

## ВЛИЯНИЕ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ НА БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

© Сергиенко Н.В.<sup>1,2</sup>, Налетова Е.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького, Донецк;

<sup>2</sup> Институт неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака, Донецк

E-mail: [senata75@mail.ru](mailto:senata75@mail.ru)

Представлен опыт внутривенного введения мезенхимальных стволовых клеток (МСК) у пациентов с сердечной недостаточностью на фоне ишемической болезни сердца (ИБС). Аутологичные МСК вводили внутривенно в дозе 50 млн. клеток. Было отмечено увеличение ФВ до  $38,6 \pm 2,3\%$  и  $38,2 \pm 2,4\%$  к концу 12 и 24 недели наблюдения соответственно по сравнению с исходным состоянием ( $35,2 \pm 2,5\%$ ). К концу 12 недели наблюдения отмечено статистически значимое снижение уровня НУП до значения  $311 \pm 26$  пкг/мл в сравнении с исходным  $407 \pm 35$  пкг/мл и с показателями в контрольной группе. К концу 24 недели наблюдения данная тенденция сохранялась. Уровень лактата сыворотки крови к концу 12 недели наблюдения снижался до значения  $4,37 \pm 0,28$  ммоль/л в сравнении с исходным состоянием ( $5,08 \pm 0,26$  ммоль/л). Клеточная терапия в сочетании со стандартной медикаментозной терапией оказывает позитивное влияние на течение ХСН, что подтверждается улучшением основных параметров гемодинамики и снижением уровня биохимических маркеров СН.

**Ключевые слова:** мозговой натрийуретический пептид, лактат, сердечная недостаточность, клеточная терапия.

### EFFECT OF CELL THERAPY ON BIOCHEMICAL MARKERS OF HEART FAILURE IN PATIENTS WITH CORONARY HEART DISEASE

*Sergienko N.V.<sup>1,2</sup>, Naletova E.N.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> M. Gorky Donetsk National Medical University, Donetsk;

<sup>2</sup> V.K. Gusak Institute of Emergency and Reconstructive Surgery, Donetsk

This article provides the information on the intravenous administration of mesenchymal stem cells (MSCs) to patients with heart failure against coronary heart disease. Autologous MSCs were injected intravenously in a dose of 50 million cells. We revealed an increase in ejection fraction up to  $38.6 \pm 2.3\%$  and  $38.2 \pm 2.4\%$  by the end of the 12th and the 24th weeks respectively as compared with the initial state ( $35 \pm 2.5\%$ ). By the end of the 12-week observation we revealed a statistically significant decrease in BNP levels up to  $311 \pm 26$  pg/ml as compared with the initial  $407 \pm 35$  pg/mL on the one hand, and as compared with the control group indices on the other. By the end of the 24-week observation this trend continued. Lactate level by the end of 12-week observation had been decreased by  $4.37 \pm 0.28$  mmol / L compared to the baseline ( $5.08 \pm 0.26$  mmol/l). The cell therapy in combination with the standard medical therapy has a positive effect on the course of heart failure.

**Keywords:** brain natriuretic peptide, heart failure, lactate, cell therapy.

Хроническая сердечная недостаточность (ХСН), несмотря на значительные успехи в изучении этиологии, патогенеза, современные достижения в диагностике и лечении данного заболевания, остается актуальной медицинской и социальной проблемой. Наиболее частой причиной развития ХСН является ишемическая болезнь сердца (ИБС) [9]. Несмотря на успехи медикаментозной терапии, а также хирургических методов лечения ИБС (реvascularизация миокарда), эффективность которых доказана в многочисленных исследованиях, ХСН по-прежнему характеризуется высоким уровнем смертности. Это диктует необходимость разработки и применения новых методов лечения, одним из которых является клеточная терапия [9]. Проведенные в последнее десятилетие исследования показали, что применение клеточных технологий позволяет

улучшить функциональное состояние сердечной мышцы [5, 8, 11, 12]. Наиболее значимым показателем дисфункции миокарда левого желудочка (ЛЖ) у больных ХСН признан мозговой натрийуретический пептид (НУП). Определение его плазменной концентрации рекомендовано в качестве диагностического лабораторного теста для оценки риска сердечно - сосудистых событий у пациентов с ХСН, а также в качестве мониторинга эффективности проводимой терапии [2, 3, 7, 14]. Интерес представляет также изучение уровня лактата у пациентов с ХСН на фоне проводимой терапии [2, 10, 18, 19].

