

на правах рукописи

Какучая Теа Тамазовна

**РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ
В ЛЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ
С ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ**

(Кардиология – 14.00.06)

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Москва – 2009

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

Научные консультанты:

Академик РАМН, профессор, доктор медицинских наук

Бокерия Лео Антонович

Член-корреспондент РАМН, профессор, доктор медицинских наук

Голухова Елена Зеликовна

Официальные оппоненты:

Академик РАМН, член-корреспондент РАН, профессор, доктор медицинских наук, проректор Московского Государственного Университета имени М.В. Ломоносова (специальность «кардиология» - 14.00.06)

Беленков Юрий Никитич

Доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории сочетанной патологии ФГУ Государственного Научно-Исследовательского Центра Профилактической Медицины Федерального Агентства по Высокотехнологичной Медицинской Помощи (специальность «кардиология» - 14.00.06)

Аронов Давид Меерович

Доктор медицинских наук, профессор, руководитель отделения хирургического лечения ишемической болезни сердца НЦ ССХ им.А.Н. Бакулева РАМН (специальность «сердечно-сосудистая хирургия» - 14.00.44).

Алшибая Михайл Дурмишханович

Ведущая организация: Московский Областной Научно-Исследовательский Клинический Институт им. М. Ф. Владимирского

Защита состоится «24» апреля 2009 года в «14.00» часов на заседании диссертационного совета Д001.015.01 по защите диссертаций при Научном Центре сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева РАМН (121552, Рублевское шоссе, дом 135, конференц-зал № 2)

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

Автореферат разослан « » 2009 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,

доктор медицинских наук

Газизова Динара Шавкатовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Генная и клеточная терапия, явившиеся вершиной революционных разработок в области геномики и клеточной биологии, рассматриваются сегодня в качестве новых методов лечения широкого спектра сложных моно- и полигенных заболеваний сердечно-сосудистой системы. Проводятся экспериментальные и клинические исследования по внедрению в поврежденный миокард различных типов донорских клеток – кардиомиоцитов, клеток костного мозга, скелетных миобластов, трансфецированных или не трансфецированных генетическими конструкциями, ответственных за синтез продуктов, регулирующих функцию миокарда (Бокерия Л.А., 2004, Шумаков В.И., 2004, Wollert K., 2005; Dzau V., 2005, Dib N., 2006, Рахмат-Заде Т.М., 2007, Abdel-Latif A., 2007, Panovsky R. 2008, Zohlnhöfer D., 2008, Shujia J., 2008). Указанные методики призваны целенаправленно изменить процессы ремоделирования левого желудочка (ЛЖ) сердца, повлиять на восстановление поврежденных кардиомиоцитов, стимулировать эндогенный ангиогенез и, в конечном счете, улучшить функцию сердечной мышцы. Многие исследователи рассматривают генную и клеточную терапию в качестве дополнения, а в ряде случаев и альтернативы применяемым традиционным хирургическим методам лечения трудно курабельных сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе и дорогостоящим операциям по пересадке сердца (Репин В.С., 1998).

Таким образом, актуальность данной работы очевидна и состоит в оценке возможностей применения клеточных технологий в лечении

пациентов с хронической сердечной недостаточностью ишемического и не ишемического генеза.

Целью исследования являлось изучение возможностей применения клеточных технологий и оценка их эффективности в лечении больных с хронической сердечной недостаточностью (ХСН).

В задачи исследования входили:

1. Оценка безопасности применения имплантируемого материала – аллогенных скелетных миобластов и аутологичных костно-мозговых клеток-предшественников эндотелиоцитов (CD133+) человека

2. Отработка рациональных режимов введения исследуемых клеточных «препаратов»

3. Изучение влияния исследуемых клеточных «препаратов» на процесс ремоделирования камер сердца

4. Оценка паракринных эффектов исследуемых клеточных «препаратов»

5. Анализ отдаленных результатов применения исследуемых клеточных «препаратов»

6. Оценка роли клеточной терапии в структуре современных методов лечения хронической сердечной недостаточности

Научная новизна

Впервые в отечественной медицине обобщен опыт многоэтапного плацебо-контролируемого исследования по оценке эффективности клеточных технологий в лечении пациентов с ХСН различного генеза. Систематизированы вопросы по осуществимости, безопасности и эффективности изолированного использования клеточных технологий в лечении пациентов с ХСН с оценкой отдаленных результатов их

применения. Определены пути дальнейшего совершенствования по использованию клеточных технологий в лечении данной категории больных.

Впервые в мировой научно-исследовательской практике клеточные технологии использованы в лечении пациентов с аномалией Эбштейна с целью регенерации «фиброзно»-измененного миокарда свободной стенки правого желудочка (ПЖ) – его атриализованной части, обратимость ремоделирования которого дискуссионна после традиционной хирургической коррекции порока.

Проведено пилотное исследование с использованием аллогенных скелетных миобластов в сочетании с операциями аортокоронарного шунтирования (АКШ) у пациентов с ХСН ишемического генеза.

Впервые в клинике для оценки эффективности клеточных «препаратов» проведен анализ параметров региональной функции миокарда с помощью таких ультразвуковых методик визуализации как 2-х мерная деформация миокарда и цветовой кинез. Применены современные лабораторные методы исследования для оценки паракринных эффектов клеточных технологий.

Практическая значимость

Разработан алгоритм отбора пациентов для применения клеточных технологий. Создана база данных и единый регистр по использованию клеточных технологий в лечении пациентов с ХСН различного генеза. Проанализированы ближайшие и отдаленные результаты (сроки наблюдения 1г–5 лет, средний период наблюдения $3 \pm 2,8$ года). Выявлены наиболее оптимальные пути введения клеточных препаратов. Обоснована необходимость разработки объективизированной оценки эффективности

применения различных клеточных агентов – электромеханического картирования, позитронно-эмиссионной томографии, магнитно-резонансной томографии миокарда в т.ч. с использованием нанотехнологий.

Реализация результатов работы

Научные положения и практические рекомендации, сформулированные в диссертации Какучая Т.Т., внедрены в клиническую практику и нашли применение в НЦ ССХ им. А.Н. Бакулева РАМН.

Результаты, полученные при выполнении диссертационного исследования, можно рекомендовать в клиническую практику кардиологических и кардиохирургических центров.

Публикации результатов исследования

По теме диссертации опубликованы 32 научные работы.

Апробация диссертационного материала

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на 5-ой ежегодной конференции «Стволовые клетки и перспектива их использования в здравоохранении» в Москве в 2006 году, XIII-XIV Всероссийских съездах сердечно-сосудистых хирургов в 2007-2008гг, XII ежегодной сессии НЦССХ им. А.Н. Бакулева с Всероссийской конференцией молодых ученых в 2008г, 15-м Всемирном конгрессе кардио-торакальных хирургов в Вильнюсе в 2005 году, Европейском конгрессе по сердечной недостаточности в Милане в 2008 году.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 311 страницах, состоит из введения, обзора литературы, клинической характеристики больных и методов

исследования, главы, посвященной результатам собственных исследований и обсуждению полученных данных, заключения, выводов, практических рекомендаций и указателя литературы. Иллюстративный материал представлен 79 рисунками (в т.ч. графиками, диаграммами) и 61 таблицами.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Клиническая характеристика больных и методы исследования

В основу настоящей работы положены результаты применения клеточных технологий у 119 пациентов (с 2003 года по 2008 год): 27 пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС), осложненной ХСН или ишемической кардиомиопатией (ИКМП), 26 пациентов с ХСН не ишемического генеза или с идиопатической дилатационной кардиомиопатией (идКМП) и 66 пациентов с аномалией Эбштейна (АЭ). Пациенты были разделены на две группы – исследуемую группу, которым вводился используемый клеточный материал изолированно или в сочетании с различными операциями и группу плацебо, которым также изолированно или в сочетании с различными операциями вводилась бессывороточная среда точного химического состава, не содержащая компоненты животного происхождения.

Из 27 пациентов с ИКМП, 3 были включены в пилотное исследование с применением аллогенных скелетных миобластов (СКМ) в сочетании с АКШ. Остальные 24 пациента с ИКМП, 26 пациентов с идКМП и 66 пациентов с АЭ были включены в плацебо-контролируемое исследование с использованием аутологичных костно-мозговых предшественников эндотелиоцитов (КМПЭ) CD133+ изолированно или в сочетании с различными операциями.

Все пациенты, включённые в исследование, были отнесены к III-IV ФК ХСН по Нью-Йоркской классификации (NYHA).

В качестве клеточного субстрата были использованы аллогенные СКМ в лечении пациентов с ИКМП (n=3) и аутологичные КМПЭ CD133+ в лечении пациентов с кардиомиопатиями ишемического и не ишемического генеза (n=50) и пациентов с АЭ (n=66).

Аллогенные скелетные миобласты были получены у здоровых доноров мужского пола (возраст 20 ± 9 лет; исследование было одобрено этическим комитетом Международного института клеточной трансплантологии США [директор института Питер Ло], доноры давали согласие об участии в исследовании) и культивированы по специально запатентованной технологии в США в лаборатории класса cGMP/ISO 9001, в результате чего было получено $3,64 \times 10^9$ чистых десмин-иммуно-позитивных миобластов с жизнеспособностью 91,5%, и отрицательной реакцией на наличие эндотоксина, микоплазмы, грам-положительных и грам-отрицательных бактерий из расчета на их использование у 3-х пациентов с ИКМП. Выбор на аллогенные СКМ пал в связи с их потенциальной способностью к интеграции и миогенезу в рубцово-измененном миокарде по данным экспериментальных и предварительных результатов пилотных клинических исследований (Menasche Ph., 1999; Herreros J., 2003; Law P., Sim E., 2003), а также в связи с их большей жизнеспособностью по сравнению с аутологичными клетками пациентов среднего или пожилого возраста. Аллогенные СКМ могут использоваться при наличии инфекционных или генетических заболеваний у реципиентов и позволяют создать банк здоровых клеток, что наряду с быстрой методикой культивирования может обеспечить доступность во времени и пространстве. Тем не менее, в отличие от аутологичных клеток,

применение чужеродных клеток требует проведения иммуносупрессорной терапии. Для иммуносупрессии мы использовали пероральный циклоспорин до и после операции в течении 2-х месяцев.

Аутологичные КМПЭ CD133+ были получены из пунктата костного мозга подвздошной кости пациентов и далее выделены с помощью запатентованной *CLINIMACS* технологии магнитной сепарации (к.б.н. Еремеевой М.В. в лаборатории клеточных технологий НЦ ССХ им.А.Н. Бакулева РАМН), что позволяло получить чистую популяцию клеток CD133+ с высокой выживаемостью (87%) и сохраненными функциями. Время получения чистой популяции CD133+ занимало в среднем 3-4 часа. Введение клеток производилось в аутологичной сыворотке в средней дозе 2×10^6 . Выбор на них пал в связи с быстрой технологией их получения, характеристиками и обнадеживающими результатами рандомизированных клинических исследований (Assmus B., 2006; Erbs S., 2005; Hendrikx M., 2006; Kang H., 2006). По своим характеристикам, это клетки, обладающие паракринными/ангиогенными свойствами, колониеобразующей, миграционной и адгезивной способностью, и дифференцирующиеся во взрослые эндотелиальные клетки. Т.е. они демонстрируют свойства, характерные как для эндотелиальных, так и для гематопоетических клеток. Свидетельства дифференцировки КМПЭ в эндотелиальные клетки, способность интегрироваться в миокард и оказывать паракринное действие (выделять локально действующие субстанции – паракринные факторы, стимулирующие выживаемость клеток и процессы неоваскуляризации) были получены лишь в экспериментальных исследованиях (Chavakis E., 2005). По результатам рандомизированных клинических исследований КМПЭ способствовали нестойкому (до 6 месяцев) улучшению глобальной

сократимости миокарда ЛЖ (наблюдалось достоверное уменьшение конечно-систолического объема и увеличение фракции выброса ЛЖ; достоверных изменений конечно-диастолического объема ЛЖ не отмечалось), уменьшению дефектов перфузии у пациентов с ИКМП и не оказывали влияния на параметры ремоделирования миокарда (Abdel-Latif A., 2007). Поскольку не было получено веских прямых или косвенных доказательств о трансдифференцировке этих клеток в кардиомиоциты, вышеуказанные изменения стали связывать с их паракринным эффектом. Хотя доказательств последнего в клинических исследованиях также пока не получено (Hunting C., 2005; Crisostomo R., 2007; Miller-Kasprzak E., 2007; Burchfield J., 2008).

