

На правах рукописи



Киргизова Марина Александровна

**Аутологичные стволовые клетки, факторы роста и цитокины при
первичном остром инфаркте миокарда: отдаленная клиническая
эффективность, влияние на постинфарктное ремоделирование сердца**

14.01.05 – кардиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Томск – 2017

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» Научно-исследовательский институт кардиологии

Научный руководитель:

Рябов Вячеслав Валерьевич,
доктор медицинских наук

Официальные оппоненты:

Семенова Юлия Владимировна

доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Сибирский федеральный научно-клинический центр Федерального медико-биологического Агентства», Северская клиническая больница, консультативно-диагностический центр №2, отделение первичной специализированной медицинской помощи, заведующая

Кашталап Василий Васильевич

доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», лаборатория патофизиологии мультифокального атеросклероза, заведующий

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», факультет фундаментальной медицины, г. Москва

Защита состоится «___» _____ 201__ года в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 002.279.02 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» по адресу г.Томск, ул.Киевская 111а Научно-исследовательский институт кардиологии

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», адрес сайта <http://tnimc.ru/>

Автореферат разослан «___» _____ 201__ года

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук,
профессор



Ворожцова
Ирина Николаевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) и ее проявление – острый инфаркт миокарда (ОИМ) – в настоящее время являются ведущей причиной смерти и развития целого ряда опасных осложнений у людей во всем мире. За последние десятилетия достигнут значительный прогресс в лечении ОИМ из-за широкого внедрения своевременной тромболитической терапии и раннего чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ), что прежде всего привело к снижению госпитальной летальности (Марков В.А. и соавт., 2011; Гарганеева А.А. и соавт., 2015; Widimsky P. et al., 2010).

Тем не менее, признано, что современные реперфузионные стратегии исчерпали свой потенциал по ограничению размера зоны некроза миокарда, улучшению функции миокарда и не являются залогом полного восстановления жизнеспособности миокарда (Марков В.А., 2014). В связи с этим актуально изучение возможностей регенеративной терапии при ОИМ с использованием стволовых клеток. Согласно данным международных регистров к настоящему времени в мире насчитывается более 50 рандомизированных исследований, посвященных изучению эффективности и безопасности трансплантации аутологичных клеток костного мозга с различными фенотипами у больных при ОИМ, в том числе аутологичных моноклеарных клеток костного мозга (АМККМ) и CD133+ клеток костного мозга (ККМ). Однако они демонстрируют противоречивые результаты. Так, первые клинические работы по клеточной терапии показали весьма оптимистичные данные: косвенно была доказана возможность неоваскуляризации ишемизированного миокарда, увеличения фракции выброса левого желудочка, а также безопасность и хорошая переносимость клеточной терапии (Chen S.L. et al., 2004; Wollert K.C. et al., 2004; Lunde K. et al., 2006; Meyer G.P. et al., 2006). Но в последующих клинических испытаниях отсутствовал прирост фракции выброса левого желудочка (ЛЖ) и не наблюдалось улучшение клинического течения постинфарктного периода после клеточной кардиомиопластики при ОИМ (Singh S. et al., 2009; Zhang S. et al., 2009; Hirsch A. et al., 2010; Wohrle J. et al., 2010; Sürder D. et al., 2013). Важно отметить, что к настоящему времени опубликованы лишь единичные работы, в которых наблюдение за пациентами после клеточной терапии при ОИМ проводилось более 1 года (Feng C. et al., 2009; Meyer G.P. et al., 2009; Yousef M. et al., 2009; Assmus B. et al., 2014).

Согласно современным представлениям о патогенезе инфаркта миокарда (ИМ) все большее значение придается роли иммунного ответа, цитокиновой активации в регуляции процессов репарации и постинфарктного ремоделирования сердца (Аронов Д.М., 2011; Gori A.M. et al., 2009). При этом хроническое асептическое воспаление некоторые авторы рассматривают в качестве клеточно-молекулярной основы постинфарктного ремоделирования сердца (Рябов В.В. и соавт., 2016; Ishii H. et al., 2008). Более того, признано, что существенный вклад в неоваскуляризацию при клеточной терапии вносят паракринные эффекты, то есть способность трансплантируемых клеток секретировать биологически активные молекулы, в том числе цитокины и ангиогенные факторы роста (АФР). Именно эта активность клеток, а не дифференцировочные свойства, определяет их ангиогенное и тканепротективное действие (Парфенова Е.В. и соавт., 2007; Madonna R. et al., 2016). Однако в опубликованных ранее клинических работах по клеточной терапии при ОИМ не изучалось изменение сывороточных уровней АФР и цитокинов после введения клеток.

Кроме того, в составе аутологичной моноклеарной фракции ККМ содержатся моноциты, которые в зависимости от преобладания тех или иных про- и противовоспалительных цитокинов в микроокружении способны трансформироваться в

макрофаги, а затем активироваться либо по классическому пути в клетки воспаления (M 1 макрофаги), либо в альтернативно активированные макрофаги (M 2), которые стимулируют ангиогенез, перестройку и репарацию ткани (Kawaguchi M. et al., 2011).

Таким образом, несмотря на большое количество исследований, в настоящее время недостаточно данных об отдаленных клинико-инструментальных результатах трансплантации аутологичных клеток костного мозга различных фенотипов при ОИМ. Кроме того, существующие представления об участии цитокиновой системы и АФР в репарации после ишемического повреждения не определили влияние того или иного маркера на эффективность клеточной терапии при ОИМ. На основании этих проблем были сформулированы цель и задачи нашего исследования.

Цель исследования

Изучить отдаленные клинические результаты трансплантации аутологичных моноклеарных и CD 133+ клеток костного мозга, а также определить взаимосвязи между сывороточными уровнями провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, ангиогенных факторов роста у пациентов с первичным острым инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST и долгосрочной клинической эффективностью клеточной терапии аутологичными моноклеарными клетками костного мозга.

Задачи исследования

1. Оценить отдаленную клиническую эффективность и безопасность трансплантации аутологичных моноклеарных и CD133+ клеток костного мозга больным при первичном остром инфаркте миокарда с подъемом сегмента ST.
2. Исследовать влияние трансплантации аутологичных моноклеарных и CD133+ клеток костного мозга больным при остром инфаркте миокарда с подъемом сегмента ST на динамику структурно-функциональных показателей сердца в отдаленные сроки наблюдения.
3. Изучить взаимосвязи между сывороточными уровнями ангиогенных факторов роста, провоспалительных и противовоспалительных цитокинов и долгосрочными клиническими результатами трансплантации аутологичных моноклеарных клеток костного мозга при остром инфаркте миокарда с подъемом сегмента ST.
4. Среди изучаемых ангиогенных факторов роста, провоспалительных и противовоспалительных цитокинов определить факторы, влияющие на клиническое течение заболевания у пациентов, перенесших острый инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST.

Научная новизна

Впервые изучена долгосрочная клиническая эффективность и безопасность трансплантации аутологичных моноклеарных и CD133+ клеток костного мозга у больных с острым первичным инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST.

Впервые продемонстрированы взаимосвязи сывороточных уровней ангиогенных факторов роста, провоспалительных и противовоспалительных цитокинов с отдаленными исходами ОИМ с подъемом сегмента ST, а также с клиническими результатами клеточной кардиомиопластики аутологичными моноклеарными клетками костного мозга.

Научно-практическая значимость

Долгосрочные результаты клеточной кардиомиопластики различными типами аутологичных клеток костного мозга могут быть использованы для планирования будущих исследовательских работ в области регенерационной терапии в кардиологии. Результаты проведенного анализа позволили рекомендовать для продолжения научно-исследовательских работ по клеточной терапии использовать для трансплантации CD 133+ клетки костного мозга в связи с доказанной безопасностью и клинической эффективностью данной процедуры.

Определены прогностически важные лабораторные показатели неблагоприятного течения ишемической болезни сердца в отдаленные сроки после острого инфаркта миокарда, а именно низкие концентрации фактора роста фибробластов (более 17,21 пг/мл), сосудистого эндотелиального фактора роста, интерлейкина-10 (менее 3,16 пмоль/мл), определенные до проведения чрескожного коронарного вмешательства и трансплантации АМККМ. Полученные данные могут быть применены для создания новых диагностических мультимаркерных панелей для прогнозирования неблагоприятного течения ишемической болезни сердца у больных, перенесших острый инфаркт миокарда.

Методология и методы исследования

В качестве методологической базы диссертационной работы использованы научные труды отечественных и зарубежных авторов в области изучения клеточно-молекулярной основы постинфарктного ремоделирования сердца, эффективности и безопасности клеточной терапии при ОИМ. Диссертационное исследование проведено в несколько этапов. Для выполнения поставленных задач больные с ОИМ с подъемом сегмента ST были включены в 4 группы. В период с 2003 по 2005 гг. проводился набор в группу трансплантации АМККМ и в контрольную для нее группу, а в 2006–2007 гг. сформирована группа трансплантации CD133+ ККМ и группа контроля. Всем больным выполнялся стандартный объем клинико-лабораторных исследований и лечебных мероприятий. Для изучения цитокинового ответа при ОИМ методом иммуноферментного анализа определена динамика сывороточных концентраций провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, ангиогенных факторов роста. Через $7,70 \pm 0,42$ лет после ОИМ оценено клиническое течение постинфарктного периода, иммунофлуоресцентным методом определен уровень мозгового натрийуретического пептида, для изучения структурно-функциональной перестройки сердца проводилось эхокардиографическое исследование. Полученные данные обработаны современными методами статистического и математического анализа, позволяющими получить достоверные результаты.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Установлена клиническая неэффективность интракоронарного введения аутологичных моноклеарных клеток костного мозга в дозе $(93 \pm 43) \times 10^6$ на (20 ± 10) -е сутки острого инфаркта миокарда, так как положительное влияние на отдаленную выживаемость пациентов в течение $7,70 \pm 0,42$ лет наблюдения не доказано.

2. Клеточная кардиомиопластика аутологичными моноклеарными клетками костного мозга оказывает влияние на цитокиновый ответ при остром первичном инфаркте миокарда с подъемом сегмента ST, уменьшая содержание в периферической крови провоспалительных цитокинов (фактора некроза опухоли-альфа, интерлейкина-1 бета, интерлейкина-8) в подостром периоде заболевания, однако данные изменения не способны улучшить долгосрочные клинические результаты лечения.

3. Трансплантация аутологичных CD133+ клеток костного мозга в дозе $(5,7 \pm 2,8) \times 10^6$ на (15 ± 5) -е сутки острого инфаркта миокарда – безопасная процедура по результатам долгосрочного наблюдения, установлена ее клиническая эффективность в виде улучшения течения ишемической болезни сердца, предотвращения развития дилатации левого желудочка.

4. Сывороточные уровни фактора роста фибробластов, сосудистого эндотелиального фактора роста и интерлейкина-10, определенные до проведения чрескожного коронарного вмешательства и трансплантации аутологичных моноклеарных клеток костного мозга, являются прогностически важными показателями неблагоприятного течения ишемической болезни сердца в отдаленные сроки после острого инфаркта миокарда.

Внедрение результатов работы в практику

Результаты исследования внедрены в учебный процесс на кафедре кардиологии ФПК и ППС Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, используются при обучении магистров на базе лаборатории трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет».