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование включено 60 пациентов (54 мужчины и 6 женщин), страдающих ХСН и ИБС. Возраст пациентов составлял от 42 до 75 лет. Все пациенты подписали добровольное согласие на участие в исследовании. Диагноз стабильной ИБС был верифицирован на основании наличия стабильной стенокардии напряжения, подтвержденной данными суточного мониторирования ЭКГ по методу Холтера на аппарате «Кардиотехника - 04-8» («Инкарт» г.С.-Петербург, Россия) и позитивными результатами тредмил-теста. Тредмил-тест выполнен на аппарате КардиоЛаб «ХАИ Медика» (г. Харьков, Украина) с использованием протокола по Кудряшову [1]. Применялся щадящий протокол в связи с высоким функциональным классом стенокардии и выраженностью ХСН у участников исследования. Гемодинамически значимое атеросклеротическое поражение (стеноз более 50% как минимум одной коронарной артерии) коронарных артерий подтверждено ангиографически с использованием неионного контраста «Визипак-270» на установке «Integris-3000» фирмы Phillips (Голландия) [9]. Качество жизни пациентов оценивали с помощью Миннесотского опросника (MLHFQ) при включении пациента в исследование, а также на 12 и 24 неделе наблюдения [15]. Протокол исследования рассмотрен и одобрен на заседании Комиссии по вопросам биоэтики ГУ «ИНВХ им. В. К. Гусака НАМН Украины» (протокол № 1 от 02.06.2008 г).

Было сформировано 2 группы больных: в 1-ю (основную) группу вошли 30 пациентов, которым проводилась традиционная медикаментозная терапия ХСН, включающая ингибиторы АПФ, блокаторы  $\beta$ -адренорецепторов, диуретики, статины, сердечные гликозиды, антагонисты альдостерона, дополнительно - клеточная терапия с использованием аутологичных мезенхимальных стволовых клеток (МСК). Аутологичные МСК костного мозга получали по стандартной методике в лаборатории клеточного и тканевого культивирования ИНВХ [6, 16]. Трансплантацию полученной культуры клеточностью 50 млн. осуществляли путем внутривенной инфузии пациентам 1-й группы; 2-ю (контрольную) группу составили 30 больных, принимавших традиционную медикаментозную терапию ХСН [4].

При проведении анализа результаты для количественных признаков представлены в виде  $\bar{X} \pm m$  (среднее значение  $\pm$  стандартная ошибка). Для проведения анализа рассчитывался 95% доверительный интервал (95% ДИ) средних

значений показателя. При сравнении групп в соответствующие периоды измерения использовался критерий Стьюдента (нормальный закон распределения), критерий W-Вилкоксона (закон распределения отличался от нормального); при анализе динамики изменения показателя использовался однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) для повторных измерений, при проведении сравнения для 3 групп учитывалась поправка Бонферрони. Различия считались статистически значимыми при величине  $p < 0.05$ . Оценка состояния пациентов осуществлялась исходно и в дальнейшем на 12 и 24 неделе наблюдения. При проведении анализа данных использовался статистический пакет «MedCalc 15.6» (MedCalc Software bvba, 1993-2015).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Пациенты обеих групп были сопоставимы между собой по клиническим и антропометрическим показателям. Основная характеристика пациентов, включенных в исследование, представлена в таблице 1. Исходная оценка функционального состояния сердечно-сосудистой системы пациентов, включенных в исследование, показала, что между двумя группами не существует статистически значимых различий в функциональном классе ХСН, что подтверждается результатами тестов с физической нагрузкой (тест 6-минутной ходьбы, тредмил-тест). Исходная оценка качества жизни пациентов определена по данным Миннесотского опросника «Жизнь с сердечной недостаточностью», являющегося специфичным для данного контингента больных. Статистически значимых различий между двумя группами пациентов выявлено не было.

Проведена оценка динамики показателя фракции выброса (ФВ) ЛЖ под влиянием традиционной медикаментозной терапии и комбинации традиционной медикаментозной терапии с клеточной трансплантацией.

При проведении анализа не было выявлено статистически значимого различия средних значений показателя ФВ ЛЖ между группами ни в одной из точек измерения ( $p > 0,05$  во всех случаях).