В качестве плацебо нами использовалась бессывороточная среда точного химического состава (0,45% NaCl, 2,5% D-Glucose, L-glutamine) с физиологическими РН и осмолярностью, не содержащая компоненты животного происхождения, разработанная коммерческим производителем РАА (Austria) в соответствии со строгими международными стандартами GMP для применения в клинических исследованиях.

Обследование пациентов до и после введения привносимого материала проводилось по следующему протоколу:

1. Стандартная электрокардиография (ЭКГ)
2. Тредмил – тест (Bruce protocol)
3. 6-минутный тест с ходьбой
4. Холтеровское мониторирование ЭКГ (ХМ ЭКГ)
5. Рентгенологическое исследование
6. Трансторакальное эхокардиографическое исследование (ЭХОКГ), Трансэзофагеальное ЭХОКГ при необходимости; помимо оценки традиционных показателей при сердечной недостаточности, проводилась

оценка параметров деформации (strain) и скорости деформации миокарда (strain rate) – режимы цветового тканевого доплера по методу 2-х мерной деформации миокарда на аппарате iE33 в динамике до и после введения привносимого материала, а также оценка характера движения миокарда с помощью методики цветового кинеза

7. Радионуклидные методы исследования (ОФЭКТ – однофотонная эмиссионная компьютерная томография миокарда с технецием Tc99m и ПЭТ – позитронно-эмиссионная компьютерная томография миокарда с 18 фтор-дезоксиглюкозой ФДГ)

9. Магнитно-резонансная томография миокарда (МРТ)

10. Коронарография, левая вентрикулография (ЛВГ)

11. В плазме артериальной и венозной крови мы определяли содержание ангиогенных факторов - человеческого васкулоэндотелиального фактора роста *VEGF* (Hu VEGF-165), щелочного фактора роста фибробластов *FGFb*, плацентарного фактора роста *PlGF* – маркера ишемического повреждения миокарда и сосудистого воспаления, ангиогенина (*Angiogenin*), ангиопоэтина-1 (*Angiopoetin-1*), ангиопоэтина-2 (*Angiopoetin-2*); матриксной металлопротеиназы *MMP-9* (цинк-зависимой эндопептидазы); фактора некроза опухоли *TNF- α* (цитокина воспаления) - маркера повреждения тканей и индикатора прогрессирования сердечной недостаточности (СН), антиангиогенного фактора - эндостатина (*Endostatin*); *SDF-1 α* (стромального фактора роста), являющегося необходимым фактором хоуминга костно-мозговых стволовых клеток в ткани сердца и *NTpro-BNP* (конечного неактивного продукта синтеза мозгового предшественника натрийуретического пептида – зрелая форма BNP) - известного маркера прогрессирования СН до и после введения

клеток с помощью иммуноферментного анализа на вертикальном фотометре SUNRISE Tecan (Австрия).

Сроки наблюдения составили 1,3,6,12 месяцев и далее после введения.

Контрольную группу (n=25) составили 10 лиц женского пола и 15 лиц мужского пола (средний возраст $47,0 \pm 17,5$ лет), у которых после проведенного обследования, включавшего стандартную ЭКГ в 12 отведениях, эхокардиографическое исследование и коронарографию было исключено наличие заболеваний сердца. У них также определяли в плазме артериальной и венозной крови содержание вышеуказанных факторов.

Статистическая обработка данных проведена на персональном компьютере с помощью программы «Statistica 6.0 for Windows».

Статистической обработкой материала предусматривалось получение комбинационных таблиц, диаграмм, графиков и аналитических показателей: структуры (р), средних величин (М) и стандартных отклонений ($\pm sd$). В ходе анализа использовались три уровня значимости различий: $p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$ – достоверность различий 95%, 99% и 99,9%.

Для сравнительного анализа различных методов лечения ХСН мы производили расчет показателя NNT (Number Needed to Treat) – количество пациентов, которых необходимо лечить испытываемым вмешательством для предотвращения одного случая нежелательного исхода. Это нормализованный показатель клинической эффективности, позволяющий сравнивать различные методы лечения. Расчет показателя NNT производился следующим образом: определялась разница между уровнями риска нежелательных явлений в группе предполагаемого вмешательства и в группе без применения этого вмешательства; После этого мы находили обратное значение разницы в уровнях риска ($1/\text{разница рисков} \times 100$).

Результаты исследований и обсуждение полученных данных.

О результатах применения аллогенных скелетных миобластов у пациентов с ишемической кардиомиопатией

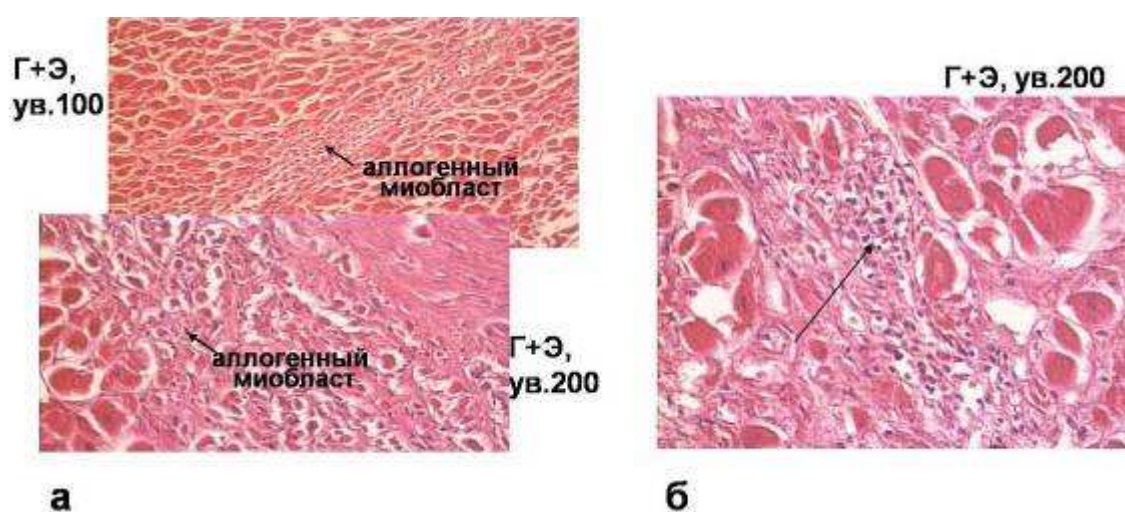
Результаты проведенного НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН в 2003 году в сотрудничестве с Международным институтом клеточной трансплантологии США пилотного исследования по применению аллогенных СКМ в лечении 3-х пациентов с ИКМП (одобренного Президентом РАМН, академиком В. И. Покровским, Ученым советом и этическим комитетом НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН) показали осуществимость процедуры интрамиокардиального введения СКМ в сочетании с операциями АКШ в условиях искусственного кровообращения (ИК). В раннем послеоперационном периоде мы наблюдали развитие жизнеугрожающих желудочковых аритмий у всех пациентов (до операции у пациентов не отмечалось желудочковых нарушений ритма). Один пациент 64 лет, перенесший после операции, рецидивирующие мелкоочаговые инфаркты миокарда (ИМ), умер на 35-е сутки от не купирующихся медикаментозно и с помощью радиочастотной абляции желудочковых аритмий. При световой микроскопии миокарда ЛЖ этого пациента были выявлены интегрированные в рубцы (в местах инъекций) скопления СКМ, наряду с участками их отторжения лимфоцитами, несмотря на адекватную иммуносупрессивную терапию, подтвержденную отсутствием клинико-лабораторных проявлений иммунологического отторжения и адекватным содержанием циклоспорина в плазме крови (рисунок 1).

Рисунок 1.

Световая микроскопия миокарда ЛЖ пациента Н., 64 лет

А – интегрировавшиеся в соединительнотканную прослойку миокарда аллогенные скелетные миобласты (окраска гематоксилином-эозином, наверху – ув. 100, внизу – ув. 200)

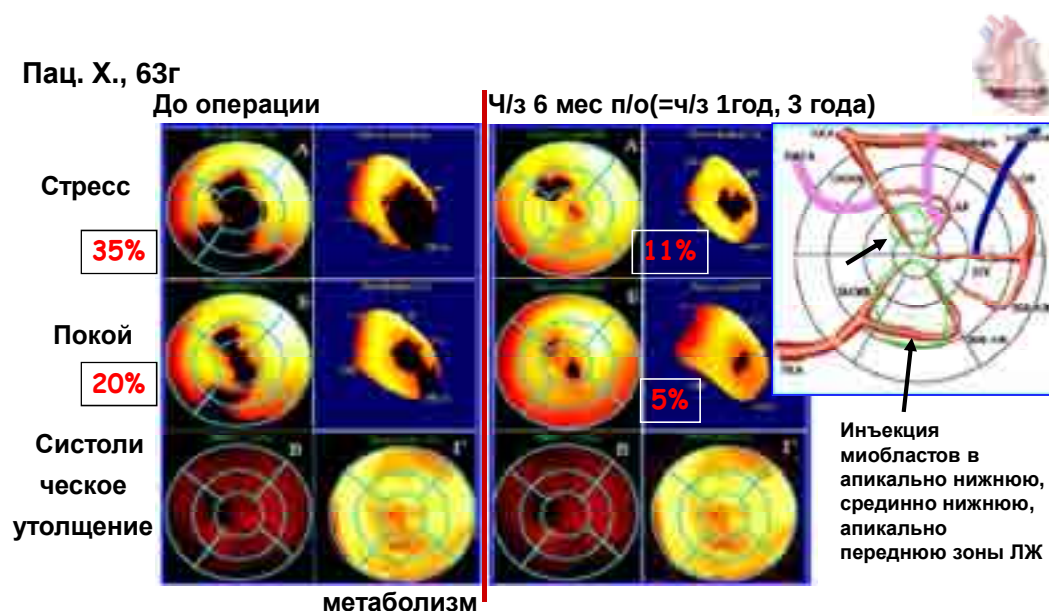
Б – интегрировавшиеся и подвергшиеся отторжению лимфоцитами аллогенные скелетные миобласты (окраска гематоксилином-эозином, ув. 200)



У выживших пациентов желудочковые аритмии были эффективно купированы терапией амиодароном. После отмены амиодарона, прием которого продолжался в течение 6 месяцев, рецидива аритмий не наблюдалось. Субъективно пациенты отмечали отсутствие симптомов стенокардии, наблюдалось значительное увеличение толерантности к физическим нагрузкам, увеличение фракции выброса (ФВ) ЛЖ. По данным ОФЭКТ значительно уменьшилась распространенность дефектов перфузии при нагрузке и в покое в участках, соответствующих зонам имплантации миобластов (рисунок 2).

Рисунок 2.

