

## **НАЙБЛИЖЧІ ТА ВІДДАЛЕНІ РЕЗУЛЬТАТИ ІНТРАКОРОНАРНОГО УВЕДЕННЯ АУТОЛОГІЧНИХ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН ПРИ РЕФРАКТЕРНІЙ СТЕНОКАРДІЇ**

*С.І. Естрін, Т.В. Кравченко, А.Р. Печененко*

ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії імені В. Т. Зайцева НАМН України» м. Харків, Україна

### **Ключові слова:**

рефрактерна стенокардія, мезенхімальні стовбурові клітини, інтракоронарне уведення.

Буковинський медичний вісник. Т.24, № 4 (96). С. 27-31.

DOI: 10.24061/2413-0737.XXIV.4.96.2020.99

### **E-mail:**

sergeyestriniox@gmail.com

**Мета роботи** – вивчити ефективність застосування інтракоронарного уведення мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) при рефрактерній стенокардії.

**Матеріал і методи.** В основу роботи лягли результати обстеження, лікування й динамічного спостереження 30 пацієнтів із рефрактерною стенокардією, що перебувають на стаціонарному лікуванні ДУ «Інститут невідкладної та відновної хірургії ім. В.К. Гусака НАМН України» з 2007 по 2014 рік. Нами сформовано дві групи по 15 осіб у кожній: 1-ша група – пацієнти одержували тільки медикаментозну терапію; 2-га група – виконували інтракоронарне уведення аутологічних МСК. Мезенхімальні аутологічні стовбурові клітини кісткового мозку одержували за стандартною методикою й вводили через катетер в устя коронарних судин у дозі 10 млн. клітин.

**Результати.** При контрольному обстеженні у всіх пацієнтів відзначалося підвищення якості життя за Міннесотським опитувальником MLHFQ, зниження ступеня серцевої недостатності за NYHA (Нью-Йоркська асоціація серця) і підвищенню толерантності до фізичного навантаження при проведенні тредміл-тесту. При цьому максимальний ефект розвивався через 1 місяць і втримувався протягом 9-12 місяців. При ультразвуковій доплерографії (УЗДГ) у 1-й групі упродовж всього дослідження відзначалося зниження фракції викиду (ФВ) лівого шлуночка (ЛШ) до  $23,2 \pm 5,2\%$ , у 2-й групі спостерігалося підвищення ФВ із  $31,2 \pm 7,1$  до  $37,4 \pm 5,2\%$  при  $p < 0,05$  і на термін 12 місяців починала знижуватися. На даний період часу в пацієнтів знижувалися дози застосовуваних препаратів, відзначалося посилення толерантності до фізичного навантаження, підтверджувана нами за тредміл-тестом. При картуванні серця за допомогою навігаційної системи САВТО ХР відзначалася подібна динаміка уніполярної амплітуди сигналу міокарда.

**Висновки.** Перший досвід інтракоронарного уведення аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин у пацієнтів з рефрактерною (стенокардією, продемонстрував збільшення функціонального резерву міокарда, що відобразилося в підвищенні якості життя, зниженні доз антиангіальних препаратів, підвищенні фракції викиду лівого шлуночка, а також підвищенні амплітуди уніполярного сигналу.

## **БЛИЖАЙШИЕ И ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИНТРАКОРОНАРНОГО ВВЕДЕНИЯ АУТОЛОГИЧНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ РЕФРАКТЕРНОЙ СТЕНОКАРДИИ**

*С.И. Эстрин, Т.В. Кравченко, А.Р. Печененко*

**Ключевые слова:** рефрактерная стенокардия, мезенхимальные стволовые клетки, интракоронарное введение.

**Цель работы** – изучить эффективность применения интракоронарного введения мезенхимальных стволовых клеток (МСК) при рефрактерной стенокардии.

**Материал и методы.** В основу работы легли результаты обследования,

## Оригінальні дослідження

Буковинський медичний вестник. Т.24, № 4 (96). С.27-31.