В 1-й группе выявлено наличие ( $p=0,004$ ) восходящего линейного тренда для показателя ФВ ЛЖ. При этом выявлено увеличение ( $p=0,001$ ) показателя ФВ ЛЖ к концу 12 недели наблюдения до  $38,6 \pm 2,3\%$  и также увеличение ( $p=0,01$ ) показателя ФВ ЛЖ к концу 24 недели наблюдения до  $38,2 \pm 2,4\%$  в сравнении с исходным состоянием ( $35,2 \pm 2,5\%$ ).

Характеристика групп исследования

Показатель	Среднее значение показателя, $\bar{X} \pm m$		Уровень значимости различия между группами, p
	Основная группа, n=30	Группа контроля, n=30	
Возраст, лет	58,0±1,5	60,1±1,7	0,21
Вес, кг	82,3±1,5	84,9±1,3	0,24
Рост, см	176,7±1,2	176,1±1,0	0,67
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	26,4±0,5	27,4±0,4	0,16
ЧСС, уд. в мин.	79,3±1,9	77,3±1,9	0,45
АД сист., мм рт. ст	127,8±3,1	130,3±2,2	0,17
АД диаст., мм рт. ст	79,8±1,4	79,7±1,2	0,97
6 мин.тест-ходьба, м	315±21	316±20	0,98
Тредмил-тест, м	262±26	335±26	0,05
Миннес.опрос., балл	54,9±2,4	56,1±2,1	0,71

Таблица 2

Динамика показателя фракции выброса левого желудочка в группах исследования

Время исследования	Среднее значение показателя ФВ, % $\bar{X} \pm m$		Уровень значимости различия между группами, p
	Основная группа, n=30	Группа контроля, n=30	
исх	35,2±2,5	37,6±1,2	0,38
ч/з 3 мес.	38,6±2,3*	36,6±1,2	0,46
ч/з 6 мес.	38,2±2,4*	35,0±1,2*	0,23

*Примечание:* при сравнении групп в соответствующие периоды измерения использовался критерий Стьюдента (нормальный закон распределения), критерий W-Вилкоксона (закон распределения отличался от нормального); при анализе динамики изменения показателя использовался ANOVA для повторных измерений; \* – отмечено статистически значимое отличие значения показателя от значений в исходном состоянии, (p<0,05 с учетом поправки Бонферрони).