Динамика перфузии миокарда по данным ОФЭКТ с ^{99m}Tc -тетрофосмином у пациента Х. 63 лет



Таким образом, в нашем исследовании подтвердился аритмогенный потенциал СКМ, наблюдаемый во всех, проводимых до настоящего времени исследованиях после изолированного или сочетанного с АКШ интрамиокардиального введения аутологичных СКМ. Несмотря на это, проводятся многоцентровые исследования случай-контроль с изолированным транскатетерным введением СКМ для лечения пациентов с ИКМП (Smits P., 2003; Siminiak T., Serruys P., 2003). Продолжаются вторая и третья фазы рандомизированных плацебо-контролируемых исследований SEISMIC, MYOHEART и MARVEL, об окончательных результатах которых мы узнаем в 2009 году.

Итак, взвешивая все плюсы и минусы скелетных миобластов на основании собственных наблюдений и результатов рандомизированных исследований отметим следующие особенности:

1) наличие различий электрофизиологических свойств кардиомиоцитов и СКМ. Последние несут в себе аритмогенный потенциал, обусловленный а) особенностями клеточной электрофизиологии, отличной от кардиомиоцитов и б) дефектами образования межклеточных контактов из-за дефицита синтеза белков N-кадгерина и коннексина-43, необходимых для электромеханического сопряжения. (Murry C., 1996; Reinecke H., 2000).

2) после привнесения СКМ в миокард происходит их частичное отторжение и гибель вследствие пока неразгаданного многофакторного процесса (Ye L., 2005). Поэтому некоторыми исследователями рассматривается возможность применения иммуносупрессии даже при использовании аутологичных СКМ (Haider H., 2003). Как и в нашем исследовании, Menasche Ph. (2006г), Dib N. (2005г), Pagani F. (2003, 2006гг) с соавторами был продемонстрирован как факт интеграции СКМ в виде колоний в рубцово-измененный миокард, так и зоны их отторжения.

3) современный уровень развития диагностических методик не позволяет уверенно дифференцировать собственно эффект СКМ, которые часто используются в комбинации с другими хирургическими пособиями, например, АКШ. Так например, после анализа результатов использования СКМ в сочетании с операциями АКШ было приостановлено многоцентровое рандомизированное исследование MAGIC. (Meliga E., 2007).

По данным рандомизированного исследования SEISMIC, оценивающего эффективность и безопасность изолированного трансэндокардиального введения аутологичных СКМ, через 6 месяцев не наблюдалось достоверного улучшения ни глобальной, ни региональной сократимости миокарда ЛЖ по сравнению с контрольной группой, также

как не отмечалось достоверного увеличения толерантности к физическим нагрузкам. Поэтому авторы исследования пока говорят об осуществимости данного вмешательства у пациентов с ИКМП и возможном облегчении симптоматики, но не об эффективности изолированного использования СКМ при ХСН (Nainggolan L., Serruys P., 2008 г).

Таким образом, в настоящее время трансплантация аллогенных СКМ с целью регенерации рубцово-измененного миокарда у пациентов с ИКМП по нашим данным, равно как и по данным зарубежных исследователей осуществима, но не безопасна и не эффективна.

О результатах применения аутологичных клеток-предшественников эндотелиоцитов CD133+ у пациентов с ишемической и идиопатической дилатационной кардиомиопатиями

В исследование по оценке применения аутологичных КМПЭ CD133+ были включены 50 пациентов: 24 пациента с ИКМП и 26 пациентов с иДКМП. Все пациенты относились к III-IV ФК СН по NYHA и отвечали следующим критериям включения и исключения из исследования:

Критериями включения в исследование для пациентов с ишемической болезнью сердца являлись следующие:

- Фракция выброса ФВ ЛЖ $>20\%$ и $\leq 45\%$
- Перенесенный в анамнезе ИМ (рубцовая фаза ИМ или постинфарктный кардиосклероз)
- Невозможность реваскуляризации зоны инфаркта (нешунтабельная и/или непригодная для транслюминальной баллонной ангиопластики коронарная артерия)

- Возможность осуществления реваскуляризации смежных областей миокарда или отсутствие такой возможности
- Наличие рубцовой зоны с жизнеспособным миокардом по данным радионуклидных методов исследования (ОФЭКТ с ^{99m}Tc , ПЭТ с ^{18}F ДГ)
- Согласие больного (пациенты, вошедшие в исследование, подписали информированные согласия)

Критериями исключения из исследования являлись следующие:

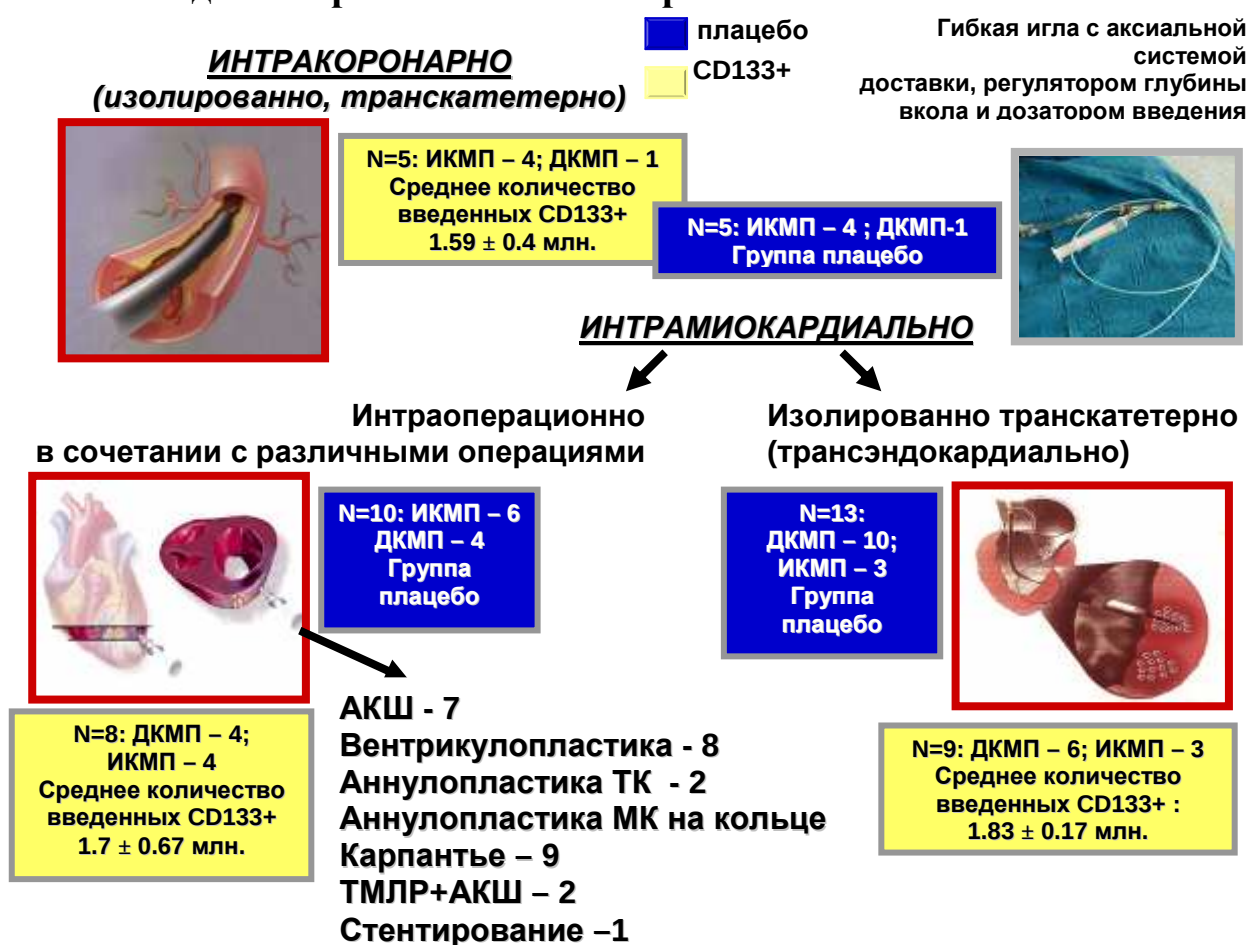
- Острый ИМ
- Недавний (менее 6 недель до начала исследования) инсульт
- Наличие указаний на диагностированные злокачественные новообразования в течение последних 5 лет,
- Выраженная дисфункция почек (мочевина крови > 50 мг/дл, креатинин более или равный $2,5$ мг/дл),
- Выраженная дисфункция печени (аспартатаминотрансфераза, аланинаминотрансфераза в 5 раз превышающие верхнюю границу нормы),
- Иммунокомпрометирующий статус,
- Наличие активной инфекции любого типа,
- Тяжелое легочное заболевание,

Включенные в исследование пациенты с иДКМП имели ФВ ЛЖ $>20\%$ и $\leq 45\%$, и относились к III-IV ФК ХСН по NYHA.

Пациенты были разделены на группы в зависимости от а) вида привносимого материала: аутологичные КМПЭ CD133+ [исследуемая группа] или плацебо [группа плацебо], ***б) способа введения привносимого материала:*** изолированно транскатетерно интракоронарно или трансэндокардиально под флюороскопическим контролем с помощью гибкой иглы с аксиальной системой доставки, регулятором глубины вкола

для интрамиокардиальной пункции (0,3мм) и дозатором введения, разработанной Н.А. Чигогидзе (НЦ ССХ им. А.Н. Бакулева), или интраоперационно трансэпикардиально путем введения привносимого материала в зоны «интереса» с помощью инсулиновых игл в сочетании с открытыми операциями на сердце, выполненными академиком Л.А. Бокерия (рисунок 3).

Рисунок 3. Распределение пациентов по группам в зависимости от способа введения привносимого материала



Дизайн нашего исследования был построен на применении как современных неинвазивных и инвазивных методов обследования пациентов с ХСН для оценки динамики параметров ремоделирования, перфузии и метаболизма миокарда после клеточной терапии, так и оценке целого ряда биомаркеров в плазме крови у пациентов до и после клеточной

терапии в сравнении с группой плацебо с целью выявления возможных паракринных эффектов клеточной терапии. Аналогов подобного дизайна исследования в клинической практике по оценке эффективности клеточной терапии мы не встречали.

Динамика ФК СН и толерантности к физическим нагрузкам (ФН). В послеоперационном периоде в общем в исследуемой группе и группе плацебо отмечалась тенденция к достоверному уменьшению ФК СН и увеличению толерантности к ФН, однако статистически значимой разницы между группами плацебо и исследуемой группой выявлено не было, возможно потому, что 39% пациентам введение клеток осуществлялось в сочетании с различными операциями, что не позволяло адекватно оценивать эффективность собственно клеточной терапии.

Проанализировав результаты динамики толерантности к ФН, мы пришли к выводу, что *для оценки истинной эффективности клеточной терапии достовернее опираться на данные изолированного использования клеточных технологий у пациентов с ИКМП и ДКМП.* При анализе сочетанных вмешательств не представлялось возможным интерпретировать эффекты клеточной терапии вне зависимости от положительных результатов выполненного спектра операций. Поэтому далее мы проанализировали результаты только изолированного транскатетерного интракоронарного и трансэндокардиального введения привносимого материала (n=32).

При отдельном анализе пациентов с ИКМП с введением привносимого материала изолированно, без сочетанных операций до 6 месяцев после данной процедуры наблюдалось достоверное увеличение толерантности к ФН в исследуемой группе по сравнению с плацебо (в сроки через 6 месяцев не отмечалось достоверной динамики толерантности

к ФН по сравнению с таковой в сроки через 3 месяца в исследуемой группе), а через 1 год достоверной разницы между группами не наблюдалось.

При отдельном анализе пациентов с ДКМП с введением привносимого материала изолированно, не наблюдалось достоверной динамики толерантности к ФН по тесту 6-минутной ходьбы как в исследуемой группе, так и в группе плацебо ($p > 0,05$ между исследуемой группой и группой плацебо).