лечения и динамического наблюдения за 30 пациентами с рефрактерной стенокардией, находящихся на стационарном лечении в ГУ «Институт неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака НАМН Украины» с 2007 по 2014 год. Нами было сформировано две группы по 15 человек в каждой: 1-ая группа – пациенты получали только медикаментозную терапию; 2-ая группа – выполняли интракоронарное введение аутологичных МСК. Мезенхимальные аутологичные стволовые клетки костного мозга получали по стандартной методике и вводили через катетер в устье коронарных сосудов в дозе 10 млн. клеток.

**Результаты.** При контрольном обследовании у всех пациентов отмечалось повышение качества жизни по Миннесотскому опроснику (MLHFQ), снижение степени сердечной недостаточности по NYHA (Нью-Йоркской ассоциации сердца) и повышение толерантности к физической нагрузке при проведении тредмил-теста. При этом максимальный эффект развивался через 1 месяц и удерживался на протяжении 9-12 месяцев. При ультразвуковой доплерографии (УЗДГ) в 1-ой группе в течение всего исследования отмечалось снижение фракции выброса (ФВ) левого желудочка (ЛЖ) до  $23,2 \pm 5,2\%$ , во 2-ой группе наблюдалось повышение ФВ с  $31,2 \pm 7,1$  до  $37,4 \pm 5,2\%$  при  $p < 0,05$  и к сроку 12 месяцев начинала снижаться. В данный период времени у пациентов снижались дозы применяемых препаратов, отмечалось усиление толерантности к физической нагрузке, подтверждаемая нами по тредмил-тесту. При картировании сердца с помощью навигационной системы CARTO XP отмечалась подобная динамика униполярной амплитуды сигнала миокарда.

**Выводы.** Первый опыт интракоронарного введения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток у пациентов с рефрактерной стенокардией, продемонстрировал увеличение функционального резерва миокарда, что отразилось в повышении качества жизни, снижении доз антиангиальных препаратов, повышении фракции выброса левого желудочка, а также повышении амплитуды униполярного сигнала.

## SHORT-TERM AND LONG-TERM RESULTS OF INTRACORONARY INTRODUCTION OF AUTOLOGOUS MESENCHYMAL STEM CELLS IN EXERTIONAL ANGINA PECTORIS

S.I. Estrin, T.V. Kravchenko, A.R. Pechenko

**Key words:** refractory angina, mesenchymal stem cells, intracoronary introduction.

Bukovinian Medical Herald. V.24, № 4 (96). P. 27-31.

**Purpose** is to study the effectiveness of intracoronary introduction application of mesenchymal stem cells (MSC's) in refractory angina pectoris.

**Material and methods.** The study was based on the results founded by the investigation, treatment and dynamic follow-up results of 30 patients with refractory angina pectoris who underwent the stationary therapy in the department of Urgent and Recovery Cardiac surgery of SI «Institute of Urgent and Recovery Surgery named after V.K. Gusak of NAMS of Ukraine» from 2007 till 2014. We formed 2 groups; each of them included 15 patients: in the first group (a control one), the patients received only medicament therapy; the second group received intracoronary administration of autologous MSC's.

According to NYHA (New York Heart Association) classification, all the patients had II-IV functional class of chronic heart failure (CHF). All the patients earlier went through the different revascularization surgeries.

Mesenchymal autologous bone marrow stem cells were received according to the standard method in the laboratory of cellular and tissue cultivation of SI «Institute of Urgent and Recovery Surgery named after V.K. Gusak of NAMS of

Ukraine». Using the local anesthesia with catheter application in the coronary vessel mouth was implemented a transplant in the dose of 10 million cells.

**Results.** During the control examination, a clinical improvement was observed in all the patients; it was expressed in the quality of life increase according to the Minnesota Questionnaire (MLHFQ); in a decrease of heart failure grade according to NYHA, and tolerance growth to physical exercise during the treadmill test. The maximal effect, by the way, was developed in month and had been holding on during the 9-12 months. Thus if the quality of life before applying the transplantation of autologous MSC was  $58 \pm 1,8$  points; after the 3 months this rate was  $32 \pm 2,2$  points (by  $p < 0,05$ ); but after the 1 year, it was  $37 \pm 2,1$  points and was progressively decreased in the future.