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных результатов обусловлена длительным периодом наблюдения, широким спектром проведенных клинико-инструментальных и лабораторных исследований, соответствием дизайна поставленным в работе целям и задачам. Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, полностью основаны на фактических данных, полученных в исследовании. Анализ результатов проводился с использованием современных методов статистической обработки. Материалы диссертации доложены и обсуждены на 14 всероссийских и международных конференциях: на Российском национальном конгрессе кардиологов (Санкт-Петербург, 2013), II всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновации в хирургии», посвящённой 109-летию со дня рождения академика Ф.Г. Углова (Санкт-Петербург, 2013), V съезде кардиологов Сибирского федерального округа (Барнаул, 2013), конкурсе молодых учёных в рамках четырнадцатого ежегодного научно-практического семинара «Актуальные вопросы клинической и экспериментальной кардиологии», доклад удостоен диплома II степени (Томск, 2014), на всемирном конгрессе по острой сердечной недостаточности «Fighting Heart Failure: from prevention to devices» (Афины, 2014), V международном конгрессе «Кардиология на перекрестке наук» совместно с IX международным симпозиумом по эхокардиографии и сосудистому ультразвуку XXI ежегодной научно-практической конференции «Актуальные вопросы кардиологии» (Тюмень, 2014), 2-м международном образовательном форуме «Российские дни сердца» (Санкт-Петербург, 2014), Российском национальном конгрессе кардиологов «Инновации и прогресс в кардиологии» (Казань, 2014), 5-й международной научной конференции «Новые оперативные технологии» (Томск, 2015), в финале конкурса молодых ученых на Российском национальном конгрессе кардиологов «Кардиология-2016: Вызовы и пути решения» (Екатеринбург, 2016), 5-м международном образовательном форуме «Российские дни сердца» (Москва, 2017), Всероссийской кардиологической конференции «Традиции и инновации в кардиологии» совместно с форумом молодых кардиологов РКО «Взгляд в будущее», доклад признан лучшим в своей секции (Красноярск, 2017), Европейском конгрессе кардиологов (Барселона, 2017), II Всероссийском форуме по сердечной недостаточности и болезням миокарда (Томск, 2017).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 18 научных работ, из них 2 статьи в рецензируемых журналах перечня ВАК Минобрнауки России, 2 статьи – англоязычных, одна из них опубликована в сборнике трудов научной конференции «Новые оперативные технологии», который проиндексирован в базе данных Web of Science, вторая – в американском высокорейтинговом рецензируемом научном журнале PLOS ONE (Q1 в категории междисциплинарные науки). Протокол исследования и его результаты под названием «ESTABOMA» (№ NCT01748383) опубликованы на сайте Clinicaltrials.gov.ru.

Личный вклад

Весь материал по отдаленным клиническим результатам трансплантации клеток костного мозга при ОИМ, представленный в диссертации, получен, обработан, проанализирован и описан лично автором. Автор проводил постпроцессинговую обработку данных ультразвукового исследования сердца. Лично автором проведена статистическая обработка и анализ полученного материала.

Структура и объем диссертации

Работа изложена на 189 страницах машинописного текста, состоит из введения, 4 глав, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Диссертация иллюстрирована 19 рисунками, содержит 62 таблицы. Список литературы включает 259 источников (65 отечественных и 194 иностранных).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объект исследования

Дизайн исследования: проспективное, открытое, рандомизированное параллельное контролируемое. Исследование зарегистрировано на сайте Clinicaltrials.gov.ru под названием «ESTABOMA» (№ NCT01748383).

В 2003–2007 гг. в исследование было включено 88 пациентов с первичным ОИМ с подъемом сегмента ST, из них 71 (81%) мужчина, 17 (19%) женщин, которые поступали в отделение неотложной кардиологии НИИ кардиологии. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом ФБГУ «НИИ кардиологии» СО РАМН. Все пациенты подписали информированное согласие на проведение исследований согласно протоколу. Диагноз ОИМ устанавливали на основе критериев Всемирной организации здравоохранения (2000).

Критерии включения пациентов в исследование были следующие: возраст от 18 до 75 лет, первичный инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST, срок поступления в блок интенсивной терапии в первые 24 ч от начала заболевания, время реперфузии инфарктсвязанной коронарной артерии (ИСКА) не ранее 4 ч после начала первичного ОИМ с подъемом сегмента ST. Критерии исключения: постоянная форма фибрилляции предсердий, клапанные пороки сердца, тяжелая сопутствующая патология, отказ пациента от проведения необходимых исследований.

Включение пациентов в исследование осуществлялось в 2 этапа. В период с 2003 по 2005 гг. проводился набор в группу трансплантации АМККМ и в контрольную для нее группу.

В первую группу было включено 28 больных (средний возраст $55,3 \pm 8,2$ лет), им, помимо стентирования ИСКА и стандартной терапии ОИМ, проведена трансплантация АМККМ в открытую ИСКА в количестве $(93 \pm 43) \times 10^6$ (из них $5,4 \times 10^6$ CD34+ и 1×10^6 CD34+CD38–) на (20 ± 10) -й день ОИМ.

Вторую (контрольную) группу составили 34 больных (средний возраст $52,9 \pm 8,5$ лет), которым проводилось только стандартное лечение ОИМ, в том числе стентирование ИСКА.

Затем в период с 2006 по 2007 гг. проводился набор в группу трансплантации CD133+ ККМ и соответственно в контрольную для нее группу.

Третью группу составили 10 больных (средний возраст $60,3 \pm 12,2$ лет), которым, помимо стандартной терапии ОИМ, проведена трансплантация аутологичных CD133+ ККМ в открытую ИСКА в количестве $(5,7 \pm 2,8) \times 10^6$ на (15 ± 5) -й день ОИМ.

В четвертую (контрольную группу) было включено 16 больных (средний возраст $55,5 \pm 9,5$ лет). Единственным отличием больных данной группы от пациентов третьей группы являлось отсутствие трансплантации аутологичных CD133+ ККМ.

Клинико-анамнестическая характеристика больных на момент рандомизации представлена в таблице 1.

По основным демографическим, анамнестическим, клиническим показателям (возрасту, полу, факторам риска ИБС, предшествующим сердечно-сосудистым заболеваниям (ССЗ), среднему времени реперфузии ИСКА, по частоте первичной и отсроченной ЧКВ, локализации ИМ, степени поражения коронарного русла, осложнениям ИМ, сопутствующей патологии) статистически значимых различий между группами не выявлено.

Таблица 1 – Клинико-анамнестическая характеристика больных на момент рандомизации

Показатели	1-я группа M±SD, n (%)	2-я группа M±SD, n (%)	p	3-я группа M±SD, n (%)	4-я группа M±SD, n (%)	p
1	2	3	4	5	6	7
Количество больных	28	34		10	16	
Средний возраст, лет	55,3±8,2	52,8±8,5	0,29	60,3±12,2	58,42±10,41	0,96
Мужчины/женщины	25 (89)/3 (11)	27 (79)/7 (21)	0,26	6 (60)/4 (40)	13 (81)/3 (19)	0,37
Передний инфаркт миокарда	23 (82)	24 (71)	0,35	10 (100)	16 (100)	0,73
QRS индекс, % поражения левого желудочка	32,2±16,3	25,8±11,9	0,06	22,5±9,9	18,4±4,3	0,12
Время реканализации ИСКА, ч	5,7±0,5	6,5±1,4	0,10	5,2±0,7	4,9±0,6	0,21
Факторы риска						
Курение	23 (82)	26 (76)	0,61	5 (50)	4 (25)	0,35
Ожирение	9 (32)	12 (35)	0,37	3 (30)	10 (62)	0,65
Артериальная гипертензия	21 (75)	30 (88)	0,18	8 (80)	11 (69)	0,66
Отягощенная наследственность	11 (39)	17 (50)	0,45	3 (30)	10 (62)	0,51
Предшествующие события						
Стаж стабильной стенокардии:						
нет	20 (71)	21 (64)	0,45	6 (60)	10 (62)	0,41
1 год	6 (22)	9 (27)	0,74	2 (20)	3 (19)	
2–5 лет	2 (7)	4 (9)	0,64	2 (20)	3 (19)	
Предынфарктная стенокардия	14 (50)	18 (53)	0,69	4 (40)	5 (31)	0,11
Инвазивное лечение						
Первичное ЧКВ	7 (25)	12 (35)	0,27	3 (30)	7 (44)	0,10
Отсроченное ЧКВ	20 (71)	22 (65)	0,24	6 (60)	9 (56)	0,45
Тип стента:						
голометаллический	17 (61)	20 (59)	0,56	4 (40)	5 (31)	0,64
с лекарственным покрытием	6 (21)	9 (26)		5 (50)	6 (37)	
Только баллонная ангиопластика	5 (17)	5 (15)	0,64	–	–	–
Распределение больных в зависимости от ИСКА						
ПНА	22 (79)	13 (38)	0,29	10 (100)	16 (100)	0,73
ПКА	4 (14)	15 (44)				
ОА	2 (7)	6 (18)				
1-/2-/3-сосудистое поражение	3 (11)/18 (64)/6 (21)	24 (71)/7 (21)/3 (8)	0,21	3(30)/5 (50)/1(10)	–/6(37)/4(25)	0,09

Продолжение таблицы 1

Показатели	1-я группа M±SD, n (%)	2-я группа M±SD, n (%)	p	3-я группа M±SD, n (%)	4-я группа M±SD, n (%)	p
1	2	3	4	5	6	7
Реваскуляризация неИСКА	8 (29)	7 (21)	0,57	2(20)	2 (12)	0,75
День трансплантации, сутки	20±10			15,4±4,7		
День ЧКВ, сутки	13,1±9,3	12,9±10,1	0,45	11,1±9,1	9,8±4,5	0,07
Осложнения ОИМ						
ОСН по Т. Killip						
I	11 (39)	15 (44)	0,40	9 (90)	7 (44)	0,54
II	11 (39)	14 (42)		1(10)	6 (37)	
III	4 (14)	5 (15)		–	–	
IV	2 (7)	–		–	–	
Постинфарктная стенокардия	6 (21)	9 (27)	0,75	1 (10)	1 (6)	0,63
Рецидив ИМ	3 (10)	4 (12)	0,57	–	1 (6)	0,62
Синдром Дреслера	3 (11)	1 (3)	0,49	–	2(12)	0,50
НРС	7 (25)	14 (41)	0,23	6 (60)	7 (44)	0,53
Фибрилляция желудочков	2 (7)	4 (12)	0,45	–	1 (6)	0,60
Тромбоз ЛЖ	7 (25)	9 (27)	0,64	3 (30)	3 (19)	0,45
Аневризма ЛЖ	8 (28)	12 (36)	0,57	6 (60)	10 (62)	0,61
Перикардит	4 (14)	4 (12)	0,78	–	4 (25)	0,14
ХСН I ФК по NYHA	19 (68)	33 (88)	0,34	8 (80)	9 (56)	0,42
ХСН II ФК по NYHA	8 (29)	4 (12)		2 (20)	4 (25)	
ХСН III ФК по NYHA	1 (3)	–		–	–	
ХСН IV ФК по NYHA	–	–		–	–	
Тест 6-минутной ходьбы, м	474,31 ±120,45	508,13 ±134,41	0,56	556,56 ±81,04	535,12 ±104,65	0,54
Сопутствующие заболевания						
Сахарный диабет	7 (25)	3 (9)	0,68	2 (20)	2 (12)	0,65
Заболевания легких	13 (46)	14 (41)	0,75	8 (80)	9 (56)	0,54
Заболевания почек	5 (18)	6 (18)	0,81	–	3 (19)	0,32
Медикаментозная терапия						
Аспирин	28 (100)	34 (100)	0,67	10 (100)	16 (100)	0,73
Клопидогрель	28 (100)	34 (100)	0,75	10 (100)	16 (100)	0,73
Бета-адреноблокаторы	26 (97)	30 (91)	0,56	10 (100)	10 (100)	–
ИАПФ	22 (82)	22 (82)	0,68	8 (80)	13 (81)	0,72
Диуретики	6 (22)	6 (22)	0,54	1 (10)	4 (25)	0,58
Статины	28 (100)	34 (100)	0,78	10 (100)	13 (81)	0,35
Примечание. ИСКА–инфарктсвязанная коронарная артерия; ЧКВ – чрескожное коронарное вмешательство; ПНА – передняя нисходящая артерия; ПКА – правая коронарная артерия; ОА – огибающая артерия; ОСН – острая сердечная недостаточность; ИМ – инфаркт миокарда; ЛЖ – левый желудочек; НРС – нарушения ритма сердца; ХСН – острая сердечная недостаточность; ИАПФ – ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента						

Необходимо отметить, что у включенных в исследование пациентов преобладала передняя локализация ИМ (у 83% больных) с однососудистым и двусосудистым поражением коронарного русла (34% и 44% соответственно).