Динамика ЭХОКГ показателей ремоделирования ЛЖ. По данным ЭХОКГ исследований мы наблюдали нестойкую (в течение 3-6 месяцев) динамику достоверного уменьшения объемов ЛЖ с умеренным увеличением ФВ ЛЖ в группе пациентов с ИКМП после изолированного интрамиокардиального введения аутологичных КМПЭ CD133+ по сравнению с группой плацебо. При этом не наблюдалось достоверных изменений других важнейших глобальных индексов ремоделирования, таких как масса миокарда (ММ) ЛЖ и объем левого предсердия (ЛП), и не происходило регресса митральной недостаточности (МН). Через 3 месяца после изолированного интрамиокардиального введения аутологичных КМПЭ CD133+ у пациентов с ИКМП также наблюдалось умеренное, но статистически значимое улучшение региональной сократимости в зонах «интереса» по сравнению с «нелеченными» зонами, группой плацебо и по отношению к исходным значениям. Через 6 месяцев по сравнению с данными от 3 месяцев существенной положительной динамики не отмечалось. В дальнейшие сроки наблюдения (через 1 год и далее) эти изменения нивелировались. После изолированного интракоронарного введения аутологичных КМПЭ CD133+ в группе пациентов с ИКМП не происходило достоверных изменений по сравнению с группой плацебо.

Что касается пациентов с иДКМП, то у них не наблюдалось достоверных изменений индексов ремоделирования ЛЖ (конечного-диастолического размера КДР и конечно-диастолического объема КДО ЛЖ, ММ ЛЖ и объема ЛП), соответственно ФВ ЛЖ и МН как после изолированного интрамиокардиального введения, так и после интракоронарного введения аутологичных КМПЭ CD133+ по сравнению с группой плацебо.

Кроме того, как у пациентов с ИКМП, так и у пациентов с иДКМП не наблюдалось достоверного изменения индекса производительности миокарда (MPI – myocardial performance index или index Tei) – доплеровского параметра, используемого для оценки систоло-диастолической функций левого и правого желудочков, независимого от частоты сердечных сокращений, артериального давления и от геометрической конфигурации сердца, и высоко коррелирующего с инвазивными параметрами ХСН (Arnlov J., 2004; Mikkelsen K., 2006; Kirkpatrick J., 2007). Он рассчитывается как отношение суммы времени изоволюметрического сокращения и времени изоволюметрического расслабления к времени изгнания соответственно ЛЖ или ПЖ.

Динамика перфузии и метаболизма миокарда по данным ОФЭКТ и ПЭТ. Прежде чем изложить результаты этих исследований, следует отметить, что пациентам с ИКМП изолированное транскатетерное трансэндокардиальное введение привносимого материала осуществлялось на основании результатов ОФЭКТ и ПЭТ миокарда в зоны рубцово-измененного, но жизнеспособного миокарда и зоны ишемии в 79% случаев, а в 21% случаев - в зоны нежизнеспособного миокарда. На основании данных этих исследований 93% пациентам ИКМП изолированное транскатетерное трансэндокардиальное введение привносимого материала осуществлялось в задне-боковые сегменты ЛЖ, 57% - в задне-нижние

сегменты ЛЖ помимо задне-боковых сегментов и 64% в верхушечные сегменты ЛЖ наряду с задне-боковыми сегментами ЛЖ. Таким образом, в нашем исследовании не было случаев трансэндокардиального введения привносимого материала в переднюю стенку миокарда ЛЖ у пациентов с ИКМП.

Изолированное транскатетерное интракоронарное введение привносимого материала осуществлялось у 8 пациентов с ИКМП – в 4-х случаях в ПМЖВ - переднюю межжелудочковую артерию (во всех случаях отмечались стенозы ПМЖВ в с/З от 95% до 99%) и в 4-х случаях в ПКА - правую коронарную артерию (во всех случаях отмечалась окклюзия д/З ПКА и стенозы с/З ПКА от 75 до 99%).

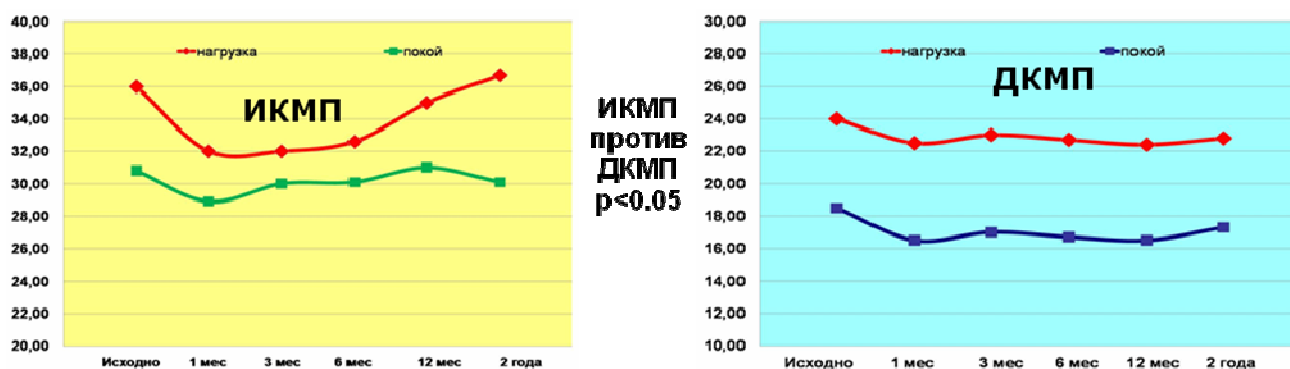
Пациентам с иДКМП изолированное транскатетерное трансэндокардиальное введение привносимого материала осуществлялось на основании результатов ОФЭКТ, ПЭТ миокарда и ЛВГ – в зоны с дефектами перфузии, нарушениями метаболизма и наиболее выраженным гипокинезом. Исходно для этих пациентов характерным являлось наличие зон с умеренным снижением перфузии и метаболизма миокарда, свидетельствующее о наличии фиброзированного и в то же время жизнеспособного миокарда на фоне глобального снижения сократительной способности ЛЖ с диффузным гипокинезом стенок. На основании данных этих исследований 100% пациентам с иДКМП изолированное транскатетерное трансэндокардиальное введение привносимого материала осуществлялось в задне-диафрагмальные сегменты ЛЖ, а 44% пациентам – помимо задне-диафрагмальных сегментов в передне-боковой и верхушечный сегменты ЛЖ. Введение в зону межжелудочковой перегородки не производилось ни пациентам с ИКМП, ни пациентам с иДКМП ввиду известной уязвимости этой области - высокой вероятности

возникновения жизнеугрожающих аритмий. Двум пациентам с иДКМП введение привносимого материала осуществляли интракоронарно в систему левой и правой коронарных артерий – ПМЖВ и ПКА.

Результаты анализа данных ОФЭКТ и ПЭТ показали, что после изолированного использования аутологичных КМПЭ CD133+ у пациентов с ИКМП и ДКМП:

- Перфузия миокарда умеренно, но достоверно улучшалась после изолированного интрамиокардиального введения клеточных препаратов CD133+ в зоны дефектов перфузии с жизнеспособным миокардом у 79% пациентов ИКМП в отличие от пациентов с иДКМП и в отличие от интрамиокардиального введения плацебо при ИКМП и иДКМП (рисунок 4).

Рисунок 4. Динамика величины дефектов перфузии (%) исходно и в различные сроки после изолированного интрамиокардиального введения КМПЭ CD133+



- Перфузия миокарда достоверно не менялась при интракоронарном способе введения CD133+ у пациентов с ИКМП и иДКМП, так же как не менялась при интракоронарном способе введения плацебо у этих пациентов.

- Достоверное улучшение перфузии у 79% пациентов ИКМП отмечалось в «леченных» сегментах (преимущественно на нагрузке, меньше в покое) с исходно умеренным и значительным снижением перфузии, но сохранным метаболизмом $^{18}\text{ФДГ}$, к 3-6 месяцам после изолированного интрамиокардиального введения CD133+ по сравнению с плацебо. Через 1 год этот эффект нивелировался. В «не леченных» сегментах перфузия не менялась.
- У 21% пациентов с ИКМП, которым изолированное интрамиокардиальное введение аутологичных КМПЭ CD133+ производилось в зоны дефектов перфузии с нежизнеспособным миокардом по данным ПЭТ, достоверных изменений метаболизма не наблюдалось как в самой группе по сравнению с исходными значениями, так и по сравнению с группой плацебо
- Процент жизнеспособных и нежизнеспособных сегментов по данным ПЭТ достоверно не менялся после клеточной терапии по сравнению с плацебо.

Динамика биомаркеров – ангиогенных факторов и маркеров ХСН.

В плазме артериальной и венозной крови мы определяли 11 биомаркеров у 4-х групп пациентов: 1) в здоровой группе (n=25; средний возраст $47 \pm 17,5$ лет), 2) исследуемой группе (n=14; средний возраст $55,3 \pm 13,4$ лет) до и после изолированного интрамиокардиального введения КМПЭ CD133+ и 3) группе плацебо (n=18; средний возраст $51,7 \pm 15,3$ лет) до и после изолированного интрамиокардиального введения плацебо, а также 4) в группе пациентов с ИБС с ФВ ЛЖ $>50\%$ до и после операций АКШ без ИК или стентирования коронарных артерий (n=36; $61,3 \pm 8,6$ лет).

Через 14 дней после изолированного транскатетерного интрамиокардиального введения аутологичных КМПЭ CD133+

(исследуемая группа) мы наблюдали достоверное увеличение концентрации SDF-1 α и VEGF и снижение концентрации PlGF в венозной крови. При отдельном анализе динамики биомаркеров в подгруппах пациентов с ИКМП и иДКМП оказалось, что у пациентов с иДКМП наблюдалось достоверное повышение концентрации в плазме крови SDF-1 α наряду с достоверным повышением концентрации NT-proBNP, а у пациентов с ИКМП наблюдалось лишь достоверное снижение концентрации PlGF, при этом концентрация NT-proBNP у них не менялась. В группе плацебо каких либо изменений не отмечалось. При сравнительном анализе послеоперационной (в сроки через 14 дней после изолированного введения привносимого материала) концентрации биомаркеров в исследуемой группе и группе плацебо, в исследуемой группе достоверно выше были показатели SDF-1 α и VEGF. Однако при сравнительном анализе послеоперационной концентрации биомаркеров у пациентов 2-х подгрупп в исследуемой группе – ИКМП и иДКМП, оказалось, что у пациентов с иДКМП достоверно выше были послеоперационные концентрации Angiopoetin-2, SDF-1 α и NT-proBNP чем у пациентов с ИКМП, различий в концентрации других показателей выявлено не было.

При оценке дальнейшей динамики наблюдавшихся изменений концентраций SDF-1 α , VEGF, PlGF, NT-proBNP и Angiopoetin-2 в исследуемой группе после изолированного и/миокардиального введения CD133+, оказалось, что в сроки через 1 месяц после данной процедуры нивелировались изменения концентраций SDF-1 α , VEGF и Angiopoetin-2 в подгруппе иДКМП, а изменения концентрации PlGF в подгруппе ИКМП – через 3 месяца. Концентрация NT-proBNP в исследуемой группе и группе плацебо достоверно не менялась (**таблица 1, 2**).

