТК.

3) Двум пациентам с ИБС производилась операция интрамиокардиальной имплантации CD 133+ совместно с ТМЛР.

Во всех случаях CD 133+ были имплантированы интрамиокардиально со стороны эпикарда с помощью инсулиновой иглы во время открытой операции в зоны с жизнеспособным миокардом с выявленными дефектами перфузии. Среднее количество составило $1,7 \cdot 10^6 \pm 0,4 \cdot 10^6$ клеток.

3 группа представлена четырьмя пациентами, которым CD 133+ были введены с внутренней стороны полости ЛЖ с помощью специального катетера посредством использования гибкой системы для интрамиокардиальной пункции с выбросом гибкой иглы. А именно, интрамиокардиально (субэндокардиально) со стороны эндокарда под местной анестезией Sol. Lidocaini 0,5% - 10,0 сначала производится селективная катетеризация ЛКА, ПКА; далее выполняется коронарография с захватом съемки венозной фазы. После чего выполняется ретроградная катетеризация ЛЖ. Далее – смена катетера, под флюороскопическим контролем в полость ЛЖ проводится Gaid катетер 7 F, кончик его устанавливается в определенный участок ЛЖ, в зоне проекции определенной КА. В Gaid катетер вводится гибкая система для интрамиокардиальной пункции с выбросом гибкой иглы (4 мм) и производится введение CD133+. Заключительным этапом выполняется контрольная ЛВГ.

Из 22 пациентов, которые подверглись процедуре имплантации плюрипотентных аутологичных клеток-предшественников, экспрессирующих поверхностный антиген CD133+ инфаркт миокарда (ИМ) отмечался в анамнезе у 10 человек (45,5%). Кроме того, у всех 10 пациентов он осложнился формированием ПИА ЛЖ сердца. Причем, у 6 пациентов передне-перегородочной (60%), а у 4 – задне-диафрагмальной локализации (40%). У 12 пациентов (54,5%) была диагностирована ДКМП.

В группу контроля вошли 24 больных с ПИА ЛЖ сердца. Всем пациентам была выполнена операция АКШ в сочетании с геометрической реконструкцией ЛЖ (у 17 (70,8%) пациентов передне-перегородочной, а у 7 (29,2%) – задне-диафрагмальной локализации ПИА ЛЖ сердца).

При сравнении клинических данных у большинства больных в обеих группах отмечалась стенокардия напряжения и покоя 3 – 4 ФК. В группе с применением СК стенокардия 3 – 4 ФК наблюдалась у 22 (100%) больных. В контрольной группе – у 24 (100%) больных. Недостаточность кровообращения 1 и 2 класса по NYHA встречалась в группе с применением МСК у 10 (45,5%) больных; 3 класса – у 10 (45,5%); 4 класса – у 2 (9,9%) пациентов. В группе контроля у всех пациентов была НК 3 и 4 класса по NYHA (3 класс – 15 (62,5%); 4 класс – 9 (37,5%)). Артериальная гипертензия встречалась с одинаковой частотой как у пациентов с применением СК, так и в группе контроля (16 (72,7%) и 18 (75%), соответственно). То есть, данные группы больных вполне сопоставимы по тяжести состояния и наличию сопутствующих заболеваний.

С целью оценки функционального состояния ЛЖ сердца всем больным выполнялось ЭхоКГ. Сравнительная характеристика основных показателей по данным ЭхоКГ представлена в таблице 1.

Значение	Группа с применением СК	Группа контроля	t
КДО, мл	307,2 ± 54,5	437,1 ± 47	1,8
КСО, мл	222,6 ± 26,7	386,2 ± 32,4	-
УО, мл	87,4 ± 4,8	72,2 ± 4,1	-
ФВ, %	31,4 ± 2,5	27,3 ± 1,8	1,3

*если $t \geq 2$, то $P \geq 95,5\%$, $p < 0,05$ и различие следует считать достоверным

Таблица 1. Основные показатели ЭхоКГ.

Как видно из таблицы, пациенты обеих групп имеют выраженное нарушение сократительной функции ЛЖ. Отмечается значительное увеличение объемных характеристик ЛЖ сердца и снижение ФВ.