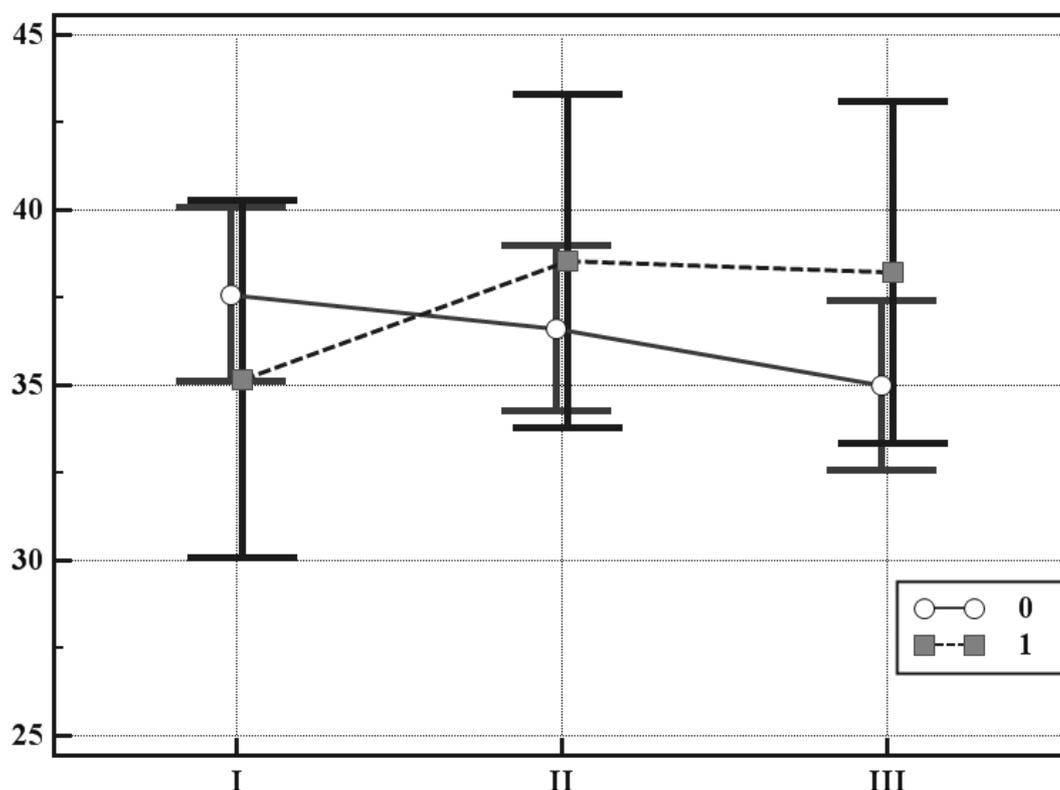


Рис. 1. Динамика изменения показателя ФВ ЛЖ в группе контроля (0) и основной группе (1): I – исходное состояние, II – значение показателя через 3 месяца, III – значение показателя через 24 недели после начала лечения. Указано среднее значение (точка) и 95% ДИ (верхняя и нижняя границы доверительного интервала – усы).

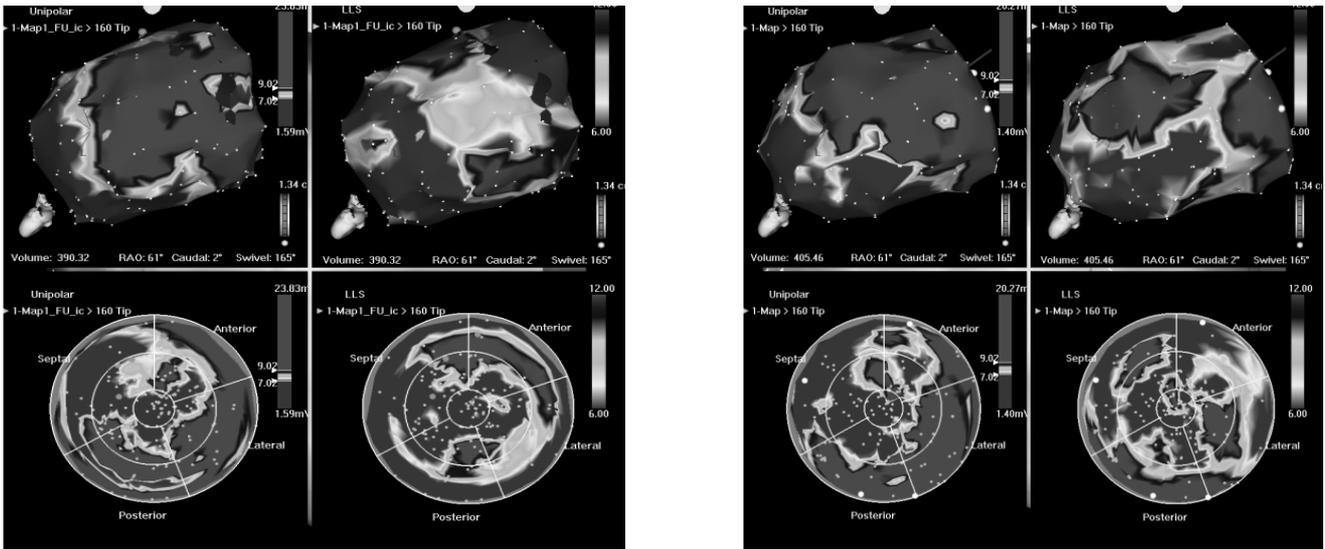


Рис. 2. Больной М., 52 лет. Диагноз: ИБС: стенокардия напряжения ФК III, атеросклеротический и постинфарктный кардиосклероз (передне-перегородочный ИМ ЛЖ в 2007 г.). СН 2б со сниженной ФВ ЛЖ (34%), ФК III по NYHA.