Таблица 1. Сравнительная динамика концентраций NT-proBNP, VEGF, Angiopoetin-2, PlGF и SDF-1 α в различные сроки после изолированного транскатетерного интрамиокардиального введения КМПЭ CD133+ и плацебо

Показатели	Исходно	Через 14 дней после операции	Через 1 мес после операции	Через 3 мес после операции	Через 6 мес после операции	Через 1 год после операции
NT-proBNP (fmol/ml)						
Исследуемая группа	139,7 $\pm$ 40,1	168,48 $\pm$ 26,3	158,25 $\pm$ 65,4	159,25 $\pm$ 63,4	160,49 $\pm$ 45,32	162,53 $\pm$ 46,2
Плацебо	148,2 $\pm$ 39,6	168,5 $\pm$ 26,5	179,9 $\pm$ 36,3	173,9 $\pm$ 37,3	172,02 $\pm$ 36,45	171,5 $\pm$ 36,8
VEGF (нг/мл)						
Исследуемая группа	0,069 $\pm$ 0,013	0,139 $\pm$ 0,05*‡	0,062 $\pm$ 0,013 $\frac{ }{\ddagger}$	0,064 $\pm$ 0,012	0,063 $\pm$ 0,013	0,069 $\pm$ 0,013
Плацебо	0,098 $\pm$ 0,012	0,013 $\pm$ 0,007	0,015 $\pm$ 0,013	0,016 $\pm$ 0,012	0,091 $\pm$ 0,009	0,095 $\pm$ 0,012
Angiopoetin-2 (нг/мл)						
Исследуемая группа	5,6 $\pm$ 1,4	6,2 $\pm$ 1,4	6,4 $\pm$ 1,2	6,3 $\pm$ 1,5	5,9 $\pm$ 1,3	5,6 $\pm$ 1,4
Плацебо	6,9 $\pm$ 4,9	10,2 $\pm$ 2,4	6,5 $\pm$ 1,5	6,2 $\pm$ 1,6	6,2 $\pm$ 1,4	6,9 $\pm$ 3,7
PlGF (нг/мл)						
Исследуемая группа	0,042 $\pm$ 0,011*	0,02 $\pm$ 0,012‡	0,029 $\pm$ 0,011	0,039 $\pm$ 0,012 $\frac{ }{\ddagger}$	0,04 $\pm$ 0,009*	0,042 $\pm$ 0,001*
Плацебо	0,027 $\pm$ 0,0064	0,023 $\pm$ 0,003	0,025 $\pm$ 0,003	0,026 $\pm$ 0,0062	0,025 $\pm$ 0,006	0,026 $\pm$ 0,0064
SDF-1α (нг/мл)						
Исследуемая группа	2,61 $\pm$ 0,38	3,1 $\pm$ 0,75*‡	2,6 $\pm$ 0,29 $\frac{ }{\ddagger}$	2,6 $\pm$ 0,39	2,58 $\pm$ 0,40	2,6 $\pm$ 0,40
Плацебо	2,63 $\pm$ 0,61	2,61 $\pm$ 0,29	2,53 $\pm$ 0,46	2,63 $\pm$ 0,59	2,63 $\pm$ 0,59	2,58 $\pm$ 0,60

$\frac{||}{\ddagger}$ p<0,05 по сравнению с предыдущей ячейкой

‡ p<0,05 по сравнению с исходным

*p<0,05 между исследуемой группой и плацебо

Таблица 2. Сравнительная динамика концентраций вышеуказанных показателей в различные сроки после изолированного транскатетерного интрамиокардиального введения КМПЭ CD133+ у пациентов с ИКМП и иДКМП

ПОКАЗАТЕЛИ В ИССЛЕДУЕМОЙ ГРУППЕ	Исходно	Через 14 дней после операции	Через 1 мес после операции	Через 3 мес после операции	Через 6 мес после операции	Через 1 год после операции
NT-proBNP (fmol/ml)						
ДКМП	186,45 $\pm$ 42*	230,2 $\pm$ 25,9*	198,25 $\pm$ 35,4*	198,25 $\pm$ 35,4*	189,49 $\pm$ 45,32*	182,53 $\pm$ 46,2*
ИКМП	64,4 $\pm$ 20,1	92,7 $\pm$ 18,1	79,9 $\pm$ 16,3	79,9 $\pm$ 16,3	82,02 $\pm$ 26,45	85,5 $\pm$ 16,5
SDF-1α (нг/мл)						
ДКМП	2,76 $\pm$ 0,36*	3,42 $\pm$ 0,62*‡	2,67 $\pm$ 0,45 $\frac{ }{\ddagger}$ *	2,7 $\pm$ 0,29*	2,73 $\pm$ 0,31*	2,69 $\pm$ 0,33*
ИКМП	2,32 $\pm$ 0,29	2,41 $\pm$ 0,54	2,5 $\pm$ 0,25	2,37 $\pm$ 0,5	2,49 $\pm$ 0,5	2,39 $\pm$ 0,27
Angiopoetin-2 (нг/мл)						
ДКМП	7,37 $\pm$ 1,9*	7,9 $\pm$ 1,9*	6,4 $\pm$ 1,6*	6,2 $\pm$ 1,7*	5,9 $\pm$ 1,7*	7,2 $\pm$ 1,4*
ИКМП	2,4 $\pm$ 0,8	2,7 $\pm$ 0,84	3,5 $\pm$ 0,5	3,4 $\pm$ 0,7	3,2 $\pm$ 0,64	3,5 $\pm$ 0,57
PlGF (нг/мл)						
ДКМП	0,03 $\pm$ 0,011	0,023 $\pm$ 0,01	0,023 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,013	0,02 $\pm$ 0,015	0,029 $\pm$ 0,011
ИКМП	0,064 $\pm$ 0,01*	0,015 $\pm$ 0,009‡	0,017 $\pm$ 0,01	0,059 $\pm$ 0,01 $\frac{ }{\ddagger}$ *	0,061 $\pm$ 0,02*	0,063 $\pm$ 0,009*

*p<0,05 между иДКМП и ИКМП

Остальные символы означают, то же, что и в таблице 1.

Вышеуказанные результаты означают, что у пациентов с иДКМП аутологичные КМПЭ CD133+ попадают в кровоток, что отражается повышением концентрации SDF-1 α у этих пациентов, так как из-за сниженной активации факторов хоуминга в ткани сердца они не мигрируют т.е. не попадают в зоны поражения сосудистого эндотелия и миокарда (поэтому мы и наблюдаем увеличение содержания SDF-1 α в крови при отсутствии или значительном снижении их экспрессии в миокарде, в отличие от пациентов с ИКМП), что подтверждается клиническими данными, объективными и лабораторными методами обследования, частотой госпитализаций и выживаемостью в ближайшем и отдаленном периодах. Т.е. указанная терапия не приводила к какому-либо торможению или регрессу ремоделирования миокарда у этих пациентов. Вышеуказанные изменения концентрации SDF-1 α нивелировались в сроки через месяц после изолированного введения, возвращаясь к исходным значениям, которые, тем не менее, были значимо выше, чем у пациентов с ИКМП, и по сравнению с нормой.

У пациентов с ИКМП наблюдалось только достоверное снижение концентрации PlGF после изолированного интрамиокардиального введения аутологичных КМПЭ CD133+, которая исходно у них была значимо больше чем у пациентов с ДКМП. Это является прогностически благоприятным признаком, поскольку в настоящее время доказано и нами также было продемонстрировано, что концентрация этого специфического для ИБС маркера сосудистого воспаления и проангиогенного фактора прогрессивно возрастает по мере увеличения ФК СН по NYHA ($p=0,00012$), достоверно коррелирует с NT-proBNP ($r=0,56$, $p=0,015$) и с ФВ ЛЖ ($r=-0,56$, $p=0,023$). Тем не менее, в послеоперационном периоде корреляции PlGF с NT-proBNP не наблюдалось, возможно, из-за того, что

1) в сроки через 14 дней не происходило достоверного снижения КДО, КДД и ММ ЛЖ, чтобы уменьшился выброс NT-proBNP, и 2) снижение концентрации PlGF нивелировалось через 3 месяца после введения CD133+.

Вышеизложенное свидетельствует о том, что у пациентов с ИКМП CD133+ мигрируют и попадают в зону повреждения миокарда (о чем свидетельствует достоверно более низкая концентрация фактора хоуминга SDF-1 α в крови по сравнению с пациентами с ДКМП) вследствие более высокой активности экспрессии факторов хоуминга в рубцово-измененном миокарде в отличие от миокарда пациентов с иДКМП, что выражалось в достоверном снижении концентрации PlGF и положительной клинической динамике, результатах ЭХОКГ и данных перфузии миокарда в сроки через 1-3 месяца. Через 6 месяцев указанные эффекты нивелировались.

Таким образом, после однократного изолированного транскатетерного интрамиокардиального введения аутологичных клеточных препаратов CD133+ в средней дозе 2×10^6 у больных с ИКМП отмечалось умеренное достоверное улучшение перфузии в «леченных» сегментах в отличие от «не леченных» сегментов и по сравнению с изолированным интрамиокардиальным введением плацебо. Введение клеточных препаратов способствовало достоверному уменьшению объемов ЛЖ с умеренным увеличением ФВ ЛЖ в сроки до 6 месяцев после данной процедуры. В то же время не претерпевали значимых изменений такие показатели ремоделирования как ММ ЛЖ, доплеровский индекс производительности миокарда, объем ЛП и митральная недостаточность.

Оценивая паракринную активность клеточных препаратов CD133+ после однократного изолированного интрамиокардиального их введения у

больных с ИКМП отметим их ограниченную эффективность и непродолжительное действие. У больных с ДКМП указанные эффекты представлены еще более скромно, что может быть связано с отсутствием активации факторов хоуминга в миокарде. Дальнейшие исследования должны открыть причины указанных изменений на молекулярном и клеточно-тканевом уровнях.

Выживаемость, частота госпитализаций и сравнение с другими методами лечения ХСН. За 5-летний период наблюдения в течение 1-го года после операций изолированного интракоронарного/интрамиокардиального введения привносимого материала в исследуемой группе процент выживших составил 77%, а в группе плацебо – 80% ($p=0,67$). Соответственно летальность в исследуемой группе составила 23%, а в группе плацебо – 20% ($p=0,81$). Из них, как в исследуемой группе, так и в группе плацебо по одному летальному исходу приходилось на пациентов с ИКМП – смерть наступала от прогрессирующей ЛЖ недостаточности, урежения сердечного ритма и фибрилляции желудочков. Остальные летальные исходы наблюдались у пациентов с иДКМП (возраст составил от 22 до 48 лет) – они умерли от внезапной сердечной смерти.

За период наблюдения после выписки из НЦ ССХ им. А. Н. Бакулева высокой была частота госпитализаций выживших пациентов в связи с декомпенсацией СН (33% ч/з месяц и 50%-55% ч/з 1 год в обеих группах).

Для оценки эффективности клеточной терапии с использованием аутологичных КМПЭ CD133+ в лечении пациентов с ХСН III-IV ФК по НУНА ишемического и неишемического генеза по сравнению с другими современными методами лечения ХСН, мы сочли целесообразным

рассчитать показатель NNT для летальности и частоты госпитализаций. При сравнительном анализе нормализованных показателей $NNT_{\text{летальность}}$ и $NNT_{\text{частота госпитализаций}}$ (см. раздел «статистической обработки») для АКШ, сердечной ресинхронизирующей терапии и клеточной терапии с использованием аутологичных КМПЭ CD133+ с изолированным медикаментозным лечением у соответствующей категории пациентов в течение 1-5 лет, оказалось, что клеточная терапия имеет достаточно скромные результаты. (таблица 3). В любом случае в лечении столь тяжелого контингента больных, необходим гибридный комплексный подход, предусматривающий оптимизацию терапевтического лечения, клеточной кардиомиопластики, хирургических и интервенционных пособий.