Всем больным до операции было проведено коронарографическое исследование. При анализе данных селективной коронарографии выявлено, что в обеих группах преобладают пациенты с многососудистым поражением коронарного русла. Кроме того, в обеих группах отмечено преобладание дистальных форм поражения. В группе с применением СК выявлено, что у 10 пациентов с ИБС 1 КА была поражена у 1 больного; 3 КА – у 2; 4 КА – у 7 (в среднем $3,5 \pm 0,5$ на пациента). У 12 пациентов с ДКМП не было выявлено гемодинамически значимых стенозов. Данные селективной коронарографии в группе контроля: 2 пациента имели поражение 2 КА, 7 – 3 КА, 15 – 4 КА (в среднем $3,5 \pm 0,7$ на пациента).

То есть, существенного различия между группами по степени распространенности поражения коронарных артерий не выявлено, за исключением пациентов с ДКМП.

Таким образом, пациенты обеих групп достоверно не отличались характером течения ИБС.

Сравнительная характеристика данных ХМ ЭКГ до операции представлена на рисунках 1 и 2.

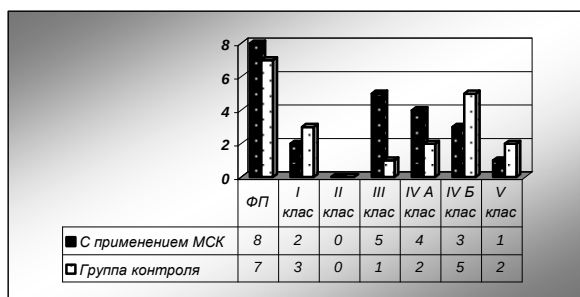


Рисунок 1.

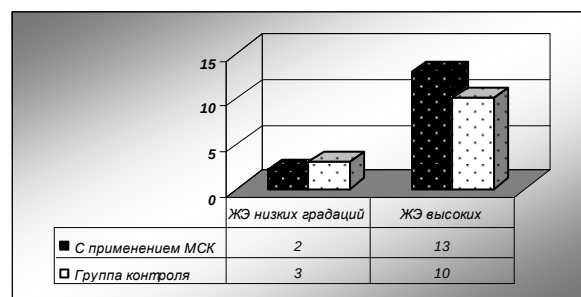


Рисунок 2.

Из представленных выше рисунков (1 и 2) видно, что данные ХМ ЭКГ пациентов обеих групп до операции вполне сопоставимы, достоверной разницы между группами в отношении нарушений ритма сердца выявлено не было.

Методы исследования.

В данном исследовании были использованы следующие методы диагностического обследования больных: рентгенография органов грудной клетки, электрокардиография (ЭКГ), холтеровское мониторирование ЭКГ, эхокардиография (Эхо-КГ), селективная коронарография и левая вентрикулография (ЛВГ), однофотонная эмиссионная компьютерная томография с ^{99m}Tc - тетrafosмином, позитронно-эмиссионная томография. Статистическую обработку всего изучаемого материала проводили при помощи стандартных программ статистического анализа. Для выявления существенных различий между средними значениями различных совокупностей исходно сопоставляемых групп больных применяли критерий Стьюдента t . Если вычисленный критерий t более или равен 2, что соответствует вероятности безошибочного прогноза P , равной или более 95,5%, при этом $p < 0,05$, то разность считалось достоверной.

Глава III. Результаты собственного исследования.

В третьей главе представлены результаты проведенного исследования. Кроме того, в данном разделе показано, что и после операции не было получено достоверного различия между сравниваемыми группами по частоте возникновения аритмий и причинам госпитальной летальности.

В послеоперационном периоде с целью оценки функционального состояния ЛЖ сердца всем больным проводилась ЭхоКГ. В таблице 2 представлены данные основных показателей до и через 3 недели после операции.

	Группа с применением СК		t	Группа контроля		t
	До операции	После операции		До операции	После операции	
КДО, мл	307,2 ± 54,5	225 ± 14,5	1,5	407,1 ± 47	280 ± 57,4	1,7
КСО, мл	222,6 ± 26,7	128,4 ± 34,2	-	386,2 ± 32,4	114,3 ± 12,5	-
УО, мл	87,4 ± 4,8	102,4 ± 6,5	-	72,2 ± 4,1	120 ± 28,7	-
ФВ, %	31,4 ± 2,5	46,1 ± 2	4,8*	27,3 ± 1,8	39,8 ± 2	4,3*

*если $t \geq 2$, то $P \geq 95,5\%$, $p < 0,05$ и различие следует считать достоверным

Таблица 2.