Все пациенты получали лечение ОИМ согласно национальным рекомендациям. В связи с особенностью организации медицинской помощи больным с ОИМ в г. Томске в 2003–2007 гг. большинству из включенных пациентов при отсутствии противопоказаний проводилась тромболитическая терапия (ТЛТ) (у 88% больных), при ее неэффективности выполнялось спасительное ЧКВ (у 5% пациентов), в случае успешной ТЛТ – отсроченное ЧКВ (у 66% больных). По принципам применявшейся терапии ОИМ группы были сопоставимы (см. таблицу 1).

В подострую стадию ИМ производился забор крови для определения гепатоцитарного фактора роста (HGF), сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), фактора роста фибробластов (FGF), инсулиноподобного фактора роста (IGF), трансформирующего фактора роста-бета (TGF- β), интерлейкинов (IL): IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, фактора некроза опухоли-альфа (TNF- α) до проведения ЧКВ и трансплантации стволовых клеток, а также на 2, 5, 12-е сутки после инвазивных процедур. Определение цитокинов и факторов роста выполнено иммуноферментным методом с использованием набора реагентов: HGF – Biosource (Бельгия), VEGF – Cytime (США), FGF – Biosource (Бельгия), IGF – DSL (США), TGF- β – Biosource (Бельгия), IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 – «Протеиновый контур» (Россия), TNF- α – «Протеиновый контур» (Россия).

Методы исследования

Через 7,70 $\pm$ 0,42 лет установлен телефонный контакт с пациентами либо их родственниками. Путем телефонного интервью, анкетирования, а также работы с медицинской документацией (амбулаторными картами, историями болезни, выписными справками, свидетельствами о смерти и патолого-анатомическими заключениями) установлен жизненный статус пациентов, проведена оценка клинического течения заболевания. Пациенты были приглашены на контрольное обследование, во время которого оценено их клиническое состояние (наличие стенокардии, сердечной недостаточности), течение болезни (осложнения, частота коронарных событий), определена толерантность к физической нагрузке (ТФН) с помощью теста 6-минутной ходьбы (ТШХ). Приверженность пациентов к стандартной медикаментозной терапии оценена с помощью теста Мориски – Грина.

Конечными точками определены следующие события: смерть, повторный инфаркт миокарда (ПИМ), нестабильная стенокардия (НС), ХСН II ФК и более, ХСН II А ст. и более, острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК). Кроме того, оценено количество госпитализаций по поводу ССЗ: плановых, а также в порядке скорой медицинской помощи с диагнозом НС, ПИМ.

Дополнительно выделены следующие комбинированные конечные точки (ККТ): ККТ 1 – сердечно-сосудистая летальность + ПИМ + НС; ККТ 2 – сердечно-сосудистая летальность + ПИМ + ХСН II ФК и более.

Для изучения долгосрочной безопасности клеточной кардиомиопластики АМККМ у больных ОИМ определены показатели безопасности: развитие новых клинически значимых НРС, включая появление жизнеугрожающих нарушений ритма сердца (желудочковой тахикардии, фибрилляции желудочков), а также появление интрамиокардиальных опухолей или новых онкологических заболеваний любой локализации.

Определение мозгового натрийуретического пептида

Уровень мозгового натрийуретического пептида (BNP) определяли иммунофлуоресцентным методом с помощью панели Triage BNP Test на анализаторе Triage Meter, Biosite, USA, с использованием как плазмы, так и цельной крови. Уровень в плазме крови BNP > 100 пг/дл считался пороговым для диагностики сердечной недостаточности.

Ультразвуковое исследование сердца

Эхокардиография выполнялась на ультразвуковой системе VIVID 7, GE Vingmed Ultrasound, Norway, использовался фазированный мультимастотный датчик M3S. Исследование проводилось исходно до трансплантации АМКМ и CD 133+ ККМ и ЧКВ в контрольных группах, а также через $(7,70 \pm 0,42)$ лет после ОИМ. Использовали одномерный (М-режим), двумерный (В-режим) режимы сканирования. Определяли линейные размеры и объемные показатели сердца после ОИМ, а также показатели массы миокарда ЛЖ, параметры насосной и глобальной систолической, диастолической функции ЛЖ, оценивали локальную сократимость. Эхокардиография выполнялась одним исследователем в соответствии с рекомендациями Американской и Европейской ассоциации эхокардиографии (Lang R.M., 2012).

Статистическая обработка материала

Для анализа фактического материала использовали прикладные статистические программы STATISTICA for Windows version 10.0" (Stat Soft, Inc., USA), SAS 8 (USA), SPSS 19 (USA) и R (USA).

Количественные данные представляли в виде средней величины (М) и стандартного отклонения (SD), средней величины (М) и 95% доверительного интервала [CI], медианы (Me) и межквартильного размаха (Q25-Q75 – 25-й и 75-й процентиля).

Характер распределения признаков оценивали с помощью критериев Колмогорова – Смирнова с поправкой Лиллиефорса, Шапиро – Вилка, а также методом визуализации гистограмм. Однородность генеральных дисперсий оценивали с помощью теста Левена. Для проверки статистических гипотез при анализе количественных показателей использовали: при сравнении двух независимых групп – критерий Манна – Уитни, трех и более – непараметрический аналог дисперсионного анализа критерий Краскела – Уоллиса; при сравнении трех и более зависимых групп – критерий Фридмана, для попарного сравнения двух зависимых групп – критерии знаков и Вилкоксона. Множественные сравнения проводили с использованием критерия Данна. При анализе качественных признаков выполняли анализ таблиц сопряженности: для независимых групп использовали критерий Хи-квадрат Пирсона, если имелись ячейки с ожидаемой частотой меньше 5, то применяли двусторонний точный критерий Фишера и критерий Хи-квадрат с поправкой Йетса (для таблиц 2x2). Для исследования взаимосвязей между переменными применяли корреляционный анализ с расчетом коэффициентов ранговой корреляции Спирмена, Кендалла и Гамма. Кривые выживаемости строили с помощью метода Каплана – Мейера, сравнение двух кривых проводили, используя критерий Кокса. Для выявления предикторов развития неблагоприятных конечных точек применяли метод логистической регрессии и построение ROC-кривых. Критический уровень значимости p для всех используемых процедур статистического анализа данных принимали равным 0,05 (Гланц С. и соавт., 1999; Реброва О.Ю. и соавт., 2002).

Дополнительно проведено математическое моделирование прогностической значимости исследуемых ангиогенных факторов роста, про- и противовоспалительных цитокинов в отношении отдаленной выживаемости пациентов. При этом использовался метод k ближайших соседей, группирующим признаком для разделения пациентов был выбран жизненный статус на момент контрольного обследования. Для поиска информативных признаков использовались алгоритмы Add (последовательного добавления признаков) и Del (последовательного исключения признаков). Все алгоритмы реализованы в программе MathCad 14 (USA, 2009).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Отдаленные клинико-инструментальные результаты трансплантации аутологичных моноклеарных клеток костного мозга

Получена информация о жизненном статусе 58 больных (94%): 26 пациентов из 1-й группы (трансплантация АМККМ), 32 – из контрольной (2-я группа). Клиническое обследование прошли 44 пациента (73%), 14 – умерло (23%): 10 – из группы 1, 4 – из группы 2. На момент контрольного обследования средний возраст в 1-й группе составлял ($63,9 \pm 7,6$) лет, во 2-й группе – ($62,1 \pm 7,6$) лет, по данному показателю группы были сопоставимы.

Частота развития конечных точек и показателей безопасности у больных обеих групп представлена в таблице 2.

Таблица 2 – Конечные точки и показатели безопасности

Показатели	1-я группа (n=28), n (%), M [CI]	2-я группа (n=34), n (%), M [CI]	p
Пациенты с известным жизненным статусом	26 (93)	32 (94)	0,72
Конечные точки			
Смерть по поводу ССЗ	8 (29)	2 (6)	0,03
Смерть, не связанная с ССЗ	1 (4)	2 (6)	0,69
Причина смерти неизвестна	1 (4)	–	–
Общая летальность	10 (36)	4 (12)	0,02
Количество госпитализаций по поводу ССЗ	2,4 [1,5-3,2]	2,5 [1,8-3,1]	0,65
Количество госпитализаций по поводу ОИМ	0,3 [0,1-0,6]	0,2 [0,0002-0,5]	0,85
Количество госпитализаций по поводу НС	0,7 [0,2-1,1]	0,6 [0,3-0,8]	0,97
НС	5 (18)	12 (35)	0,05
Повторные ИМ	4 (14)	5 (15)	0,29
ОНМК	1 (4)	3 (9)	0,64
Стенокардия напряжения II ФК и более	1 (4)	5 (15)	0,14
ХСН II ФК и более	4 (14)	12 (35)	0,05
ХСН II А ст. и более	4 (14)	12 (35)	0,05
Плановое ЧКВ	3 (11)	3 (9)	0,53
Аневризмэктомия	1(4)	–	0,34
АКШ	1 (4)	2(6)	0,63
Показатели безопасности			
НРС	4 (14)	3 (9)	0,42
Онкопатология	1 (4)	2 (6)	0,79
П р и м е ч а н и е. ССЗ – сердечно-сосудистое заболевание; НС – нестабильная стенокардия; ИМ – инфаркт миокарда; ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения; ЧКВ – чрескожное коронарное вмешательство; АКШ – аортокоронарное шунтирование; НРС – нарушения ритма сердца			

В результате нашего исследования установлено, что трансплантация АМККМ не оказывает положительного влияния на отдаленную выживаемость пациентов. Так, в основной группе была выше и общая (10 (36%) против 4 (12%), $p=0,01$), и сердечно-сосудистая летальность (7 (25%)

против 2 (6%), $p=0,03$) по сравнению с контрольной группой. Оценена выживаемость пациентов с помощью построения кривых Каплана – Мейера (рисунок 1, $p=0,01$).

В то же время мы отмечали более стабильное течение ИБС у пациентов группы трансплантации АМККМ. У них достоверно реже развивалась нестабильная стенокардия в течение $(7,70 \pm 0,42)$ лет после ОИМ (35% против 18% в группе трансплантации АМККМ, $p=0,05$).

Обследованные больные показывали преимущественно хорошую ТФН. Так, по результатам ТШХ различий между группами не выявлено ($(499,1 \pm 92,5)$ м в основной группе против $(488,2 \pm 189,8)$ м в группе контроля, $p=0,42$). У большинства пациентов стенокардия напряжения и ХСН соответствовали I ФК, реже – II ФК.