Таблица 3. Сравнительный анализ использования клеточных препаратов CD133+ и других современных методов лечения ХСН по показателям NNT для летальности и частоты госпитализаций

Вид лечения	Оцениваемые результаты в сравнении с контрольной группой (изолированное медикаментозное лечение)	Длительность лечения (годы)	NNT	95% ДИ
АКШ/АКШ+вентрикулопластика при 3-х сосудистом поражении коронарных артерий и ФВ ЛЖ<45% [ХСН ишемического генеза]	Летальность	1 год/5 лет	15/11	8 – 16
	Частота госпитализаций	1 год/5лет	13/10	8 – 14
Сердечная ресинхронизирующая терапия (±ИКВДФ) у пац-в с III-IV ФК по NYHA, ФВ ЛЖ<35%, QRS>120мсек [пациенты с ХСН ишемического и неишемического генеза]; ИКВДФ при классе I показаний к ИКВДФ	Летальность	1год/3 года	13/7	5 – 44
	Частота госпитализаций	1год/3 года	12/8	6 – 30
Клеточная терапия с применением CD133+ у пациентов с ХСН III-IV ФК по NYHA	Летальность	1 год/5 лет	33/60	9 – 66
	Частота госпитализаций	1 год/5 лет	22/50	5 – 62

ИКВДФ – имплантируемый кардиовертер-дефибриллятор

ДИ – доверительный интервал

О результатах применения аутологичных клеток-предшественников эндотелиоцитов CD133+ у пациентов с аномалией Эбштейна

В 2003 году академик Л.А. Бокерия впервые предложил использовать клеточные технологии для регенерации атриализованной части правого желудочка (АЧПЖ) у пациентов с АЭ в сочетании с традиционной хирургической коррекцией порока. Аналогов подобных работ в настоящее время в мировой научно-исследовательской практике не существует. Дело в том, что обратимость ультраструктурных изменений ПЖ при АЭ после хирургической коррекции дискуссионна. В истончении стенки АЧПЖ определенную роль играет абсолютное уменьшение числа миокардиальных волокон и их диаметра, что носит врожденный характер. Существуют свидетельства того, что 30% от толщины АЧПЖ составляют миокардиальные волокна, а 70% – соединительнотканые волокна (Махмудов М.М., 1985г). Поэтому сложно представить, что изолированная пластика или протезирование трехстворчатого клапана (ТК), может восстановить нормальные морфофункциональные характеристики ПЖ. В результате в хирургической тактике лечения пациентов с АЭ были предложены различные варианты пластики АЧПЖ. В нашем центре отдается предпочтение методике вертикальной пликации АЧПЖ по А. Carpentier в модификации Л.А. Бокерия как при реконструктивных операциях, так и при протезировании ТК (Бокерия Л.А., Подзолков В.П., Сабиров Б.Н., 2005г, Бокерия Л.А., Беришвили И.И., 2006г). Данная методика наиболее физиологична из всех применявшихся ранее методов пликации – она позволяет сохранить нормальную высоту ПЖ (поскольку по данным морфологических исследований длина приточного отдела ПЖ при АЭ не отличается от таковой в норме) в отличие от других методов пликации, выключающих из насосной функции большую часть ПЖ, и

исключить из парадоксальных сокращений истонченную атриализованную его часть. В нашей серии исследований пациентам с АЭ после выполнения вертикальной пликаций дополнительно в зону, соответствующую АЧПЖ с помощью инсулиновой иглы вводили аутологичные КМПЭ CD133+ (33-м пациентам) или плацебо (33-м пациентам).

Для анализа динамики функции ПЖ мы интерпретировали данные 2D-ЭХОКГ, live 3D-ЭХОКГ и MPT методов, опираясь в качестве «золотого стандарта» на live 3D-ЭХОКГ и MPT (показатели функции ПЖ, полученные с помощью всех этих методов исследования достоверно коррелировали друг с другом). Положительная динамика в плане достоверного уменьшения объемов ПЖ наблюдалась с раннего послеоперационного периода. Достоверное увеличение ФВ ПЖ произошло через 6 месяцев после операции наряду с уменьшением индекса производительности ПЖ. Через 1 год после операции ММ ПЖ уменьшилась с 79 ± 9 г/м² в обеих группах до 67 ± 9 г/м² ($p < 0,05$ по сравнению с исходными показателями; между группами статистически значимой разницы выявлено не было). По своим значениям ММ ПЖ приблизилась к ММ ЛЖ (в норме ММ ЛЖ у взрослых превышает ММ ПЖ), что свидетельствует об обратном течении процесса ремоделирования вследствие выполненной операции вне зависимости от введения того или привносимого материала.

В виду отсутствия единой методологии расчета ММ ПЖ с помощью ультразвуковых методов исследования, в отличие от ЛЖ, для которого разработаны общепринятые стандарты, мы провели сравнительный анализ 4-х формул, разработанных для расчета ММ ПЖ у пациентов с АЭ и оценивали их корреляцию с ММ ПЖ по данным MPT. После проведения линейного регрессионного анализа этих формул с расчетом ММ ПЖ по

МРТ и внесения в них соответствующих факторов коррекции, мы вновь провели корреляционный анализ с данными МРТ, выбрав в качестве окончательного варианта формулу расчета ММ ПЖ с наименьшим числом среднеквадратичных ошибок и высоко коррелирующую с результатами МРТ. Ею оказалась формула продольной плоскости, основанная на геометрической модели ПЖ в виде $\frac{1}{4}$ удлинённого эллипсоида: **«Масса миокарда ПЖ=K×(продольная площадь поперечного сечения ПЖ)×(толщина миокарда ПЖ)×1,05»**, в которой K – константа пропорциональности для модели $\frac{1}{4}$ удлинённого эллипсоида

$$K = 2 \left(1 + \frac{R_1}{R_2} \right)$$

, зависящая от соотношения R_1/R_2 . R_1 большой радиус – длина ПЖ, R_2 малый радиус – диаметр фиброзного кольца ТК.

При расчетах ММ ПЖ мы использовали толщину миокарда АЧПЖ в виду зоны интереса этой области, в которую производилось введение аутологичных КМПЭ CD133+ и плацебо, и которая к тому же показала высокую корреляцию с толщиной миокарда по данным МРТ. У пациентов с АЭ в сроки наблюдения до 5 лет после операций протезирования и пластики ТК с использованием вертикальной пликации свободной стенки наблюдался хороший гемодинамический эффект и отмечалась статистически не значимая тенденция к приросту толщины в зонах, соответствующих АЧПЖ вне зависимости от использования аутологичного клеточного материала или плацебо.

С помощью новейших ультразвуковых методов визуализации миокарда, таких как 2-х мерная деформация и цветовой кинез, мы могли качественно и количественно оценить характер регионального движения миокарда перегородочной и свободной стенок ПЖ в до и послеоперационном периодах. Дооперационные исследования по данным

региональной деформации и скорости деформации миокарда (2-хмерная деформация миокарда), и регионального фракционного изменения площади (цветовой кинез) показали асимметричность направления движения сегментов свободной стенки миокарда ПЖ у пациентов с АЭ за счет патологически движущейся атриализованной части (в отличие от симметричной направленности движения всех сегментов свободной стенки ПЖ у здоровых индивидуумов), что поистине отражало баллотирующее движение ПЖ или так называемую «парадоксальную пульсацию» ПЖ при АЭ (таблица 4).

Таблица 4.

Продольная систолическая и диастолическая деформация (%) и скорости деформации (сек⁻¹) свободной стенки ПЖ у пациентов с аномалией Эбштейна до операции по сравнению со здоровой группой

	Аномалия Эбштейна	Здоровая группа	p (сравнение ан.Эбштейна со здоровой группой)	<u>Расшифровка сокращений и символов</u>
Систолическая деформация (SS,%)				АЧПЖ - атриализованная часть ПЖ
Базальный отдел	-12,7±6,3 *	-44,8±10,2 §†	<0,001	
Средний отдел (зона АЧПЖ у пациентов АЭ)	8,7±4,8 †	-26,9±5,3	<0,0001	
Верхушечный отдел	-9,7±3,6	-28,1±6,7	<0,001	АЭ – аномалия Эбштейна
Диастолическая деформация (DS,%)				
Базальный отдел	-10±6,3 *	-31,6±12 §†	<0,001	
Средний отдел (зона АЧПЖ у пациентов АЭ)	7,7±5,1 †	-23,2±7,2	<0,0001	‡ p<0,001 базальный отдел по сравнению с верхушечными отделами
Верхушечный отдел	-8,9±3,2	-19,1±5,6	<0,001	
Систолическая скорость деформации (SSR, сек⁻¹)				
Базальный отдел	-1,9±0,3 *	-3,3±1,4 **	<0,01	§ p<0,05 базальный отдел по сравнению со средними отделами
Средний отдел (зона АЧПЖ у пациентов АЭ)	1,3±0,4 †	-1,5±0,3	<0,001	
Верхушечный отдел	-1±0,3	-1,5±0,5	<0,05	
Диастолическая скорость деформации (DSR, сек⁻¹)				* p<0,001 базальный отдел по сравнению со средними отделами
Базальный отдел	-2±0,7 *	2,3±1,7	<0,001	
Средний отдел (зона АЧПЖ у пациентов АЭ)	0,4±1,1 †	2,4±1,8	<0,01	
Верхушечный отдел	-1,2±0,5	2±1,7	<0,001	† p<0,001 средний отдел по сравнению с верхушкой

Уже в раннем послеоперационном периоде наблюдалось исчезновение парадоксального движения свободной стенки ПЖ за счет явного изменения

направления движения среднего сегмента, соответствующего атриализованной части до операции, и направление движения всех 3-х сегментов свободной стенки становилось симметричным.

В области свободной стенки ПЖ также происходило увеличение регионального фракционного изменения площади, что наряду с уменьшением соотношения размеров ПЖ к ЛЖ и индекса эксцентричности сказывалось на характере регионального движения сегментов свободной стенки на цветовых гистограммах. Эти положительные изменения в зоне интереса – среднем отделе свободной стенки ПЖ были выражены в одинаковой степени, как в исследуемой группе, так и в группе плацебо ($p > 0,05$ между исследуемой группой и группой плацебо) (таблица 5).

Таблица 5. Динамика регионального фракционного изменения площади (РФИП) перегородочной и свободной стенок ПЖ у пациентов с АЭ до и после операции по данным цветового кинеза

Показатели	Исходно	Через 1 год после операции
<i>РФИП перегород. поверхности ПЖ(% РКДП) в систолу</i>		
Исследуемая группа	43±11*	42±13*
Плацебо	40±13*	40±13*
Здоровая группа	23±8	
<i>РФИП перегород. поверхности ПЖ(% РКДП) в диастолу</i>		
Исследуемая группа	48±15*	46±17*
Плацебо	49±13*	47±15*
Здоровая группа	31±15	
<i>РФИП свободной стенки ПЖ (% РКДП) в систолу</i>		
Исследуемая группа	31±9*	41±15* [†]
Плацебо	29±11*	40±14* [†]
Здоровая группа	57±10	
<i>РФИП свободной стенки ПЖ (% РКДП) в диастолу</i>		
Исследуемая группа	40±15*	50±10* [†]
Плацебо	42±10*	52±9* [†]
Здоровая группа	63±15	

* $p < 0,01$ по сравнению со здоровой группой

† $p < 0,05$ по сравнению с исходными значениями (до операции)

РКДП – региональная конечно-диастолическая площадь

Таким образом, впервые стала возможной непосредственная количественная оценка результатов вертикальной или продольной пликации АЧПЖ у пациентов с АЭ, что позволило объективизировать результаты данного вмешательства.

Методика 2-х мерной деформации позволила нам оценить параметры региональной радиальной деформации миокарда свободной стенки ПЖ, что ранее считалось невозможным из-за низкого пространственного и временного разрешения технологий тканевого доплера. Утолщение или истончение миокарда можно оценить с помощью радиальной деформации миокарда, поэтому для того чтобы определить влияние клеточной терапии на динамику зоны интереса с точки зрения развития процесса «миогенеза» в этой зоне, логичной явилась оценка отношения нормализованной толщины сегментов свободной стенки миокарда ПЖ к их исходной толщине. В зоне интереса, как в исследуемой группе, так и в группе плацебо, на протяжении 5 летнего периода наблюдения отмечалась не достоверная тенденция к приросту систолической толщины миокарда, в отличие от базального и верхушечного отделов, в которых прирост систолической и диастолической толщины был достоверным через 1 год после операции ($p < 0,05$).