Абсолютный достоверный прирост фракции выброса в группе с применением СК составил 14,7%, в группе контроля (без применения СК) немного меньше – 12,5%. То есть и в том и в другом случае происходит улучшение сократительной способности миокарда ЛЖ сердца.

С помощью однофотонной эмиссионной компьютерной томографии с ^{99m}Tc -тетрофосмином и позитронной эмиссионной томографии миокарда в группе с применением СК были получены следующие данные через 6 месяцев после операции: у всех 12 (54,6%) больных (с обратимыми и частично обратимыми дефектами перфузии, выявленными до операции) отмечается улучшение перфузии. При анализе изменений перфузии у 10 (45,5%) пациентов, у которых до

операции наряду с обратимыми и частично обратимыми дефектами перфузии были выявлены сцинтиграфические признаки рубцовых изменений, также выявлено улучшение перфузии в зонах имплантации СК (СК вводились в области обратимых и частично обратимых дефектов перфузии). Во всех случаях отмечается увеличение систолического утолщения.

Для определения аритмогенности процедуры имплантации стволовых клеток всем больным проведено непрерывное холтеровское мониторирование ЭКГ в течение 72 часов после операции в ОРИТ.

Желудочковые нарушения ритма анализировались с помощью классификации по Lown-Wolf. ЖЭ низких градаций включали 1 и 2 класс по Lown-Wolf; высокие градации ЖЭ — 3, 4а, 4б и 5 классы.

Распространенность ЖНР до и в раннем послеоперационном периоде в 1 группе (CD 133+ вводились интракоронарно) оставалась без перемен.

Во 2 и 3 группе (CD 133+ вводились интрамиокардиально и субэндокардиально, соответственно) ЖНР в первые три дня после операции представлены на рисунке 3. ЖНР в раннем послеоперационном периоде в группе контроля представлены на рисунке 4.

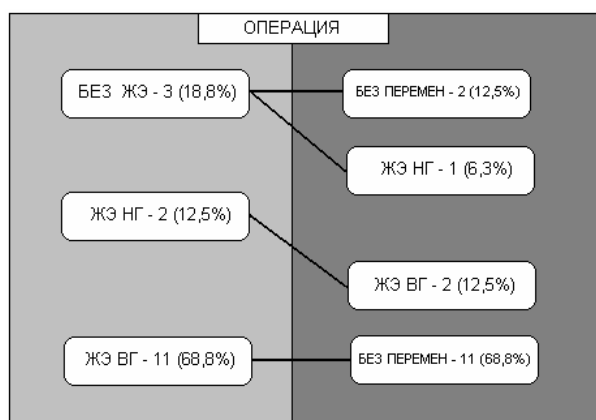


Рисунок 3.

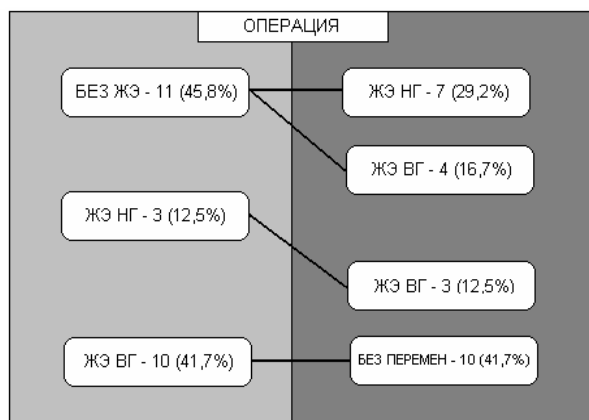


Рисунок 4.

Как видно из рисунка 3, в раннем послеоперационном периоде происходит увеличение ЖЭ ВГ, но по сравнению с дооперационными данными, это различие является случайным ($t = 1$).

В группе контроля (рис. 4) происходит увеличение ЖЭ НГ и ЖЭ ВГ, но различие также недостоверно ($t = 1,4$ и $t = 0,9$, соответственно).