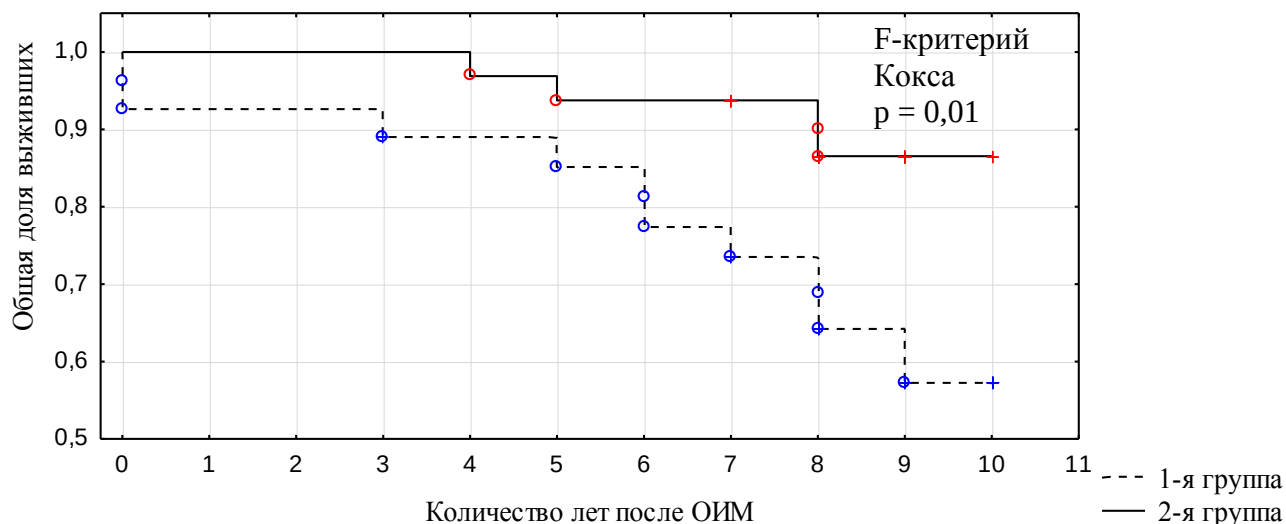


Рисунок 1 – Сердечно-сосудистая летальность в группе трансплантации АМККМ и в группе контроля

Клинически значимая ХСН $\geq$ II ФК (49% против 25%, $p=0,05$) и ХСН IА и IБ (46% против 25%, $p=0,05$) чаще наблюдалась в контрольной группе. При этом сывороточный уровень ВНР в обеих группах был умеренно повышен – 148,98 пг/мл [62,24-235,72] против 179,68 пг/мл [51,26-308,13], $p=0,34$, различий между группами по данному показателю не установлено.

Результаты наблюдения за этими больными в течение 6, 12 мес после ОИМ также не демонстрировали различий по данным показателям между группами (Рябов В.В., 2006).

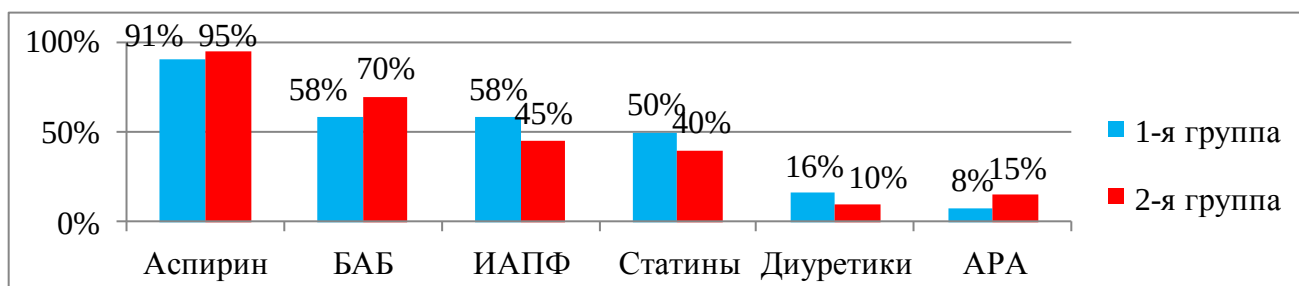
Оценена частота возникновения комбинированных конечных точек в обеих группах (ККТ 1: 54% против 53%, $p=0,11$; ККТ 2: 64% против 53%, $p=0,23$). Статистически достоверных различий по данным показателям между группами не выявлено.

При анализе частоты развития повторных ИМ, ОНМК, проведения повторных оперативных вмешательств с целью реваскуляризации миокарда, диагностики стенокардии напряжения II ФК и более значимых различий между группами не установлено (см. таблицу 2).

Проведен анализ базисного лечения ИБС, которое пациенты получали в течение всего периода наблюдения. В группе трансплантации АМККМ среди пациентов, прошедших контрольное обследование, наблюдалась меньшая приверженность к назначенной медикаментозной терапии. Согласно результатам теста Мориски – Грина комплаентных к назначенной медикаментозной терапии (ответивших «нет», как минимум, на 3 из 4 вопросов теста) было достоверно больше в контрольной группе (25% против 40%, $p=0,045$), что должно было способствовать более благоприятному течению заболевания.

Наиболее часто принимаемыми препаратами являлись дезагреганты (аспирин и его аналоги), бета-блокаторы, в значительно меньшей степени – ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента и статины (рисунок 2).

Полученные результаты согласуются с данными исследований последних лет, которые подтверждают редкий в реальной клинической практике прием необходимых лекарственных препаратов, способных улучшить прогноз жизни у пациентов с ССЗ (Бубнова М.Г. и соавт., 2010).



БАБ – бета-адреноблокаторы; ИАПФ – ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента;
АРА – антагонисты рецепторов ангиотензина II

Рисунок 2 – Распределение препаратов, принимаемых пациентами до контрольного обследования

Важным аспектом нашей работы являлась оценка безопасности трансплантации АМККМ в отношении развития проаритмических эффектов, онкопатологии. В ранее проведенных экспериментальных работах было показано, что трансплантированные прогенераторные клетки становились субстратом для электрической нестабильности, приводящей к развитию жизнеугрожающих аритмий (Chachques J.C. et al., 2005; Siminiak T. et al., 2005; Puymirat E. et al., 2009). Описаны случаи кальцификации миокарда после интрамиокардиальной инъекции крысам неселективных неотобранных клеток костного мозга при ОИМ (Yoon Y.S. et al., 2004). В настоящем исследовании по данным эхокардиографии мы не обнаружили случаев кальцификации миокарда, формирования интрамиокардиальных опухолей. По результатам долгосрочного наблюдения частота развития клинически значимых НРС в обеих группах значимо не различалась (14% против 9%, $p=0,42$), жизнеугрожающие аритмии не регистрировались. Частота новых онкологических заболеваний была сопоставима в обеих группах (4% против 6%, $p=0,79$).

2. Анализ влияния трансплантации аутологичных мононуклеарных клеток костного мозга на постинфарктное ремоделирование сердца

В подавляющем большинстве исследований, посвященных изучению клеточной терапии при ОИМ, первичной конечной точкой была динамика фракции выброса (ФВ) и размеров ЛЖ (Korf-Klingebiel M. et al., 2008; Feng C. et al., 2009; Nguyen P.K. et al., 2011; Jeevanantham V. et al., 2012). Действительно, ФВ ЛЖ является наиболее важным прогностическим показателем функционального состояния сердечно-сосудистой системы после перенесенного ИМ и ее снижение на каждые 5% в диапазоне значений от 40 до 20% сопряжено с возрастанием риска аритмической смерти на 19% (Руда М.Я. и соавт., 2007).

Согласно результатам метаанализа исследований по данной тематике трансплантация при ОИМ аутологичных ККМ различных фенотипов приводит к незначительному увеличению ФВ ЛЖ (в среднем лишь на 2–4%). Авторы отмечают, что позитивное влияние на структурные и функциональные показатели ЛЖ сохраняется, как правило, в течение 6–24 мес после терапии (Jeevanantham V. et al., 2012; Delewi R. et al., 2015). Важно отметить, что такое незначительное

улучшение ФВ ЛЖ (в пределах 3–4%) наблюдалось и в исследованиях, где лечение пациентов с ОИМ проводилось только тромболитической терапией и ЧКВ (Ndrepepa G. et al., 2007).

В нашем исследовании для исключения влияния повторных коронарных событий на постинфарктное ремоделирование сердца в анализ динамики эхокардиографических показателей не вошли показатели пациентов, перенесших повторный ИМ. Результаты анализа основных параметров представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Динамика некоторых эхокардиографических показателей

Эхокардиографические показатели	1-я группа (n=16), M±SD	2-я группа (n=28), M±SD	p
Конечный диастолический объем, мл			
Исходно	121,2±29,4	105,1±34,4	0,08
Через 7,70±0,42 лет	158,8±74,5	120,3±32,9	0,42
% изменения КДО ЛЖ через 7,70±0,42 лет	29,4±47,9	30,8±33,3	0,65
Конечный систолический объем, мл			
Исходно	61,9±21,2	52,1±21,0	0,07
Через (7,70±0,42) лет	90,3±62,1	64,7±27,3	0,54
% изменения КСО ЛЖ через 7,70±0,42 лет	44,50±66,92	37,31±61,42	0,67
Фракция выброса ЛЖ, %			
Исходно	49,5±8,9	51,2±7,5	0,62
Через (7,70±0,42) лет	47,5±11,0	50,8±10,4	0,52
% изменения ФВ ЛЖ через 7,70±0,42 лет	8,9±13,6	13,2±23,1	0,12
Индекс нарушения локальной сократимости			
Исходно	1,8±0,3	1,7±0,3	0,78
Через 7,70±0,42 лет	1,6±0,4	1,5±0,3	0,68
% изменения ИНЛС через 7,70±0,42 лет	10,4±17,5	12,0±21,5	0,59
Ударный объем, мл			
Исходно	56,7±14,2	54,6±14,2	0,70
Через 7,70±0,42 лет	61,6±11,2	67,0±17,8	0,54
% изменения УО через 7,70±0,42 лет	7,7±17,3	7,5±14,5	0,55
Сердечный индекс			
Исходно	2,4±0,2	2,6±0,8	0,21
Через 7,70±0,42 лет	2,5±0,5	2,5±0,6	0,80
% изменения СИ через 7,70±0,42 лет	4,1±6,7	1,1±5,4	0,15
П р и м е ч а н и е. КДО – конечный диастолический объем; КСО – конечный диастолический объем; КДИ – конечный диастолический индекс; КСИ – конечный систолический индекс; ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка; ИНЛС – индекс нарушения локальной сократимости; УО – ударный объем; СИ – сердечный индекс			

По представленным показателям мы не установили статистически значимых различий между группами. Обращает на себя внимание то, что в группе трансплантации АМККМ исходно и через 7,70±0,42 лет после ОИМ в сравнении с группой контроля были большие значения КДО и КСО, однако при этом достоверности различий не получено.

Мы не обнаружили влияния трансплантации АМККМ на показатели насосной, глобальной систолической функции, локальной сократимости левого желудочка.

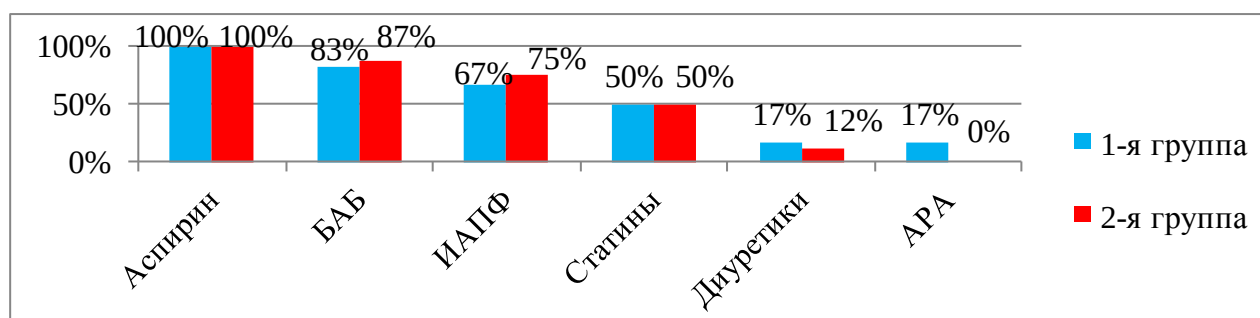
Через $7,70 \pm 0,42$ лет наблюдения в контрольной группе чаще регистрировалась диастолическая дисфункция, преимущественно по типу нарушения расслабления ЛЖ (50% против 28%, $p=0,45$), однако без достоверных различий между группами.

Наши результаты соответствуют данным метаанализа последних исследований по клеточной терапии при ОИМ, в которых было продемонстрировано отсутствие положительного влияния интракоронарной трансплантации АМКМ на постинфарктное ремоделирование сердца (Kang S. et al., 2008; Martin-Rendon E. et al., 2008; Singh S. et al., 2009; Zhang S. et al., 2009).