During the ultrasound imaging in the first group was mentioned decrease of left ventricle (LV) ejection fraction (EF) till  $23,2 \pm 5,2\%$  during the whole study; in the second group, it was observed an EF increase from  $31,2 \pm 7,1$  to  $37,4 \pm 5,2\%$  by  $p < 0,05$  and to the deadline of 6 months it began to decrease. In this period of time the patients reduced the doses of taken medicines; it was mentioned tolerance intensification to the physical exercises that we approved with the help of treadmill test.

During the cardiac mapping with the help of navigation system CARTO XP we observed that in 6 months the amplitude of unipolar signal increased from 7,8-8,7 MB to 9,0-9,4 MB in the front-lateral zone; and from 5,3-12,0 to 7,9-14,1 MB in the b posteroseptal correspondingly; it tells about the improvement of electromechanical association and improvement of working function as well as myocardium perfusion. In three years during the control investigation, it was mentioned a negative dynamics in comparison with the baseline results.

**Conclusions.** As we see, the first experience of intracoronary introduction of autologous MSC in patients with refractory angina pectoris showed the raise of myocardium functional reserve that was reflected in the improvement of life quality; reduction of antianginal agent doses; raise of LV EF; as well as in the amplitude of unipolar myocardium signal increase in the MSC introduction zone.

**Введение.** Клеточная терапия является ультрасовременным разделом современной терапии, основанная на использовании живых клеток и направленная на восстановление утраченной или нарушенной функции различных органов и тканей [1]. В ряде работ продемонстрировано, что уже в первые часы острого инфаркта миокарда количество циркулирующих в крови CD34+38-, CD133+, CD117+, CD90+34- клеток значительно увеличивается в сравнении со здоровыми лицами, что демонстрирует участие стволовых клеток (СК) в компенсаторно-приспособительных реакциях у больных острым инфарктом миокарда и ишемической болезнью сердца [2]. Трансплантация аутологичных СК костного мозга у больных ишемической болезнью сердца (ИБС) (инфарктом миокарда, стенокардией III-IV функционального класса и др.), направляемых на реваскуляризацию миокарда, является безопасной и хорошо переносимой процедурой, которую можно сочетать с реваскуляризацией миокарда и приводит к улучшению общей и локальной сократительной функции миокарда, а также нормализации процессов диастолического наполнения левого желудочка (ЛЖ), а также способствует увеличению перфузии миокарда [3,4]. К тому же, трансплантация СК помимо повышения адаптационных резервов миокарда ЛЖ приводит к улучшению

устойчивости к нагрузочным тестам [5, 6].

**Цель работы** – изучить эффективность применения интракоронарного введения мезенхимальных стволовых клеток (МСК) при рефрактерной стенокардии.

**Материал и методы.** В основу работы легли результаты обследования, лечения и динамического наблюдения за 30 пациентами с рефрактерной стенокардией, находящихся на стационарном лечении в отделе неотложной и восстановительной кардиохирургии ГУ «Институт неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака НАМИ Украины» с 2007 по 2014 год. Исследования выполнялись при соблюдении международных правил биоэтики, предъявляемые международными организациями и ассоциациями, соответствует Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации 2010г. пересмотра. Нами было сформировано две группы по 15 человек в каждой: 1-ая группа – контрольная – пациенты получали только медикаментозную терапию; 2-ая группа – выполняли интракоронарное введение аутологичных МСК.

Диагноз рефрактерной стенокардии (РС) был установлен на основании клинической картины у пациентов, анамнезе, данных инвазивных и неинвазивных методов обследования. По классификации NYHA (Нью-Йоркской ассоциации сердца), все пациенты были отнесены к II-

## Оригінальні дослідження

IV функциональному классу хронической сердечной недостаточности (ХСН). Все больные ранее перенесли реваскуляризирующие операции: аортокоронарное шунтирование (АКШ), стентирование коронарных артерий или АКШ+стентирование. Продолжительность заболевания у пациентов составила от 7 до 15 лет, в среднем  $7,42 \pm 3,8$ . Следует отметить, что все пациенты получали медикаментозную терапию. Основными жалобами у больных были: загрудинная боль – у 100% пациентов, одышка – 94,7%, быстрая утомляемость – 77,3%, учащенное сердцебиение – 69,3%, гепатомегалия – 49,3% и кашель у 49,3%.