Итак, в первые трое суток п/о ЖЭ НГ и в той и в другой группе переходят в ЖЭ ВГ; ухудшение также отмечается и у тех пациентов, которые не имели ЖЭ до операции. Это может быть связано с многими факторами, например, с операцией реконструкции ЛЖ при ПИА ЛЖ и т.д. Кроме того, в группе контроля наблюдаются более тяжелые нарушения ритма в ранние сроки после операции. Однако, необходимо проанализировать нарушения ритма сердца в отдаленные сроки.

Данные ХМ ЭКГ до и после операции (через 6 месяцев) в группе с применением СК с распределением по подгруппам представлены в таблице 3.

	ФП	I класс	II класс	III класс	IV А класс	IV Б класс	V класс
1 до операции	2 (33,3%)	1 (16,7%)	0	1 (16,7%)	0	1 (16,7%)	0
1 п/о	2 (33,3%)	1 (16,7%)	0	2 (33,3%)	0	0	0
2 и 3 до операции	6 (37,5%)	1 (6,3%)	0	4 (25%)	4 (25%)	2 (12,5%)	1 (6,3%)
2 и 3 п/о	6 (37,5%)	2 (12,5%)	0	5 (31,3%)	1 (6,3%)	4 (25%)	1 (6,3%)

Таблица 3.

Данные ХМ ЭКГ до и после операции (через 6 месяцев) в группе контроля представлены в таблице 4.

Группа контроля	ФП	I класс	II класс	III класс	IV A класс	IV B класс	V класс
до операции	7 (29,2%)	3 (12,5%)	0	1 (4,2%)	2 (8,3%)	5 (20,8%)	2 (8,3%)
после операции	9 (37,5%)	3 (12,5%)	0	3 (12,5%)	2 (8,3%)	3 (12,5%)	2 (8,3%)

Таблица 4.

Как видно из представленных таблиц, спустя 6 месяцев в обеих группах нет достоверного увеличения количества больных с ЖЭ ВГ. В группе контроля увеличилось количество больных с ФП.

Отдаленные результаты: по данным ХМ ЭКГ спустя 1, 2 и с максимальным сроком наблюдения 3 года по сравнению с данными исследований через 6 месяцев особых изменений не произошло.

Структура причин госпитальной летальности представлена в таблице 5.

Причина смерти	С применением МСК (n = 22)	Группа контроля (n = 24)	t
Сердечная недостаточность	n = 2 (9,1%)	n = 2 (8,3%)	0,1
Нарушения ритма	n = 1 (4,5%)	n = 2 (8,3%)	0,6

*если $t \geq 2$, то $P \geq 95,5\%$, $p < 0,05$ и различие следует считать достоверным

Таблица 5. Госпитальная летальность.

Итак, при сравнении равнозначных до операции групп больных не было получено достоверного различия по причинам госпитальной летальности ($t = 0,6$). Также видно, что нарушения ритма сердца в группе контроля приводили к летальному исходу даже чаще (8,3%), чем в группе с применением МСК (4,5%).

Глава IV. Обсуждение полученных результатов и заключение.

Диссертационная работа посвящена оценке риска возникновения аритмий при имплантации мезенхимальных стволовых клеток и является необходимым звеном, которое будет служить распространению клеточных технологий в сердечно-сосудистой хирургии.

В четвертой главе проводится анализ и обсуждение полученных результатов. Делается акцент на необходимость уделить особое внимание безопасности применения стволовых клеток. В данном исследовании было изучено влияние плюрипотентных аутологичных клеток-предшественников, экспрессирующих поверхностный антиген CD133+, на возникновение нарушений ритма сердца. Причиной этого явилось то, что СК способны формировать вставочные диски с кардиомиоцитами реципиента, и, теоретически, могут вызывать аритмии, хотя по данным большинства авторов их имплантация безопасна. Другие же ученые говорят о необходимости продолжения изучения аритмогенных свойств СК, так как данный тип клеток обладает свойствами электрически возбудимых тканей.

Хотелось бы также отметить, что чем ниже сократительная способность миокарда, тем больше вероятность возникновения нарушений ритма сердца. А пациентами, подвергавшимися клеточной терапии и являются больные с низкой сократительной способностью миокарда, то есть уже имеется достаточное количество факторов риска возникновения аритмий. Поэтому, для того, чтобы выявить аритмогенный вклад мезенхимальных стволовых клеток (CD133+), необходимо сравнить группу с применением СК с пациентами группы контроля. А определение риска и частоты возникновения послеоперационных аритмий при имплантации СК различными

методами является очень важной и актуальной проблемой в кардиохирургии, так как это определит исход и эффективность лечения тяжелой категории больных.