Для оценки паракринных эффектов аутологичных костно-мозговых клеток у пациентов с АЭ мы провели сравнительный анализ до- и послеоперационного содержания в плазме крови NT-proBNP, PlGF, TNF- α и SDF-1 α . Как оказалось, из вышеуказанных факторов исходно в плазме крови у пациентов с АЭ достоверно выше были значения SDF-1 α как в исследуемой группе, так и в группе плацебо. Значения всех других показателей у пациентов с АЭ не значимо отличались от таковых у группы здоровых индивидуумов. Различий в плазменной концентрации

вышеуказанных показателей между исследуемой группой и группой плацебо выявлено не было. Через 14 дней после операции достоверно повышенными в исследуемой группе и группе плацебо по сравнению с исходными значениями оказались показатели NT-proBNP и PlGF, при этом значения NT-proBNP были также значимо больше по сравнению с таковыми в здоровой группе. Через 1 месяц эти изменения нивелировались, и значения NT-proBNP и PlGF возвращались к исходным. Динамика же всех других показателей была неизменной по сравнению с исходными значениями. Нами была выявлена прямая корреляция между длительностью ИК и повышением концентрации NT-proBNP и PlGF в плазме крови. Однако с помощью однофакторного корреляционного анализа было показано наличие слабой отрицательной корреляционной связи между NT-proBNP и PlGF с коэффициентом корреляции $r = - 0,26$ и уровнем значимости $p = 0,49$ (в отличие от пациентов ИБС, у которых мы выявили достоверную прямую корреляцию между этими факторами до операции). Таким образом, концентрации этих 2-х факторов независимо друг от друга повышались после операции, и через 1 месяц возвращались к исходным значениям. Подобные разнонаправленные сдвиги NT-proBNP и других биомаркеров, модулируемые степенью выраженности системного воспалительного ответа, мы наблюдали в ранее проведенных исследованиях (Полякова Э.С., Какучая Т.Т., 2004г).

Интересным наблюдением явилось исходно повышенное содержание в плазме крови SDF-1 α у пациентов с АЭ, которое не значимо отличалось от концентрации SDF-1 α у тяжелых пациентов с ИКМП старшего возраста и иДКМП (таблица 6).

Таблица 6. Сравнительная концентрация SDF-1 α в плазме крови у здоровых и пациентов с разной патологией

ИСХОДНО	Здоровая группа	Аномалия Эбштейна	ИКМП+ДКМП (группа CD133+)	ИКМП+ДКМП (группа плацебо)
SDF-1α (нг/мл)	2,19$\pm$0,27	2,61$\pm$0,28**	2,61$\pm$0,38 **	2,63$\pm$0,61 **

** p <0,05 по сравнению с группой здоровых

Данное наблюдение, с нашей точки зрения, ассоциируется с характером поражения миокарда: хотя этиология и патогенез данных заболеваний абсолютно разные, тем не менее, у них есть одно сходство - имеет место кардиосклероз или фиброз миокарда правого и/или левого желудочка, способствующие повышенной продукции SDF-1 α . SDF-1 α является фактором, через который опосредуется региональный хемотаксис («привлечение») стволовых клеток в поврежденный миокард, он также является потенциальным хемоаттрактантом лимфоцитов, моноцитов и других гематopoэтических клеток, играя существенную роль в их направленном трафике и хоуминге. Однако проведенные к настоящему времени исследования доказали, что экспрессия SDF-1 α недостаточна для осуществления хоуминга стволовых клеток в зоне повреждения миокарда, если только это не острое повреждение (Abbott J, 2004). В нашем исследовании у пациентов с АЭ, которым осуществлялось введение аутологичных КМПЭ CD133+ в АЧПЖ с целью ее регенерации, не наблюдалось какой-либо динамики SDF-1 α в плазме крови, как в раннем, так и в позднем послеоперационном периоде по сравнению с группой плацебо. Таким образом, с помощью имеющихся в нашем распоряжении лабораторно-инструментальных методов исследования, мы не выявили паракринных эффектов исследуемого клеточного материала у пациентов с АЭ.

Выводы

1.Применение аутологичных костно-мозговых клеток предшественников эндотелиоцитов CD133+ (клеточных «препаратов» CD133+) в средней дозе 2×10^6 в лечении пациентов с ИКМП и идиопатической ДКМП является осуществимым и безопасным.

2.Однократный изолированный транскатетерный интрамиокардиальный способ введения аутологичных клеточных препаратов CD133+ у пациентов с ИКМП обладает преимуществами перед изолированным интракоронарным их введением по данным клинико-инструментальных методов исследования, в т.ч. однофотонной эмиссионной компьютерной томографии миокарда и эхокардиографии.

3.По данным радионуклидных методов исследования после однократного изолированного транскатетерного интрамиокардиального введения аутологичных клеточных препаратов CD133+ в средней дозе 2×10^6 у больных с ИКМП отмечается умеренное достоверное улучшение перфузии в «леченных» сегментах в отличие от «не леченных» сегментов и по сравнению с изолированным интрамиокардиальным введением плацебо. Эти явления наблюдаются преимущественно в сегментах с исходно значимым снижением перфузии, но сохранным метаболизмом ^{18}F тордезоксиглюкозы.

4.По данным эхокардиографии однократное изолированное транскатетерное интрамиокардиальное введение аутологичных клеточных препаратов CD133+ приводит к достоверному уменьшению объемов левого желудочка с умеренным увеличением фракции выброса в сроки до 6 месяцев после данной процедуры. В то же время не претерпевают значимых изменений такие показатели ремоделирования как масса

миокарда левого желудочка, доплеровский индекс производительности миокарда, объем левого предсердия и митральная недостаточность.

5.Паракринные свойства аутологичных клеточных препаратов CD133+, опосредованные секрецией ангиогенных факторов и оцениваемые путем определения их концентрации в плазме крови, после однократного транскатетерного интрамиокардиального введения у больных с ИКМП нестойки и мало выражены, однако их эффект превосходит таковой у больных с идиопатической ДКМП. Возможно, описанный эффект обусловлен экспрессией фактора хоуминга SDF-1 α , более выраженной в рубцово-измененном миокарде больных с ХСН ишемического генеза.

6. Применение аутологичных клеточных препаратов CD133+ может быть перспективным в комплексном лечении пациентов с ХСН ишемического генеза при условии результативной активации экспрессии факторов хоуминга в рубцово-измененном миокарде и повторного выполнения процедур их введения через 6 месяцев. В то же время данный метод лечения не приводит к улучшению выживаемости и снижению частоты госпитализаций у этой категории больных.

7.В лечении больных с аномалией Эбштейна эффективной является вертикальная пликация атриализованной части правого желудочка как при протезировании, так и при пластике трехстворчатого клапана. Дополнительное интрамиокардиальное введение аутологичных клеточных препаратов CD133+ в атриализованную часть правого желудочка у пациентов данной категории безопасно, но по данным имеющихся в нашем распоряжении инструментальных методов исследования не ассоциируется с аддитивными положительными эффектами в отношении ремоделирования правого желудочка.

8.Применение скелетных миобластов в лечении пациентов с ХСН ишемического генеза не является безопасным, так как ассоциируется с развитием жизнеугрожающих аритмий, обусловленных отличием их электрофизиологических свойств от соответствующих характеристик кардиомиоцитов.

Практические рекомендации

1.При отборе больных с ишемической болезнью сердца, осложненной ХСН III-IV ФК по NYHA для проведения клеточной терапии целесообразно использование радионуклидных методов исследования - однофотонной эмиссионной компьютерной томографии и позитронно-эмиссионной томографии миокарда. Введение клеточных препаратов CD133+ рекомендуется осуществлять в зоны с умеренным и значительным снижением перфузии, но сохранным метаболизмом глюкозы.

2.Наиболее предпочтительным является *интрамиокардиальный* способ введения аутологичных костно-мозговых клеток предшественников эндотелиоцитов CD133+ в «зону интереса» – рубцово-измененный, но жизнеспособный миокард.

3.В клинической практике безопасным является применение аутологичных костно-мозговых клеток-предшественников эндотелиоцитов CD133+ в средней дозе 2×10^6 , в то время как использование скелетных миобластов не рекомендуется из-за высокого риска развития жизнеугрожающих аритмий.

4.Для оценки влияния клеточной терапии на кинетику движения миокарда у пациентов с ХСН наряду с традиционными эхокардиографическими методиками рекомендуется использовать ультразвуковые методы деформации/скорости деформации миокарда и цветового кинеза.

5. Для изучения паракринных влияний и биохимических процессов при клеточной терапии в клинике у пациентов с ХСН целесообразен мониторинг ряда биологических маркеров - васкулоэндотелиального фактора роста, плацентарного фактора роста, ангиопоэтинов-1/2, фактора роста фибробластов, ангиогенина, эндостатина, стромального фактора роста, матриксных металлопротеиназ, цитокинов воспаления и мозгового предшественника натрийуретического пептида.

6. С нашей точки зрения перспективным может оказаться клеточно-генная терапия – мультимодальный подход, заключающийся в трансфекции стволовых клеток трансгенами различных факторов роста, что в значительной степени может улучшить выживаемость стволовых клеток, ингибировать апоптоз, увеличить выброс полезных факторов, в результате чего может улучшиться региональная/глобальная функции левого желудочка с более продолжительным и стойким закреплением эффекта по сравнению с изолированным использованием трансгенов или плазмидных конструкций и клеточного субстрата. Эти же подходы могут оказаться перспективными в лечении больных с некоторыми врожденными пороками сердца, в частности с аномалией Эбштейна.

7. Целесообразна разработка эффективных и валидных диагностических методик визуализации вводимых в миокард стволовых клеток (таких как МРТ, ПЭТ с использованием нанотехнологий, электромеханического навигационного картирования) для адекватной оценки их биораспределения – трафика и хоуминга.