Мезенхимальные аутологичные стволовые клетки костного мозга получали по стандартной методике в лаборатории клеточного и тканевого культивирования ГУ «Институт неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака НАМН Украины». При интракоронарном введении, всем пациентам до операции выполняли селективную коронарографию на ангиографических установках «Angioscop D» фирмы Siemens (Германия) и «Integris - 3000» фирмы Phillips (Голландия) под местной анестезией (20 мл 0,5% раствора новокаина) по методу M. Jadcinski с введением катетера путем чрескожной пункции бедренной артерии по S. Seldinger и затем при подведении катетера в устье коронарных сосудов вводили трансплантат в дозе 10 млн. клеток. В дальнейшем через 1, 3, 6 месяцев и 1, 3 года оценивали эффективность выполненной операции по данным ультразвуковой доплерографии (УЗДГ), качество жизни по Миннесотскому опроснику (MLHFQ). Статистическую обработку данных результатов экспериментального исследования проводили на компьютере Pentium V Core Due 2 с помощью лицензионного пакета программ Microsoft Excel 2010, Statistica 6.0. Для проверки распределения данных на нормальность использовали тест Шапиро-Уилка (W), что позволило использовать его даже при небольшой выборке ( $n < 30$ ).

**Результаты исследования и их обсуждение.** В исследовании принимали участие пациенты с мультифокальным поражением коронарных сосудов, имеющих как правило в анамнезе инфаркт миокарда (табл.), у части пациентов была сформирована постинфарктная аневризма левого желудочка, имелись определенные нарушения ритма сердца в виде наджелудочковых и желудочковых экстрасистол, фракция выброса (ФВ) была в среднем  $29,8 \pm 5,7\%$ .

При контрольном обследовании у всех пациентов отмечалось клиническое улучшение, что выражалось в повышении качества жизни по MLHFQ, снижении степени сердечной недостаточности по классификации NYHA и повышении толерантности к физической нагрузке при проведении тредмил-теста. При этом максимальный эффект развивался через 1 месяц и удерживался на протяжении 9-12 месяцев. Так, если качество жизни до выполнения трансплантации аутологичных МСК составляло  $58 \pm 1,8$  баллов, то через три месяца данный показатель равнялся  $32 \pm 2,2$  баллов (при  $p < 0,05$ ), но через один год он равнялся  $37 \pm 2,1$  балла и в дальнейшем прогрессивно снижался.

При УЗДГ в 1-ой группе в течении всего исследования отмечалось снижение ФВ ЛЖ до  $23,2 \pm 5,2\%$ , во 2-ой группе наблюдалось повышение ФВ с  $31,2 \pm 7,1$  до  $37,4 \pm 5,2\%$

Таблица  
Исходная клиническая характеристика пациентов с рефрактерной стенокардией

Параметр	1-ая группа		2-ая группа		
	Абс.	%	Абс.	%	
Количество ИМ	1	6	40	5	33,3
	2	4	26,7	7	46,7
Синусовый ритм	13	86,7	13	86,7	
Наджелудочковые экстрасистолы	5	33,3	4	26,7	
Желудочковые экстрасистолы	3	20	3	20	
Аневризма ЛЖ	4	26,7	3	20	
Средняя ФВ ЛЖ, %	28,4 $\pm$ 7,2		31,2 $\pm$ 7,1		
Время от исходного ИМ, годы	2,9 $\pm$ 1,5		2,3 $\pm$ 1,8		

**Примечание:** Различий в клинических характеристиках исследуемых групп не было ( $p > 0,05$ ).

при  $p < 0,05$  и к сроку 12 месяцев начинала снижаться. В данный период времени у пациентов снижались дозы применяемых препаратов, отмечалось усиление толерантности к физической нагрузке, подтверждаемая нами по тредмил-тесту.