В послеоперационном периоде проводилось непрерывное мониторирование ЭКГ в течение нескольких дней. Желудочковые нарушения ритма были проанализированы с помощью классификации по Lown-Wolf.

По данным ХМ ЭКГ распространенность ЖНР до и в раннем послеоперационном периоде в 1 группе оставалась без перемен. Во 2 и 3 группах в раннем послеоперационном периоде происходит увеличение ЖЭ ВГ, но по сравнению с дооперационными данными, это различие является случайным ($t = 1$). В группе контроля также происходит увеличение ЖЭ НГ и ЖЭ ВГ, но различие недостоверно ($t = 1,4$ и $t = 0,9$, соответственно).

Таким образом, можно сделать вывод о том, что в первые трое суток после операции ЖЭ НГ и в той и в другой группе переходят в ЖЭ ВГ; ухудшение также отмечается и у тех пациентов, которые не имели ЖЭ до операции. В связи с этим у данной тяжелой категории больных необходим постоянный мониторинг ЭКГ в первые три дня после операции с целью выявления и своевременного купирования желудочковых нарушений ритма. В данном исследовании ЖНР успешно купировались лидокаином. Но возникновение этих аритмий не связано с имплантацией СК, так как нет достоверного различия с группой контроля. Кроме того, в группе контроля наблюдаются более тяжелые нарушения ритма сердца в ранние сроки после операции. В данном исследовании всем больным при выявлении нарушений ритма в виде ФП и/или желудочковых нарушениях на дооперационном этапе обследования назначалась антиаритмическая терапия с момента

диагностики. Больные, как правило, получали препараты 3 класса антиаритмической терапии (кордарон).

Анализируя данные ХМ ЭКГ в отдаленные сроки после операции и долю жизнеугрожающих нарушений ритма в структуре причин госпитальной летальности, также можно убедиться в отсутствии опасного аритмогенного потенциала у СК.

То есть, имплантация СК как интракоронарно, так и интрамиокардиально (со стороны эпикарда и со стороны эндокарда) при ИБС и ДКМП абсолютно безопасна с точки зрения возникновения жизнеугрожающих аритмий. Это также подтверждается данными ХМ ЭКГ спустя 6 месяцев после операции – в обеих группах не выявлено достоверного увеличения количества больных с ЖЭ ВГ. Наоборот, отмечается перемещение некоторого количества пациентов в группы более низкого класса ЖЭ по Lown-Wolf. Это свидетельствует о положительном эффекте ангиогенного потенциала СК и реваскуляризации миокарда, что вызывает снижение влияния ишемии на возникновение аритмий. Спустя 1, 2 и 3 года нарушений ритма сердца выявлено не было.

Высокий пролиферативный потенциал, способность давать начало кардиомиоцитам и доступность СК подчеркивают необходимость изучения возможности их использования. В настоящем исследовании возможная эффективность применения данного вида клеток подтверждается данными ЭхоКГ, ОФЭКТ с ^{99m}Tc -тетрофосмином и ПЭТ. Видно, что абсолютный прирост ФВ ЛЖ в группе с применением СК составил 14,7%, в группе контроля (без применения СК) – 12,5%.

По результатам ОФЭКТ с ^{99m}Tc -тетрофосмином и ПЭТ миокарда через 6 месяцев после операции в группе с применением СК были получены результаты с улучшением перфузии у всех больных. Кроме

того, о возможности дифференцировки СК в кардиомиоциты свидетельствует увеличение систолического утолщения в областях введения СК.

При оценке результатов причин госпитальной летальности было выявлено, что нарушения ритма сердца в группе контроля приводили к летальному исходу даже чаще (8,3%), чем в группе с применением СК (4,5%), $t = 0,6$.