3. Отдаленные клинические результаты трансплантации аутологичных CD133+ клеток костного мозга

Из 26 включенных в исследование пациентов получена информация о жизненном статусе 23 (88%) – 8 больных (80%) из 3-й группы (трансплантация CD133+ ККМ), 15 больных (94%) из 4-й группы (контрольная). Контрольное обследование через ($7,70 \pm 0,42$) лет после ОИМ прошло 14 пациентов (54%). Умерло 9 больных (34%): 2 из 3-й группы, 7 из 4-й группы. Контакт с 3 пациентами не установлен, соответственно их жизненный статус и особенности течения ССЗ неизвестны.

Необходимо отметить, что в нашем исследовании группы были сопоставимы по тяжести ОИМ, степени коронарной недостаточности. Кроме того, статистически достоверных различий по медикаментозной терапии (рисунок 3) и комплаентности к ней среди пациентов группы трансплантации CD133+ ККМ и контрольной группы не выявлено. Наиболее часто принимаемыми препаратами были дезагреганты (аспирин и его аналоги), ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, бета-адреноблокаторы, в значительно меньшей степени – статины и антагонисты рецепторов ангиотензина II. Среди пациентов преобладали недостаточно комплаентные и полностью некомплаентные пациенты (66% в 3-й группе против 76% в 4-й группе, $p=0,72$).



БАБ – бета-адреноблокаторы; ИАПФ – ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента;

АРА – антагонисты рецепторов ангиотензина II

Рисунок 3 – Прием препаратов различных классов, предшествующий контрольному обследованию

Частота неблагоприятных событий в течение $7,70 \pm 0,42$ лет после первичного ОИМ представлена в таблице 4. По частоте развития ОНМК, диагностики стенокардии напряжения II ФК и более, госпитализаций по поводу ССЗ в отдаленные сроки после ОИМ достоверных различий между группами не выявлено.

Установлена сопоставимость всех групп по количеству проведенных кардиохирургических и интервенционных вмешательств (ЧКВ, аневризмомэктомии, имплантации ЭКС, коррекции патологии клапанов сердца, АКШ) в течение всего периода наблюдения (см. таблицу 4). Таким образом, исключено влияние данных факторов на выявленные межгрупповые различия в течение заболевания.

В контрольной группе зарегистрировано 7 случаев повторного ИМ (44%), причем 4 из них оказались фатальными. У пациентов в группе трансплантации CD133+ КKM повторных ИМ не было. Кроме того, выявлены достоверные различия по частоте диагностики нестабильной стенокардии (11 (69%) во 2-й группе против 2 (20%) в 1-й группе, $p=0,04$).

Таблица 4 – Конечные точки и показатели безопасности

Показатели	3-я группа (n=10), М [CI], n (%)	4-я группа (n=16), М [CI], n (%)	p
Пациенты с известным жизненным статусом	8 (80)	15 (94)	0,23
Конечные точки			
Смерть по поводу ССЗ	2 (20)	4 (25)	0,53
Смерть, не связанная с ССЗ	–	2 (12)	–
Причина смерти неизвестна	–	1 (6)	–
Общая летальность	2 (20)	7 (44)	0,11
Количество госпитализаций по поводу ССЗ	1,4 [0,5-3,4]	2,8 [1,1-4,5]	0,14
Количество госпитализаций по поводу НС	0,3 [0,2-0,9]	1,1 [0,5-1,7]	0,12
Количество госпитализаций по поводу ОИМ	–	0,4 [0,4-0,9]	0,28
Повторные ИМ	–	7 (44)	0,04
Нестабильная стенокардия	2 (20)	11 (69)	0,04
ОНМК	–	–	–
ХСН II ФК и более	2 (20)	8 (50)	0,06
ХСН II А ст. и более	2 (20)	7 (44)	0,05
Стенокардия напряжения II ФК и более	1 (10)	2 (12)	0,67
Плановое ЧКВ	2 (20)	3 (19)	0,65
Аневризмэктомия	–	–	–
Имплантация ЭКС	1 (10)	–	–
Коррекция патологии клапанов сердца	–	1 (6)	–
АКШ	–	1 (6)	–
Показатели безопасности			
НРС	2 (20%)	1 (6)	0,32
Онкопатология	–	1 (6)	–
П р и м е ч а н и е. ССЗ – сердечно-сосудистое заболевание; НС – нестабильная стенокардия; ИМ – инфаркт миокарда; ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения; ЧКВ – чрескожное коронарное вмешательство; АКШ – аортокоронарное шунтирование; НРС – нарушения ритма сердца			

Пациенты показывали хорошую ТФН ((468,3±83,3) м против (437,5±113,9) м, $p=0,24$). Среди обследованных пациентов преобладала стенокардия напряжения и ХСН I ФК.

ХСН II ФК и более в отдаленные сроки после ОИМ чаще диагностировалась в контрольной группе, чем в группе трансплантации (2 (20%) случая против 8 (50%), $p=0,06$). ХСН II А и II Б стадии также чаще наблюдалась у пациентов 4-й группы (2 (20%) против 7 (87%), $p=0,05$). Таким образом, у пациентов группы трансплантации CD133+ КKM достоверно реже диагностировалась клинически значимая ХСН в отдаленные сроки после ОИМ.

По частоте развития ККТ также выявлены статистически значимые различия между группами. Чаще они наблюдались в контрольной группе (ККТ 1: 30% против 75%, $p=0,02$; ККТ 2: 40% против 81%, $p=0,003$), что свидетельствует о более благоприятном клиническом течении постинфарктного периода в группе трансплантации аутологичных CD133+ ККМ.

Мы оценили отдаленную безопасность процедуры трансплантации CD133+ ККМ. В нашем исследовании частота развития НРС, диагностики новых онкологических заболеваний в исследуемых группах достоверно не различалась за истекший период наблюдения. Жизнеугрожающие аритмии не наблюдались в группе трансплантации CD133+ ККМ.

Bartunek J. et al. установили, что интракоронарное введение CD133+ ККМ связано с увеличением числа случаев коронарных событий (рестенозов и реокклюзии в стенте) в течение 4 месяцев наблюдения (Bartunek J. et al., 2005). Мы не обнаружили подтвержденных ангиографически рестенозов стентов в обеих группах, что является ещё одним критерием безопасности клеточной терапии.

Таким образом, доказана клиническая безопасность клеточной кардиомиопластики аутологичными CD133+ ККМ в отдаленные сроки после ОИМ, что соответствует результатам 6- и 12-месячного наблюдения (Рябов В.В. и соавт., 2008).

4. Анализ влияния трансплантации аутологичных CD133+ клеток костного мозга на постинфарктное ремоделирование сердца

Из анализа динамики эхокардиографических показателей ЛЖ были исключены пациенты, перенесшие повторный ИМ.

Нами проанализировано изменение объемных показателей сердца (КСО, КДО), дополнительно изучен объем левого предсердия в отдаленные сроки после ОИМ. Исходно по КДО ($110,0 \pm 25,5$ мл против $125,9 \pm 48,9$ мл) и КСО ($54,2 \pm 23,9$ мл против $68,3 \pm 32,1$ мл) достоверных различий между группами не было. Через $(7,70 \pm 0,42)$ лет в группе трансплантации аутологичных CD 133+ ККМ выявлены достоверно меньшие значения КДО ($(100,7 \pm 50,2)$ мл против $144,4 \pm 42,7$ мл, $p=0,049$) и КСО ($56,3 \pm 37,8$ мл против $89,7 \pm 38,7$ мл, $p=0,049$), объема левого предсердия ($35,3 \pm 13,4$ мл против $49,1 \pm 22,3$ мл, $p=0,043$). Позитивное влияние трансплантации CD133+ ККМ на постинфарктные размеры сердца наблюдалось и в ряде предыдущих исследований, где было показано, что трансплантация при ОИМ аутологичных ККМ различных фенотипов приводит к уменьшению КСО в среднем на 8–9 мл, КДО – на 5–6 мл (Colombo A. et al., 2011; Turan R.G. et al., 2012).

В нашем исследовании трансплантация аутологичных CD 133+ клеток костного мозга не повлияла на насосную функцию сердца (изменение УО $7,7 \pm 17,3\%$ против $7,5 \pm 14,5\%$, $p=0,55$; изменение СИ $3,8 \pm 12,1$ против $2,5 \pm 9,7$, $p=0,12$).

Мы оценили изменение основных эхокардиографических показателей сократительной функции ЛЖ. Исходно группы были сопоставимы по ИНЛС ($1,6 \pm 0,4$ против $1,8 \pm 0,3$, $p=0,21$) и ФВ ЛЖ ($52,5 \pm 13,1\%$ против $47,5 \pm 9,4\%$, $p=0,29$). Через $7,70 \pm 0,42$ лет статистически значимых различий по ФВ ЛЖ ($46,8 \pm 9,0\%$ против $39,1 \pm 9,8\%$, $p=0,17$) и ИНЛС ($1,5 \pm 0,4$ против $1,7 \pm 0,4$, $p=0,40$) между исследуемыми группами также не получено.

Через $7,70 \pm 0,42$ лет наблюдения у обследованных пациентов отмечалась диастолическая дисфункция, преимущественно по типу нарушения расслабления ЛЖ (I типа). Нами установлено влияние трансплантации аутологичных CD 133+ клеток костного мозга на некоторые показатели диастолической функции сердца, а именно на величину средней амплитуды раннего диастолического потока (E_m) – в группе 3 она составила $8,5 \pm 2,0$ см/с против $6,5 \pm 1,1$ см/с в группе 4, $p=0,02$. Однако не обнаружено воздействие клеточной

кардиомиопластики на частоту развития диастолической дисфункции у больных в отдаленный период наблюдения (6 (60%) в группе трансплантации CD 133+ против 8 (50%) в контрольной, $p=0,63$). Таким образом, мы не установили воздействия трансплантации CD 133+ ККМ на систолическую и диастолическую функции ЛЖ после ОИМ.

5. Факторы, влияющие на эффективность клеточной терапии

Множество факторов способно повлиять на регенеративный потенциал клеточной терапии: возраст пациента, распространенность и выраженность коронарного атеросклероза, сопутствующие заболевания, любые факторы сердечно-сосудистого риска, а также лечение, которое пациент получал в течение всего периода наблюдения (Madonna R. et al., 2016). В нашем исследовании по основным клинико-anamnestическим характеристикам больных на момент рандомизации группы были сопоставимы.

Безусловно, в группе трансплантации АМККМ мы закономерно ожидали более низкую отдаленную летальность и частоту развития других конечных точек. Мы попытались выявить факторы, определяющие недостаточную эффективность клеточной терапии АМККМ. Причиной высокой частоты смертельных исходов среди включенных в исследование пациентов может быть исходно более тяжелая коронарная недостаточность, большая площадь поражения левого желудочка при ОИМ. Сравнительный анализ клинико-инструментальных данных пациентов группы трансплантации АМККМ в зависимости от исхода болезни выявил, что преходящий дефект перфузии, определенный при помощи нагрузочной сцинтиграфии миокарда с таллием 199, был достоверно больше у умерших ($14,8 \pm 9,2$ против $5,1 \pm 4,2$, $p=0,014$).

Следует заметить, что в целом наши результаты соответствуют данным, полученным другими авторами. Они показывают, что от 17 до 40% больных после перенесенного ОИМ погибают в течение 5 лет (Марцевич С.Ю. и соавт., 2012; Ndrepepa G. et al., 2007).