Список опубликованных работ:

1. Бокерия, Л.А. Генные и клеточные технологии при лечении сердечно-сосудистых заболеваний (опыт Научного центра сердечно-сосудистой хирургии

- им. А.Н. Бакулева РАМН) /Л.А. Бокерия, Г.П. Георгиев, Е.З. Голухова, Т.Т. Какучая, М.В. Еремеева и др.// Бюл. НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. Проблемы Трансплантологии. – 2004. - Т.5.-№7.-С.70-91
2. Бокерия, Л.А. Возможности использования генных и клеточных технологий для лечения сердечно-сосудистых заболеваний / Л.А. Бокерия, Г.П. Георгиев, Е.З. Голухова, М.В. Еремеева, Н.В. Гнучев, С.Л. Киселев, М.А. Лагарькова, А.И. Ким, И.П. Асланиди, М.Н. Вахромеева, Т.Т. Какучая и др. // Бюл. НЦ ССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. Креативная кардиология. – 2004. - Т.5. - №3. - С. 25-30
3. Бокерия, Л.А. Первый клинический опыт применения аллогенных скелетных миобластов для лечения пациентов с ишемической кардиомиопатией / Л.А. Бокерия, П.К. Ло, Е.З. Голухова, И.Ю. Сигаев, Т.Г. Никитина, К.В. Борисов, И.П. Асланиди, М.Н. Вахромеева, А.А. Фадеев, Р.А. Серов, Т.Т. Какучая // Бюл. НЦ ССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. Альтернативные методы реваскуляризации миокарда. – 2004. – Т.5. - №4. - С.142-151
4. Бокерия, Л.А. Возможности применения генных и клеточных технологий для лечения нарушений ритма сердца / Л. А. Бокерия, Е.З. Голухова, Т.Т. Какучая// Анналы Аритмологии. – 2005. -№4 - С. 69-73
5. Крупянко С.М. Синдром Андерсена / С.М. Крупянко, Т.Т. Какучая // Анналы Аритмологии. –2005. -№4. - С. 35-41.
6. Бокерия, Л.А. Механизмы электромеханического ремоделирования при хронической сердечной недостаточности / Л.А. Бокерия, В.А. Базаев, А.Х. Меликулов, А.Г. Филатов, Т.Т. Какучая//Анналы Аритмологии. -2006. -№1.- С. 5-10
7. Бокерия, Л.А. Внезапная сердечная смерть: Status rerum / Л.А. Бокерия, Т.Т. Какучая // Анналы Аритмологии. –2006. -№4. - С.5-9
8. Бокерия, Л.А. Имплантируемые кардиовертеры-дефибрилляторы: как решить дилемму между клиническими потребностями и ограниченными финансовыми ресурсами? / Л.А. Бокерия, В.А. Базаев, С.И. Ступаков, Т.Т. Какучая //

Анналы Аритмологии. –2006. -№4. -С. 21-28

9. Голухова, Е.З. Оказывает ли сердечная ресинхронизационная терапия проаритмогенное или антиаритмогенное действие? / Е.З. Голухова, Т.Т. Какучая // Анналы Аритмологии. –2006. -№1. - С.55-64

10. Бокерия, О.Л. Роль полиненасыщенных жирных кислот в профилактике внезапной сердечной смерти / О.Л. Бокерия, М.И. Берсенева, Т.Т. Какучая // Анналы Аритмологии . -2006. -№4. - С. 38-43

11. Голухова, Е.З. Нарушения ритма при синдроме обструктивного апноэ сна / Е.З. Голухова, И.М. Малиованова, Т.Т. Какучая // Анналы Аритмологии. -2006 - №2. -С. 66-71.

12. Бокерия, Л.А. Функциональное состояние биологического протеза «БИОГЛИС» через 10 лет после его имплантации в позицию трехстворчатого клапана / Л.А. Бокерия, И.И. Каграманов, И.В. Кокшенев, Т.О. Астраханцева, Д.В. Бритиков, В.И. Донцова, Т.Т. Какучая, А.В. Серов, В.И.Боголюбова // Грудная и сердечно-сосудистая хирургия. – 2007.- №6. - С. 59-63

13. Голухова, Е.З. Клеточная терапия в кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии: обзор рандомизированных исследований. Реалии и перспективы /Е.З. Голухова, Т.Т. Какучая// Креативная кардиология. – 2007. – №1-2. – С. 55-74

14. Бокерия, Л.А. Особенности аритмий у взрослых больных с дефектом межпредсердной перегородки и методы лечения / Л.А. Бокерия, Е.З. Голухова, Н.Р. Гегечкори, Т.Т. Какучая // Анналы Аритмологии. -2007. -№3.- С. 5-13.

15. Бокерия, Л.А. Результаты клинических исследований с использованием клеточных технологий в лечении пациентов с застойной сердечной недостаточностью / Л.А. Бокерия, Е.З. Голухова, Т.Т. Какучая, М.В. Еремеева, Н.А. Чигогидзе // Материалы XIII Всероссийского съезда сердечно-сосудистых хирургов Бюл. НЦ ССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. – 2007. – Т.8. -№6. - С. 296.

16. Голухова, Е.З. Структурно-функциональное и электрофизиологическое ремоделирование левого желудочка у пациентов с ишемической болезнью

сердца, осложненной сердечной недостаточностью / Е.З. Голухова, Т.В. Машина, Т.Т. Какучая, М.В. Круглова, Е.С. Синьковская, Д.В. Мрикаев // Материалы XIV ежегодного всероссийского съезда сердечно-сосудистых хирургов. Бюл. НЦССХ им. А.Н.Бакулева РАМН. -2008. –Т.9.-№ 6. - С. 280.

17. Бокерия, Л.А. Торакоскопический способ введения «ПЛАЦЕБО» стволовых клеток в миокард ЛЖ на работающем сердце в эксперименте / Л.А. Бокерия, З.Б. Махалдиани, О.Л. Бокерия, А.В. Сергеев, Я.В. Еренкова, Т.Т. Какучая // Материалы XII ежегодной сессии НЦССХ им. А.Н. Бакулева с Всероссийской конфер. молодых ученых. Бюл. НЦССХ им. А.Н.Бакулева РАМН Приложение. – 2008. Т. 9. -№3.- С.52.

18. Бокерия, Л.А. Вазовагальные синкопальные состояния: современные методы диагностики и лечения. Модели организации отделений по ведению пациентов с синкопальными состояниями/ Л.А. Бокерия, Т.Т. Какучая, Т. Г. Ле // Анналы Аритмологии. -2008. -№2. - С. 25-49

19. Какучая, Т.Т. Тканевой доплер, деформация и скорость деформации миокарда в оценке функции миокарда – концептуальные технические основы и применение в клинике /Т.Т. Какучая // Креативная кардиология. – 2008. -№1. -С. 73-93

20. Бокерия, Л.А. Операция ЭндоМИРМ в сочетании с торакоскопическим введением «ПЛАЦЕБО» стволовых клеток в эксперименте./ Л.А. Бокерия, З.Б. Махалдиани, О.Л. Бокерия, А.А. Катков, А.В. Сергеев, Я.В. Еренкова, М.А. Соборов, Д.А. Маленков, Ю.Ю. Колесников, Т.Т. Какучая// Материалы XII ежегодной сессии НЦССХ им. А.Н. Бакулева с Всероссийской конфер. молодых ученых. Бюл. НЦССХ им. А.Н.Бакулева РАМН Приложение.-2008.- Т. 9.- №3. - С. 49.

21. Бокерия, Л.А. Операция ЭндоМИРМ в сочетании с торакоскопической ТМЛР в сочетании с введением «ПЛАЦЕБО» стволовых клеток в миокард ЛЖ на работающем сердце в эксперименте./ Л.А. Бокерия, З.Б. Махалдиани, О.Л.

Бокерия, А.А. Катков, Б.М. Батдалов, А.В. Сергеев, М.А. Соборов, М.Б. Елисеев, Т.Т. Какучая//Материалы XII ежегодной сессии НЦССХ им. А.Н. Бакулева с Всероссийской конфер. молодых ученых. Бюл. НЦССХ им. А.Н.Бакулева РАМН Приложение.-2008.- Т. 9.- №3. - С. 50.

22. Бокерия, Л.А. Процедура торакоскопического введения «ПЛАЦЕБО» стволовых клеток в сочетании с ТМЛР на работающем сердце в эксперименте./ Л.А. Бокерия, З.Б. Махалдиани, О.Л. Бокерия, А.В. Сергеев, А.А. Катков, Ю.Ю. Колесников, Т.Т. Какучая//Материалы XII ежегодной сессии НЦССХ им. А.Н. Бакулева с Всероссийской конфер. молодых ученых Бюл. НЦССХ им. А.Н.Бакулева РАМН Приложение.-2008.- Т. 9.- №3. - С. 51.

23. Бокерия, Л.А. Имплантация «ПЛАЦЕБО» стволовых клеток в зону AV- узла через ушко правого предсердия на работающем сердце в эксперименте с помощью торакоскопических технологий./ Л.А. Бокерия, З.Б. Махалдиани, О.Л. Бокерия, А.В. Сергеев, Я.В. Еренкова, Т.Т. Какучая// Материалы XII ежегодной сессии НЦССХ им. А.Н. Бакулева с Всероссийской конфер. молодых ученых Бюл. НЦССХ им. А.Н.Бакулева РАМН Приложение.-2008.- Т. 9.- №3. - С. 67.

24. Бокерия, Л.А. Возможности использования торакоскопической техники и генных технологий в эксперименте в интересах лечения пациентов с нарушениями ритма сердца./ Л.А. Бокерия, З.Б. Махалдиани, О.Л. Бокерия, А.В. Сергеев, Я.В. Еренкова, Т.Т. Какучая// Материалы XII ежегодной сессии НЦССХ им. А.Н. Бакулева с Всероссийской конфер. молодых ученых Бюл. НЦССХ им. А.Н.Бакулева РАМН Приложение.-2008.- Т. 9.- №3. - С. 69.

25. Бокерия, Л.А. Тандемная торакоскопическая терапия: имплантация эпикардального электрода в сочетании с введением «ПЛАЦЕБО» биологических пейсмекеров в миокард работающего сердца в эксперименте./ Л.А. Бокерия, З.Б. Махалдиани, О.Л. Бокерия, А.В. Сергеев, Я.В. Еренкова, Т.Т. Какучая//Материалы XII ежегодной сессии НЦССХ им. А.Н. Бакулева Бюл. НЦССХ им. А.Н.Бакулева РАМН Приложение.-2008.- Т. 9.- №3. - С. 69.

26. Голухова, Е.З. Предшественник мозгового натрийуретического пептида в диагностике СН у больных с ИБС/Е.З. Голухова, А.М. Алиева, Г.Г. Аракелян, Т.Т. Какучая и др.// Материалы XII ежегодной сессии НЦССХ им. А.Н. Бакулева Бюл. НЦССХ им. А.Н.Бакулева РАМН Приложение.-2008.- Т. 9.- №3. - С. 163.
27. Голухова, Е.З. Натрийуретические пептиды - маркеры и факторы прогноза при ХСН./Е.З. Голухова, А.М. Алиева, Г.Г. Аракелян, Т.Т. Какучая и др.// Материалы XII ежегодной сессии НЦССХ им. А.Н. Бакулева Бюл. НЦССХ им. А.Н.Бакулева РАМН Приложение.-2008.- Т. 9.- №3. - С. 167.
28. Бокерия, Л.А. Результаты протезирования трикуспидального клапана протезом из глиссоновой капсулы печени у 45 больных./ Л.А. Бокерия, В.П. Подзолков, И.И. Каграманов, И.В. Кокшенев, Т.О. Астраханцев, Д.В. Бритиков, В.И. Донцова, В.И. Боголюбова, Т.Т. Какучая// Материалы XIV ежегодного всероссийского съезда сердечно-сосудистых хирургов. Бюл. НЦССХ им. А.Н.Бакулева РАМН.-2008.- Т. 9 - № 6.-С.8
29. Bockeria, L. Advantages and disadvantages of one-stage and two-stage surgery for arrhythmias and Ebstein's anomaly / L. Bockeria, E. Golukhova, M. Dadasheva, A. Revishvili, A. Levant, V. Bazaev, F. Rzaev, T. Kakuchaya // European Journal of Cardiothoracic Surgery.-2005.-Vol.28.-P. 536-540.
30. Bockeria, L. Surgical correction of tetralogy of Fallot with unilateral absence of pulmonary artery/ L. Bockeria,V. Podzolkov, O.Makhachev, M. Zelenikin, B. Alekian, V. Ilyin, A. Gadjiev, K. Shatalov, T. Kakuchaya, etc.//Ann Thorac Surg.-2007.-V.83.-p.613-618.
31. Golukhova, E. Autologous and allogenic stem cell technologies in the treatment of patients with congestive heart failure: clinical experience / E. Golukhova, L. Bockeria, T. Kakuchaya, etc//Eur J of Heart Failure.- Suppl.-2008.- V.7(1) - p.460.
32. Golukhova, E. Structural and functional remodeling of the left ventricle in patients with heart failure of ischemic origin / E. Golukhova, T. Mashina, D. Mrikaev, M. Kruglova, T. Kakuchaya, etc//Eur J of Heart Failure.- Suppl.- 2008.-V.7(1).- P.131.