Таким образом, установлены следующие эффективные и безопасные методы использования плюрипотентных аутологичных клеток-предшественников, экспрессирующих поверхностный антиген CD133+, в сердечно-сосудистой хирургии: интракоронарная и интрамиокардиальная имплантация мезенхимальных стволовых клеток (CD 133+) со стороны эпикарда при открытой операции и со стороны эндокарда с помощью специального катетера посредством использования гибкой системы для интрамиокардиальной пункции с выбросом гибкой иглы. СК необходимо имплантировать в зону с наличием жизнеспособного миокарда с выявленными дефектами перфузии, а также, в пограничную с рубцом зону для того, чтобы происходило формирование межклеточных контактов и, соответственно, их участие в сокращении миокарда. Если же имплантировать СК в рубцовую ткань, то это не приведет к электромеханическому единству, так как из них формируются кардиомиоциты, изолированные от неповрежденного миокарда.

Итак, проведенное исследование продемонстрировало безопасность имплантации плюрипотентных аутологичных клеток-предшественников, экспрессирующих поверхностный антиген CD133+, с точки зрения возникновения аритмий с целью стимуляции ангио/миогенеза при ИБС и ДКМП.

Выводы.

1. Использование плюрипотентных аутологичных клеток-предшественников, экспрессирующих поверхностный антиген CD133+, с целью стимуляции ангио/миогенеза при ИБС, ДКМП является безопасной процедурой с точки зрения возникновения аритмий.
2. Разработанные хирургические методы имплантации стволовых клеток – интракоронарный, интрамиокардиальный и трансэндокардиальная пункция миокарда со стороны полости ЛЖ с выбросом гибкой иглы, не вызывают жизнеугрожающих нарушений ритма сердца. Они могут применяться у данных категорий больных как изолированно, так и в дополнение к радикальным операциям.
3. Наиболее оптимальным местом введения клеточных препаратов является зона с наличием жизнеспособного миокарда с выявленными дефектами перфузии, а также, околорубцовая область.

Практические рекомендации.

1. В связи с тем, что наибольшее возрастание ФВ ЛЖ происходит у больных, которым были имплантированы стволовые клетки и эта процедура безопасна, то следует думать о возможности введения мезенхимальных стволовых клеток в сочетании с радикальными операциями у пациентов со сниженной сократительной способностью миокарда при ИБС и ДКМП.
2. Следует использовать изученные методы имплантации стволовых клеток (интракоронарный, интрамиокардиальный, субэндокардиальный), безопасность которых доказана в настоящем исследовании.
3. Всем больным, которым планируется имплантация любого типа стволовых клеток различными методами, необходимо проводить ХМ ЭКГ до и в раннем послеоперационном периоде с целью выявления возможных нарушений ритма сердца и своевременного их лечения.

Список научных работ, опубликованных по теме диссертации.

1. Бокерия Л. А., Ким А. И., Рогова Т. В., Руденко Н. И. Использование клеточных технологий при синдроме Бланда-Уайта-Гарланда // Сердечно-сосудистые заболевания – 2003 – Т.4, №6.
2. Бокерия Л. А., Ким А. И., Рогова Т. В., Руденко Н. И. Риск возникновения аритмий при аномальном отхождении левой коронарной артерии от легочной артерии после хирургического лечения в сочетании с имплантацией фетальных кардиомиобластов // Сердечно-сосудистые заболевания – 2003 – Т.4, №6.
3. Бокерия Л. А., Руденко Н. И. Зависимость частоты возникновения аритмий от сократительного статуса миокарда при ишемической болезни сердца и необходимость применения стволовых клеток у данной категории больных // <http://info@medplus.org>, 2006 г.
4. Руденко Н.И. Влияние различных реконструктивных операций на гемодинамические параметры при постинфарктной аневризме левого желудочка сердца // Сердечно-сосудистые заболевания – 2003– Т.4, №6.
5. Руденко Н.И. Выбор метода адекватной пластики левого желудочка при постинфарктной аневризме сердца // Вестник Российского Государственного медицинского университета – 2003 – №2 (28).
6. Руденко Н.И. Методы хирургической коррекции постинфарктной аневризмы левого желудочка сердца // Анналы ФПНПК – 2003 – Т.5.
7. Руденко Н.И. Факторы риска возникновения аритмий после операции аорто-коронарного шунтирования в сочетании с геометрической реконструкцией левого желудочка при постинфарктной аневризме сердца // Сердечно-сосудистые заболевания – 2005 – Т.6, №3.
8. Руденко Н.И. Эволюция учения и хирургических вмешательств при постинфарктной аневризме левого желудочка сердца // Научные труды 4-й Межд. науч.-пр. конф. «Здоровье и Образование в XXI веке» –2003.