При картировании сердца с помощью навигационной системы CARTO XP мы отметили, что через шесть месяцев амплитуда униполярного сигнала увеличилась с 7,8-8,7 мВ до 9,0-9,4 мВ в передне-латеральной зоне и с 5,3-12,0 до 7,9-14,1 мВ в задне-септальной соответственно, что говорит об улучшении электромеханической ассоциации и улучшения функции работы и перфузии миокарда. Однако через 12 месяцев в передне-септальных отделах имела тенденция к ухудшению: амплитуда электрического сигнала снизилась с 5,6 мВ до 4,7 мВ. Через три года при контрольном обследовании отмечается отрицательная динамика по сравнению с первоначальными результатами. Во всех отделах ЛЖ отмечается снижение амплитуды вплоть до формирования рубцовой ткани, в передне-латеральной зоне – до 4,2-4,9 мВ, задне-септальной – до 7,7-7,9 мВ, передне-септальной – до 3,7-5,9 мВ, что свидетельствует об уменьшении эффективности клеточной кардиомиопластики.

**Выводы.** Итак, первый опыт интракоронарного введения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток у пациентов с рефрактерной стенокардией, продемонстрировал увеличение функционального резерва миокарда, что отразилось в повышении качества жизни, снижении доз антиангиальных препаратов, повышении фракции выброса левого желудочка, а также в повышении амплитуды униполярного сигнала миокарда в зоне введения мезенхимальных стволовых клеток. К сожалению эффект нарастал до 9-12 месяцев и затем постепенно ослабевал и через три года наблюдения был значительно меньше по изучаемым параметрам, чем к концу 1 года после лечения,

что диктует необходимость повторной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток.

**Перспективы дальнейших исследований.** Дальнейшее изучение механизмов влияния аутологичных МСК на СН у больных на рефрактерную стенокардию может быть перспективным в лечении последних и может представлять собой промежуточный этап перед трансплантацией сердца.

#### Список литературы

1. Тенюков ВВ, Радаев СМ, Паштаев НП, Марков ДС. Применение стволовых клеток пуповинной крови при неонкологических заболеваниях (обзор литературы). *Здравоохранение Чувашии*. 2011;4:74-7.
2. Шатолкина МА, Рябов ВВ, Сулова ТЕ, Марков ВА. Циркулирующие в крови стволовые клетки: динамика и значение при остром инфаркте миокарда. *Сибирский медицинский журнал*. 2010;25(4):58-62.
3. Бокерия ЛА, Бузиашвили ЮИ, Мацкеплишвили СТ, Камардинов ДХ. Первый опыт применения стволовых клеток костного мозга для регенерационной терапии ишемической болезни сердца. *Кардиология*. 2004;44(9):16-22.
4. Лазарев СМ, Фетисов КВ. Клеточная терапия в лечении ишемической болезни сердца. *Вестник хирургии им. И.И. Грекова*. 2007;166(1):106-11.
5. Потапов ИВ, Кириллов ИА, Онищенко НА. Повышение адаптационных резервов поврежденного миокарда к нагрузочным тестам после трансплантации стромальных клеток костного мозга различного фенотипа. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2007;2(2):45-9.
6. Гринь ВК, Штутин АА, Михайличенко ВЮ, Попандопуло АГ, Эстрин СИ, Денисова ЕМ, и др. Применение аутологичных мезенхимальных стволовых клеток в кардиологии и травматологии. *Журнал НАМН Украины*. 2011;17(1):67-75.

#### Відомості про авторів

Эстрин Сергей Игоревич – канд. мед. наук, старший научный сотрудник, сердечно-сосудистый врач-хирург высшей категории ДУ «Институт общей и неотложной хирургии имени В. Т. Зайцева НАМН Украины», м. Харьков, Украина.

Кравченко Татьяна Владимировна – канд. мед. наук, врач-кардиолог ДУ «Институт общей и неотложной хирургии имени В. Т. Зайцева НАМН Украины», м. Харьков, Украина.