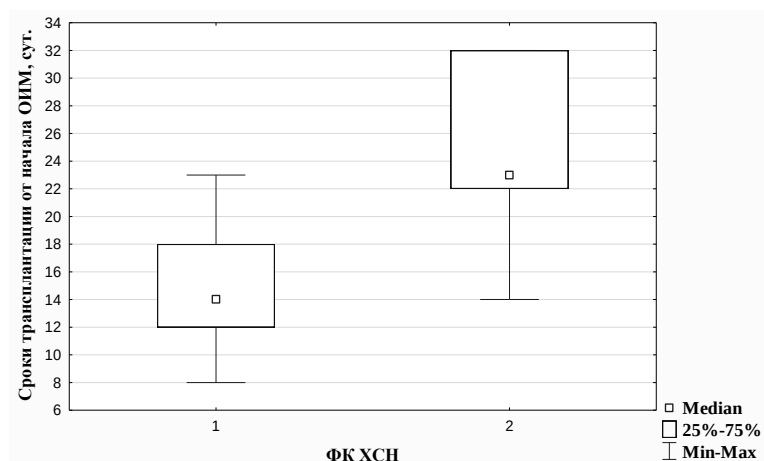
Зарубежные исследователи активно обсуждают возможные причины недостаточной эффективности клеточной терапии при ОИМ. Среди них основными признаны следующие: малая доза вводимых клеток, неоптимальные сроки проведения трансплантации, возраст пациентов, исходно сохранная функция ЛЖ.

Согласно метаанализу исследований по данной тематике, опубликованному в 2012 году, наилучшие долгосрочные клинические результаты получены при трансплантации АМККМ в сроки до 7 суток в количестве более 10^8 и у пациентов с выраженной дисфункцией ЛЖ (Clifford M.D., 2012). Руководствуясь результатами этого метаанализа, можно сказать, что в нашем исследовании вводилось достаточное количество АМККМ – $(0,93 \pm 0,43) \times 10^8$ с исходной жизнеспособностью более 90%. Причем введенные дозы клеток (АМККМ либо CD133+ ККМ) определялись максимальным количеством, которое можно было выделить из аспирата костного мозга, полученного при односторонней пункции передневерхней ости крыла подвздошной кости под местной анестезией. Но важно отметить, что популяция CD34+ клеток-предшественниц составляет только 1–2% всех АМККМ (Pompilio G. et al., 2004). Безусловно, существует возможность получения значительно большего количества стволовых клеток из периферической крови, но только после цитокиновой стимуляции костного мозга (Pompilio G. et al., 2004).

В исследовании Stamm C. et al. также было показано, что клеточная терапия более эффективна у больных с ФВ ниже 35% (Stamm C. et al., 2007). В нашей работе трансплантация АМККМ и CD133+ ККМ проводилась пациентам с сохранной фракцией выброса ЛЖ ($49,3 \pm 10,2\%$ и $52,5 \pm 13,1\%$ в первой и в третьей группе соответственно), что могло стать причиной отсутствия значимого прироста ФВ ЛЖ после клеточной терапии.

Кроме того, мы проводили трансплантацию АМККМ в более поздние сроки (в среднем на (20 ± 10) -е сутки после ОИМ). При дополнительном анализе установлено, что у пациентов, которым

проводилась трансплантация АМККМ после 20-х суток ОИМ, чаще развивалась клинически значимая ХСН II ФК и более по NYHA в отдаленный период наблюдения, $p=0,01$ (рисунок 4).



1 – ХСН I ФК; 2 – ХСН II ФК и более

Рисунок 4 – Зависимость сроков трансплантации АМККМ и развития ХСН

В то же время до сих пор нет единого мнения о наиболее оптимальных сроках проведения клеточной терапии при ОИМ. Так, в исследовании SWISS-AMI при интракоронарном введении АМККМ в сроки от 5 до 7 дней либо от 3 до 4 недель после ОИМ не выявлено улучшения функции ЛЖ у больных по данным 4-месячного наблюдения (Sürder D. et al., 2013). Однако некоторые авторы полагают, что клеточная терапия более эффективна через 2–3 мес после ОИМ, то есть после завершения активного воспалительного процесса в зоне повреждения (Байкова Ю.П. и соавт., 2010).

Доказано, что с увеличением возраста возникает нарушение функции клеток-предшественников у пациентов с ИБС. Многочисленные наблюдения продемонстрировали отрицательные корреляционные связи между стажем заболевания сердца и регенерационной способностью аутологичных клеток костного мозга (Ефименко А.Я. и соавт., 2015; Hill J. et al., 2003; Loomans C. et al., 2004; Stamm C. et al., 2008). В нашем исследовании достоверных различий по возрасту между исследуемыми группами не было (см. таблицу 1).

Согласно мнению экспертов Европейского общества кардиологов, одной из ведущих проблем клеточной терапии при ОИМ остается относительно низкая возможность удержания клеток в зоне ИМ (Madonna R. et al., 2016). Доказано, что не более 10% введенных клеток остается в целевом местоположении независимо от введенной дозы (Hou D. et al., 2005; Hong K. et al., 2014). В рамках нашего исследования ранее было установлено, что только 3,2% АМККМ, меченных радионуклидом, присутствовало в миокарде через 24 ч после интракоронарного введения (Рябов В.В. и соавт., 2006). Кроме того, такие факторы микроокружения, как гипоксия, воспаление, окислительный стресс, фиброз, отсутствие опорных клеток, стимулируют апоптоз или некроз трансплантированных клеток (Madonna R. et al., 2016), а также направление их дифференцировки (Рябов В.В. и соавт., 2016). Возможно, в этом заключается одна из главных причин недостаточной клинической эффективности трансплантации АМККМ в представленном исследовании. Повторное интракоронарное введение АМККМ, подготовка клеток с помощью методов генной инженерии для избыточной экспрессии генов выживания или проангиогенных факторов могут значительно повысить эффективность клеточной терапии в лечении ИБС и профилактике ХСН.

Таким образом, согласно результатам нашего исследования при отборе кандидатов для клеточной терапии при ОИМ предпочтение необходимо отдавать пациентам со сниженной ФВ ЛЖ и проводить трансплантацию АМККМ в сроки до 20-х суток после ОИМ.

6. Анализ взаимосвязей сывороточных уровней факторов роста и цитокинов с долгосрочными клиническими результатами трансплантации аутологичных моноклеарных клеток костного мозга при ОИМ с подъемом сегмента ST

Многие ученые сходятся во мнении, что эффективность клеточной терапии связана со стимуляцией эндогенных механизмов регенерации поврежденного миокарда и ангиогенеза за счет реализации паракринных эффектов (Mirotsoy M. et al., 2011; Madonna R. et al., 2016) или модуляции иммунного ответа (Augora A. et al., 2014) путем секреции цитокинов и АФР.

Мы впервые изучили динамику концентраций АФР и цитокинов в разные сроки ОИМ после трансплантации АМККМ в сравнении с контрольной группой. При этом была обнаружена разнонаправленная динамика АФР, однако значимых различий по абсолютным значениям АФР и их динамике между группами не выявлено. Установлено влияние трансплантации АМККМ на уровни про- и противовоспалительных цитокинов. В основной группе после ЧКВ и трансплантации АМККМ наблюдались более низкие значения провоспалительных цитокинов. Так, концентрация IL-1 β на 2-е сутки после ЧКВ в 1-й группе в среднем составляла 42,6 пмоль/мл против 138,5 пмоль/мл в группе 2 ($p=0,01$), концентрация в крови TNF- α на 5-е и 12-е сутки после ЧКВ была ниже у пациентов основной группы (45,7 пг/мл против 119,8 пг/мл, $p=0,02$; 40,7 пг/мл против 110,2 пг/мл, $p=0,05$, соответственно), концентрация IL-8 на 5-е сутки также была ниже у больных основной группы (25,3 пмоль/мл против 50,8 пмоль/мл, $p=0,005$). Кроме того, в основной группе наблюдались более низкие значения противовоспалительного цитокина IL-4 на 2-е и 5-е сутки после ЧКВ и трансплантации АМККМ (68,1 пмоль/мл против 124,4 пмоль/мл, $p=0,02$; 64,0 пмоль/мл против 136,6 пмоль/мл, $p=0,01$, соответственно).

Корреляционный анализ между АФР и цитокинами показал, что их средние концентрации различались в исследуемых группах после ЧКВ (IL-1 β и IL-4 на 2-е сутки после ЧКВ, а также IL-4 и IL-8 на 5-е сутки и TNF α на 5-е и 12-е сутки после вмешательства). Определены статистически значимые взаимосвязи между концентрациями исследуемых факторов роста и цитокинов, а также с развитием конечных точек в каждой группе в течение ($7,70\pm 0,42$) лет наблюдения (рисунки 5 и 6).

Ранее опубликованные исследования показали, что при ОИМ происходит активация макрофагов и Т-лимфоцитов, в результате развивается неспецифическое воспаление в зоне ишемического повреждения миокарда. Это приводит к резкому увеличению синтеза провоспалительных цитокинов. Существует две фазы высвобождения провоспалительных медиаторов в ответ на ишемическое повреждение миокарда (Митьковская Н.П. и соавт., 2008; Entman M. et al., 1994). IL-1 β и TNF- α считаются наиболее важными медиаторами первой волны, они запускают второй этап цитокиновой стимуляции (высвобождение IL-6, IL-8). В ответ на действие провоспалительных цитокинов вырабатываются IL-4 и IL-10, которые обладают противовоспалительными свойствами.

Таким образом, формируется иммунный ответ при ОИМ, который носит стадийный характер (Митьковская Н.П. и соавт., 2008; Tedgui A. et al., 2006; Fernandes J. et al., 2008). В связи с этим установленные в обеих группах положительные корреляционные связи между провоспалительными цитокинами, а также обратные корреляции между противовоспалительным IL-4 и провоспалительными цитокинами подтверждают стадийность этого процесса (см. рисунки 5 и 6).