Печененко Антон Русланович – врач-хирург ДУ «Институт общей и неотложной хирургии имени В. Т. Зайцева НАМН Украины», м. Харьков, Украина.

#### Сведения об авторах

Эстрин Сергей Игоревич – канд. мед. наук, старший научный сотрудник, сердечно-сосудистый врач-хирург высшей категории ГУ «Институт общей и неотложной хирургии имени В. Т. Зайцева НАМН Украины», г. Харьков, Украина.

Кравченко Татьяна Владимировна – канд. мед. наук, врач-кардиолог ГУ «Институт общей и неотложной хирургии имени В. Т. Зайцева НАМН Украины», г. Харьков, Украина.

Печененко Антон Русланович – врач-хирург ГУ «Институт общей и неотложной хирургии имени В. Т. Зайцева НАМН Украины», г. Харьков, Украина.

#### Information about the authors

Estrin Sergii - M.D., Ph.D., Senior researcher, cardiovascular surgeon, GI "V.T. Zaycev Institute of General and Urgent Surgery of NAMS of Ukraine", Kharkiv, Ukraine. e-mail: sergeyestrinonx@gmail.com

Kravchenko Tetiana – M.D., Ph.D., cardiologist, GI "V.T. Zaycev Institute of General and Urgent Surgery of NAMS of Ukraine", Kharkiv, Ukraine.

Pechenko Anton – M.D., surgeon, GI "V.T. Zaycev Institute of General and Urgent Surgery of NAMS of Ukraine", Kharkiv, Ukraine. e-mail: pechenenko.anton@gmail.com

#### References

1. Tenyukov VV, Radaev SM, Pashtayev NP, Markov DS. Primenenie stvolovykh kletok pupoviny krovii pri neonkologicheskikh zaboлевaniyakh (obzor literatury) [The use of cord blood stem cells in non-cancer diseases (literature review)]. *Zdravookhranenie Chuvashii*. 2011;4:74-7. (in Russian).

2. Shatolkina MA, Ryabov VV, Suslova TE, Markov VA. Tsirkuliruyushchie v krovii stvolovyye kletki: dinamika i znachenie pri ostrom infarkte miokarda [Stem cells circulating in the blood: dynamics and significance in acute myocardial infarction]. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*. 2010;25(4):58-62. (in Russian).

3. Bokeriya LA, Buziashvili YuI, Matskeplishvili ST, Kamardinov DKh. Pervyy opyt primeneniya stvolovykh kletok kostnogo mozga dlya regeneratsionnoy terapii ishemicheskoy boleznii serdtsa [The first experience of using bone marrow stem cells for regenerative therapy of ischemic heart disease]. *Kardiologiya*. 2004;44(9):16-22. (in Russian).

4. Lazarev SM, Fetisov KV. Kletochnaya terapiya v lechenii ishemicheskoy boleznii serdtsa [Cell therapy in the treatment of coronary heart disease]. *Vestnik khirurgii im. I.I. Grekova*. 2007;166(1):106-11. (in Russian).

5. Potapov IV, Kirillov IA, Onishchenko NA. Povyshenie adaptatsionnykh rezervov povrezhdennoy miokarda k nagruzochnym testam posle transplantatsii stromal'nykh kletok kostnogo mozga razlichnogo fenotipa [Increase of adaptive reserves of damaged myocardium to stress tests after transplantation of bone marrow stromal cells of various phenotypes]. *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya*. 2007;2(2):45-9. (in Russian).

6. Grin' VK, Shtutin AA, Mikhaylichenko VYu, Popandopulo AG, Estrin SI, Denisova EM, et al. Primenenie autologichnykh mezenkhimal'nykh stvolovykh kletok v kardiologii i travmatologii [Application of autologous mesenchymal stem cells in cardiology and traumatology]. *Zhurnal NAMN Ukrainy*. 2011;17(1):67-75. (in Russian).

Надійшла до редакції 12.11.2020

Рецензент — проф. Польовий В.П.

© С.І. Естрін, Т.В. Кравченко, А.Р. Печененко, 2020