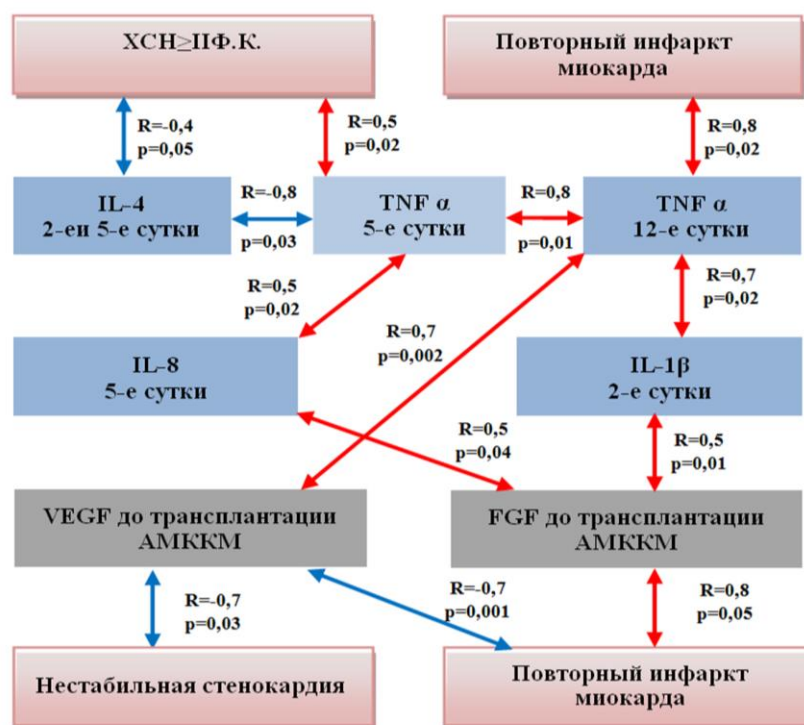


Рисунок 5 – Результаты корреляционного анализа в группе трансплантации АМКМ

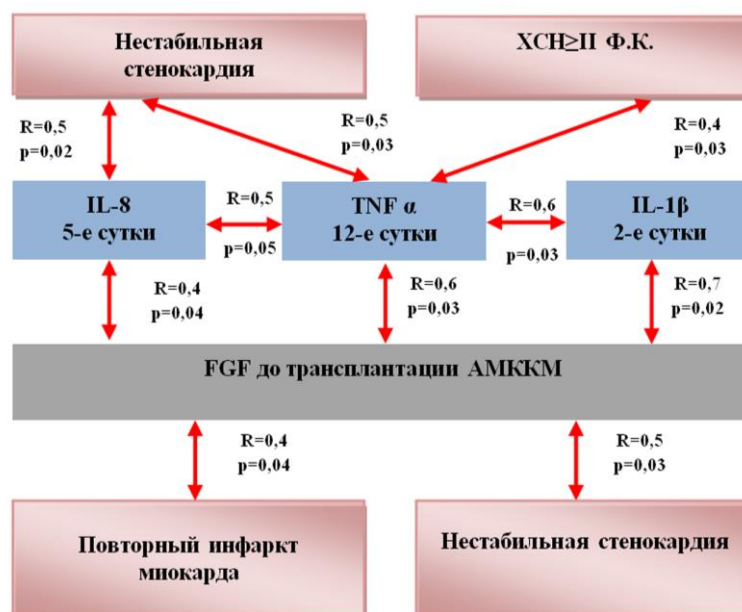


Рисунок 6 – Результаты корреляционного анализа в контрольной группе

В группе трансплантации выявлены положительные корреляционные связи между развитием повторных ИМ в течение $7,70 \pm 0,42$ лет наблюдения и уровнями TNF- α на 12-е сутки после ЧКВ ($R=0,8$; $p=0,02$), прямые корреляции уровня TNF- α на 5-е сутки с диагностикой ХСН II А ст. и более ($R=0,5$; $p=0,02$). В контрольной группе также установлены прямые корреляционные связи между концентрацией TNF- α на 12-е сутки ОИМ и ХСН ≥ II А стадии ($R=0,4$; $p=0,03$), ХСН ≥ II ФК ($R=0,4$; $p=0,01$), с развитием нестабильной стенокардии ($R=0,5$; $p=0,001$). Обнаружены взаимосвязи между концентрацией TNF- α на 5-е сутки после вмешательства и КДИ ($R=0,5$; $p=0,04$), КСИ ($R=0,4$; $p=0,04$), объемом ЛП ($R=0,7$; $p=0,001$) и

обратные взаимосвязи с УО ($R=-0,6$; $p=0,01$), СИ ($R=-0,4$; $p=0,05$). Установлены прямые корреляции объема левого предсердия с сывороточным уровнем TNF- α на 2-е сутки ($R=0,5$; $p=0,05$), 5-е сутки ($R=0,7$; $p=0,001$), 12-е сутки ($R=0,7$; $p=0,002$) после ЧКВ. Таким образом, неблагоприятное постинфарктное ремоделирование сердца ассоциировалось с высокими сывороточными уровнями TNF- α в разные сроки ОИМ.

Известно, что TNF- α вырабатывается вскоре после ишемического повреждения миокарда. Этот цитокин влияет на выживаемость кардиомиоцитов, а также индуцирует их апоптоз, вызывая выработку в клеточной мембране активных форм кислорода, супероксидрадикалов, оксида азота (Шамсиддинова А.С. и соавт., 2013). TNF- α опосредует воспалительный ответ и способствует синтезу других провоспалительных цитокинов (Lytay M. et al., 2004; Sun M. et al., 2004).

В экспериментальных моделях ОИМ показано, что повышение TNF- α в зоне повреждения способствует дилатации сердца и развитию сердечной недостаточности, а тем самым ремоделированию интерстициального коллагена (Шамсиддинова А.С. и соавт., 2013; Sun M. et al., 2004), а также увеличивает число разрывов миокарда посредством развития активного местного воспалительного ответа, апоптоза, дегградации матрикса и коллагена (Шмидт Е.А. и соавт., 2014; Siwik D. et al., 2000). Ранее проведенные клинические исследования показали прямую корреляцию между уровнем TNF- α и высокой частотой неблагоприятных сердечно-сосудистых событий (Шмидт Е.А. и соавт., 2014; Тепляков А.Т. и соавт., 2016; Entman M. et al., 1994).

Таким образом, выявленные в обеих группах положительные корреляционные связи TNF- α с развитием различных конечных точек (повторных ИМ, нестабильной стенокардии, ХСН $\geq$ IIA стадии, ХСН $\geq$ II ФК) свидетельствуют о неблагоприятном влиянии относительно высоких сывороточных концентраций данного провоспалительного цитокина на клиническое течение постинфарктного периода. Кроме того, наше исследование показало снижение уровня TNF- α со вторых суток после трансплантации АМККМ. Возможно, меньшая частота развития клинически значимой ХСН и нестабильной стенокардии в группе трансплантации АМККМ была обусловлена реализацией паракринных эффектов АМККМ.

Известно, что IL-8 обладает выраженными провоспалительными свойствами, вызывает «хоуминг» нейтрофилов в некротизированный очаг воспаления, а также в поврежденные атеросклеротические бляшки, что говорит о его важной роли в развитии воспалительного ответа при ОИМ (Зорин Н.А. и соавт., 2009). Установлено, что повышенный уровень IL-6, IL-8 положительно коррелирует с риском развития сердечно-сосудистых осложнений (Гитель Е.П. и соавт., 2006).

В нашем исследовании в группе контроля наблюдалась статистически значимая прямая корреляционная связь между высокой концентрацией IL-8 на 5-е сутки заболевания и развитием нестабильной стенокардии в отдаленные сроки после первичного ОИМ ($R=0,4$; $p=0,03$), что также свидетельствует о неблагоприятном влиянии высоких сывороточных концентраций IL-8 при ОИМ на последующее течение ИБС.

Как известно, повышенный синтез провоспалительных цитокинов индуцирует секрецию противовоспалительных цитокинов, таких как TGF- β , IL-10, IL-4 (Tedgui A., 2006; Fernandes J.L., 2008). Их действие в свою очередь направлено на снижение синтеза провоспалительных интерлейкинов (IL-1, IL-6, TNF- α и др.), ингибирование матриксных металлопротеиназ, подавление гиперкоагуляции (Smith B. et al., 2001; Licona-Limon P. et al., 2007; Grufman H. et al., 2014). Таким образом, снижение концентрации IL-4 на 2-е и 5-е сутки после ЧКВ и трансплантации, безусловно, оказало влияние на иммунный ответ при ОИМ в группе трансплантации.

В нашем исследовании как в группе трансплантации АМККМ, так и в группе контроля наблюдались положительные корреляционные связи между провоспалительными цитокинами и сывороточным уровнем FGF, определенным до ЧКВ (см. рисунок 5). В свою очередь установлены положительные корреляционные связи между концентрацией в крови FGF до ЧКВ и развитием повторного ИМ в отдаленный период наблюдения как в группе трансплантации АМККМ ($R=0,4$; $p=0,02$), так и в группе контроля ($R=0,3$; $p=0,005$), а также с диагностикой нестабильной стенокардии в группе контроля ($R=0,3$; $p=0,03$). Обнаружено, что большая частота повторных ОИМ наблюдалась у пациентов с более высоким уровнем FGF при ОИМ (21,8 пг/мл против 16,4 пг/мл; $p=0,02$). При проведении анализа взаимосвязей между FGF и эхокардиографическими параметрами установлена сильная положительная корреляционная связь СИ и FGF до ЧКВ ($R=0,7$; $p=0,01$) в группе трансплантации АМККМ.

Мы полагаем, что повышенные уровни FGF в сыворотке крови приводят к чрезмерной пролиферации фибробластов в атеросклеротических бляшках и в миокарде, что способствует усугублению ИБС и негативному постинфарктному ремоделированию сердца. Установлено, что более высокий уровень FGF до ЧКВ ($\geq 17,21$ пг/мл) ассоциирован с неблагоприятным отдаленным прогнозом – развитием повторных ИМ как в контрольной группе, так и в группе трансплантации АМККМ.

Результаты нашего исследования согласуются с данными ряда экспериментальных работ, где было доказано, что усиленная продукция профиброгенных факторов, а именно таких цитокинов, как TGF- β , FGF, тромбоцитарный фактор роста, приводит к гиперпролиферации фибробластов, повышенному синтезу коллагена и, как следствие, к последующему фиброзу тканей (Chen G.J., 2006).

Согласно результатам нашей работы в группе трансплантации АМККМ низкие сывороточные уровни VEGF до ЧКВ у пациентов с ОИМ были связаны с возникновением повторного ОИМ ($R=-0,8$; $p=0,03$) и нестабильной стенокардии ($R=-0,7$; $p=0,001$). Мы предполагали, что трансплантация АМККМ может изменить сывороточные уровни факторов роста, тем самым способствуя васкулогенезу. Тем не менее, такое воздействие не установлено.

Для выявления предикторов развития сердечно-сосудистой смерти среди различных цитокинов и факторов роста мы использовали метод логистической регрессии и построение ROC-кривых (рисунок 7).

В группе трансплантации АМККМ в качестве предиктора смерти в течение $7,70 \pm 0,42$ лет после ОИМ выступил IL-10, а именно его сывороточный уровень до ЧКВ и трансплантации АМККМ менее 3,16 пмоль/мл. По данным логистического регрессионного анализа площадь под ROC-кривой составила 0,918 (ДИ: 0,851–0,948), $p=0,009$.

Остальные показатели по результатам регрессионного логистического анализа были неинформативными.

Проведен математический анализ прогностической значимости исследуемых АФР, про- и противовоспалительных цитокинов в отношении отдаленной выживаемости пациентов. В анализе использовались концентрации АФР и цитокинов до проведения ЧКВ. Из них выделены самые информативные в отношении долгосрочного прогноза пациентов после ОИМ.

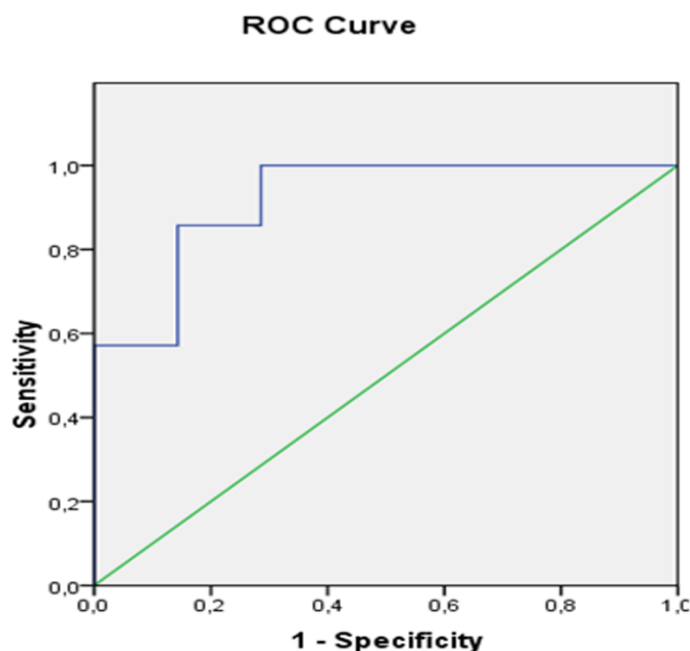


Рисунок 7 – Кривая ROC для IL-10 в группе трансплантации АМККМ

Минимальная вероятность ошибки наблюдалась при комбинации VEGF и FGF и составляла 25%, а добавление остальных АФР и цитокинов приводило к увеличению ошибки. Мы пришли к выводу, что значения VEGF и FGF, определенные до ЧКВ, являются наиболее информативными в прогнозировании отдаленной выживаемости пациентов после ОИМ.

ВЫВОДЫ

1. Трансплантация аутологичных моноклеарных клеток костного мозга в дозе $(93 \pm 43) \times 10^6$ на (20 ± 10) -е сутки острого инфаркта миокарда не эффективна, так как среди пациентов, подвергшихся данному вмешательству, наблюдалась более высокая общая летальность (36% против 12%) и большая частота смерти вследствие сердечно-сосудистого заболевания (29% против 6%).

2. Клеточная терапия аутологичными CD 133+ клетками костного мозга в дозе $(5,7 \pm 2,8) \times 10^6$ на (15 ± 5) -е сутки острого первичного инфаркта миокарда с подъемом сегмента ST безопасна и эффективна, так как у пациентов после этой процедуры не наблюдались повторные инфаркты миокарда, реже диагностировалась нестабильная стенокардия, клинически выраженная хроническая сердечная недостаточность, кроме того, не установлено ее отрицательное влияние на отдаленную выживаемость пациентов.

3. Трансплантация аутологичных CD133+ клеток костного мозга в дозе $(5,7 \pm 2,8) \times 10^6$ на (15 ± 5) -е сутки острого инфаркта миокарда оказывает положительное влияние на структурно-функциональные показатели сердца после ОИМ в виде стабилизации конечного систолического объема и уменьшения конечного диастолического объема левого желудочка (на 10 ± 2 мл по результатам эхокардиографических исследований исходно и через $7,70 \pm 0,42$ лет наблюдения).

4. Трансплантация аутологичных моноклеарных клеток костного мозга в дозе $(93 \pm 43) \times 10^6$ на (20 ± 10) -е сутки острого инфаркта миокарда влияет на цитокиновый ответ при ОИМ в виде снижения уровней провоспалительных цитокинов (TNF- α и IL-1 β , IL-8) в периферической крови после реваскуляризации миокарда, однако не изменяет сывороточные уровни ангиогенных факторов роста на 2, 5, 12-е сутки после инвазивных процедур при ОИМ.

5. Сывороточные концентрации фактора роста фибробластов (более 17,21 пг/мл), сосудистого эндотелиального фактора роста, интерлейкина-10 (менее 3,16 пмоль/мл), определенные до проведения чрескожного коронарного вмешательства и трансплантации АМКМ, являются прогностически важными показателями неблагоприятного течения ишемической болезни сердца в отдаленные сроки после острого инфаркта миокарда.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендовано включение иммуноферментного определения интерлейкина-10, фактора роста фибробластов и сосудистого эндотелиального факторов роста в создание новых лабораторных мультимаркерных панелей для прогнозирования неблагоприятного течения ИБС у больных, перенесших ОИМ.

2. Для продолжения научно-исследовательских работ по клеточной терапии для трансплантации рекомендованы CD 133+ клетки костного мозга в связи с доказанной безопасностью и клинической эффективностью данной процедуры

3. В рамках клинических исследований не рекомендовано использовать моноклеарную фракцию клеток костного мозга для трансплантации больным при ОИМ.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Киргизова, М.А. Отдаленные результаты трансплантации аутологичных моноклеарных клеток костного мозга у больных при остром инфаркте миокарда / В.В. Рябов, **М.А. Киргизова**, Ю.С. Попонина, В.А. Марков, С.В. Попов // Сборник тезисов по материалам Российского национального конгресса кардиологов. – СПб., 2013. – С. 478.

2. Киргизова, М.А. Отдаленные результаты трансплантации аутологичных моноклеарных клеток костного мозга у больных острым инфарктом миокарда / **М.А. Киргизова**, В.В. Рябов, Т.Е. Суслова, Ю.С. Попонина, В.А. Марков, С.В. Попов // Сборник тезисов по материалам II всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновации в хирургии», посвящённой 109-летию со дня рождения академика Ф.Г. Углова. – СПб., 2013. – С. 15–16.

3. Киргизова, М.А. Отдаленные результаты трансплантации аутологичных моноклеарных клеток костного мозга у больных при остром инфаркте миокарда / В.В. Рябов, **М.А. Киргизова**, Т.Е. Суслова, Ю.С. Попонина, В.А. Марков, С.В. Попов // Материалы V съезда кардиологов Сибирского федерального округа. – Барнаул, 2013. – С. 205–207.

4. Киргизова, М.А. Взаимосвязь различных уровней факторов роста и цитокинов в острую стадию первичного инфаркта миокарда и отдаленных исходов болезни / **М.А. Киргизова** // Сборник тезисов четырнадцатого ежегодного научно-практического семинара «Актуальные вопросы клинической и экспериментальной кардиологии». – Томск, 2014. – С. 11–13.

5. Киргизова, М.А. Отдаленные результаты трансплантации аутологичных моноклеарных клеток костного мозга у больных при остром инфаркте миокарда / **М.А. Киргизова** // Сборник тезисов четырнадцатого ежегодного научно-практического семинара «Актуальные вопросы клинической и экспериментальной кардиологии». – Томск, 2014. – С. 13–15.

6. Киргизова, М.А. Отдаленные результаты после трансплантации аутологичных моноклеарных клеток костного мозга больным острым инфарктом миокарда [Электронный ресурс] / **М.А. Киргизова**, В.В. Рябов // Концепт: научно-методический электронный журнал. – 2014. – Приложение № 20 «Современные научные исследования. Вып. 2». – Режим доступа: <http://e-koncept.ru/ext/61>.

7. Kirgizova, M.A. Long-term results of autologous bone marrow mononuclear cell transplantation in STEMI patients / V. Ryabov, **M. Kirgizova**, T. Suslova, V. Markov, R. Karpov // World Congress on Acute Heart Failure, 17–20 May 2014. – Athens.

8. Киргизова, М.А. Отдаленные результаты трансплантации аутологичных моноклеарных клеток костного мозга у больных при остром инфаркте миокарда / В.В. Рябов, **М.А. Киргизова**, Т.Е. Суслова, В.А. Марков // Сборник тезисов докладов V международного конгресса «Кардиология на перекрестке наук» совместно с IX международным симпозиумом по эхокардиографии и сосудистому ультразвуку XXI ежегодной научно-практической конференции «Актуальные вопросы кардиологии». – Тюмень, 2014. – С. 177.
9. Киргизова, М.А. Влияние различных уровней факторов роста и цитокинов в острую стадию первичного инфаркта миокарда на отдаленные исходы болезни / В.В. Рябов, **М.А. Киргизова**, Т.Е. Суслова, В.А. Марков // Сборник тезисов докладов V международного конгресса «Кардиология на перекрестке наук» совместно с IX международным симпозиумом по эхокардиографии и сосудистому ультразвуку XXI ежегодной научно-практической конференции «Актуальные вопросы кардиологии». – Тюмень, 2014. – С. 178.
10. Киргизова, М.А. Отдаленные клинические результаты трансплантации аутологичных моноклеарных клеток костного мозга у больных при остром инфаркте миокарда / **М.А. Киргизова**, В.В. Рябов, Т.Е. Суслова, В.А. Марков, С.В. Попов, Р.С. Карпов // Материалы 2-го международного образовательного форума «Российские дни сердца» // Российский кардиологический журнал. – 2014. – Т. 5 (109), приложение 1. – С. 58–59.
11. Киргизова, М.А. Отдаленные клинические результаты трансплантации аутологичных моноклеарных клеток костного мозга у больных при остром инфаркте миокарда / **М.А. Киргизова** // Материалы российского национального конгресса кардиологов «Инновации и прогресс в кардиологии». – Казань, 2014. – С. 229.
12. Киргизова, М.А. Отдаленные клинические результаты трансплантации аутологичных моноклеарных клеток костного мозга больным при остром инфаркте миокарда / В.В. Рябов, **М.А. Киргизова**, Т.Е. Суслова, Ю.С. Попонина, В.А. Марков, Р.С. Карпов // Сибирский медицинский журнал (Томск). – 2014. – Т. 29, № 3. – С. 30–37.
13. Киргизова, М.А. Отдаленные клинические результаты трансплантации аутологичных CD 133+ клеток костного мозга больным острым инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST / **М.А. Киргизова**, В.В. Рябов, Т.Е. Суслова, **М.А. Штатолкина**, В.А. Марков, Р.С. Карпов // Российский кардиологический журнал. – 2016. – Т. 3 (131), № 6. – С. 80–86.
14. Kirgizova, M.A. Long-term clinical results of autologous bone marrow CD 133+ cell transplantation in patients with ST-Elevation Myocardial Infarction / **M.A. Kirgizova**, T.E. Suslova, V.A. Markov, R.S. Karpov, V.V. Ryabov // Proceedings of the 5th International Scientific Conference «New Operational Technologies», 29–30 September 2015. – 2015. – Vol. 1688. – doi: <http://dx.doi.org/10.1063/1.4936060>.
15. Киргизова, М.А. Долгосрочная клиническая эффективность трансплантации аутологичных моноклеарных клеток костного мозга при остром инфаркте миокарда с подъемом сегмента ST / **М.А. Киргизова**, В.В. Рябов, Т.Е. Суслова, В.А. Марков // Кардиология: новости, мнения, обучение. – 2017. – № 1 (12). – С. 28–35.
16. Киргизова, М.А. Влияние трансплантации аутологичных CD133+ клеток костного мозга на динамику структурно-функциональных показателей сердца в отдаленные сроки после острого инфаркта миокарда / **М.А. Киргизова**, В.В. Рябов, Т.Е. Суслова, В.А. Марков // Материалы 5-го международного образовательного форума «Российские дни сердца». – М., 2017. – С. 54.
17. Kirgizova, M.A. Relationships of growth factors, proinflammatory cytokines, and anti-inflammatory cytokines with long-term clinical results of autologous bone marrow mononuclear cell transplantation in STEMI / V.V. Ryabov, **M.A. Kirgizova**, T.E. Suslova, S.I. Karas, V.A. Markov, R.S. Karpov // Plos ONE [Electronic resource]. – URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176900>.
18. Kirgizova, M.A. Long-term effects of autologous bone marrow CD133+ cell transplantation on myocardial structure and function after acute myocardial infarction/ **M. Kirgizova**, V. Ryabov, T. Suslova, V. Markov, R. Karpov // ESC CONGRESS (Abstract), 2017. – Barselona.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АКШ	– аортокоронарное шунтирование
АМКМ	– аутологичные моноклеарные клетки костного мозга
АФР	– ангиогенные факторы роста
ИАПФ	– ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента
ИБС	– ишемическая болезнь сердца
ИМ	– инфаркт миокарда
ИНЛС	– индекс нарушения локальной сократимости
ИСКА	– инфарктсвязанная коронарная артерия
КДО	– конечный диастолический объем
КДИ	– конечный диастолический индекс
ККМ	– клетки костного мозга
КСИ	– конечный систолический индекс
КСО	– конечный систолический объем
ЛЖ	– левый желудочек
ЛП	– левое предсердие
НРС	– нарушения ритма сердца
НС	– нестабильная стенокардия
ОА	– огибающая артерия
ОИМ	– острый инфаркт миокарда
ОКС	– острый коронарный синдром
ОНМК	– острое нарушение мозгового кровообращения
ПКА	– правая коронарная артерия
ПНА	– передняя нисходящая артерия
ССЗ	– сердечно-сосудистые заболевания
ТФН	– толерантность к физической нагрузке
ФВ	– фракция выброса
ФК	– функциональный класс
ХСН	– хроническая сердечная недостаточность
ЧКВ	– чрескожное коронарное вмешательство
FGF	– фактор роста фибробластов
HGF	– фактор роста гепатоцитов
IGF	– инсулиноподобный фактор роста
IL	– интерлейкин
NYHA	– New-York Heart Association
TGF- β	– трансформирующий фактор роста
TNF- α	– фактор некроза опухоли- α
VEGF	– сосудистый эндотелиальный фактор роста

Научное издание

Киргизова Марина Александровна

**Аутологичные стволовые клетки, факторы роста и цитокины при
первичном остром инфаркте миокарда: отдаленная клиническая
эффективность, влияние на постинфарктное ремоделирование сердца**

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Подписано в печать 21.11.2017. Формат 60×84/16.

Усл. печ. л. 1,4. Уч.-изд. л. 1,3.

Тираж 100 экз. Заказ.

Томский государственный университет
систем управления и радиоэлектроники.
634050, г. Томск, пр. Ленина, 40.
Тел. (3822) 533018.