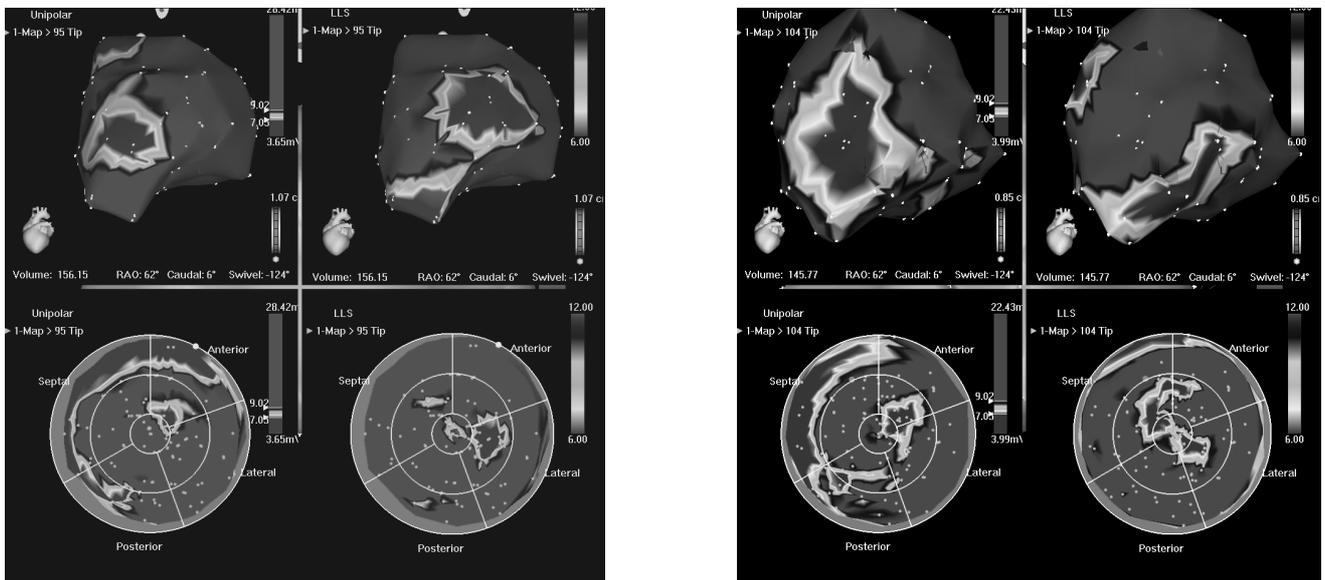


Рис. 3. Больной Ш., 57 лет. Диагноз: ИБС: стенокардия напряжения ФК II, атеросклеротический и постинфарктный кардиосклероз. Состояние поле АКШ III в 2007 г. Окклюзия венозных шунтов. СН 2а, ФК II-III по NYHA.

Наличие тренда для показателя ФВ ЛЖ выявлено ( $p < 0,001$ ) и во 2-й группе, однако в этом случае тренд был нисходящий (см. Рис.1). Так выявлено снижение показателя ФВ ЛЖ к концу 24 недели наблюдения до  $35,0 \pm 1,2\%$  в сравнении с его значением ЛЖ к концу 12 недели наблюдения от  $36,6 \pm 1,2\%$  ( $p = 0,01$ ) и с исходным состоянием, от значения  $37,6 \pm 1,2\%$  ( $p < 0,001$ ).

По данным электроанатомического картирования на аппарате NOGA XR выявлено увеличение амплитуды униполярного сигнала через 3 месяца после введения МСК 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. Во второй группе (только медикаментозная терапия) при

контрольном исследовании существенной динамики не наблюдалось и в ряде случаев отмечено снижение амплитуды вплоть до формирования рубцовой ткани: в передне-латеральной зоне до  $4,0-4,79$  мВ, задне-септальной до  $7,5-7,6$  мВ, передне-септальной до  $3,8-5,7$  мВ.

На рис. 2 представлены электромеханические карты пациента основной группы в динамике.

На исходных картах (слева) до внутривенного введения аутологических МСК в передних и базально-латеральных сегментах ЛЖ определяются зоны гибернации. При контрольном исследовании через 3 месяца после введения МСК в передне-латеральных и задне-септальных

сегментах ЛЖ сердца отмечено уменьшение зон гибернации и ишемии миокарда, а также увеличение площади миокарда с нормальными показателями перфузии.

На рис. 3 представлены электромеханические карты пациента контрольной группы в динамике. При исходном картировании (слева) определяется среднего раз мера зона гипокинеза в латеральных отделах (зона гибернированного миокарда). Контрольное картирование через 3 месяца от начала традиционного медикаментозного лечения (справа): без динамики в сравнении с исходными картами.

Оценена динамика биохимического маркера ХСН мозгового НУП под влиянием обоих вариантов терапии.

При проведении анализа не было выявлено статистически значимого различия ( $p = 0,95$ )

средних значений показателя НУП между группами до проведения лечения ( $407 \pm 35$  пкг/мл в основной группе и  $408 \pm 30$  пкг/мл в группе контроля). К концу 12 недели наблюдения среднее значение показателя НУП в основной группе было статистически значимо ( $p=0,002$ ) ниже, чем в группе контроля ( $311 \pm 26$  пкг/мл и  $453 \pm 34$  пкг/мл, соответственно). Аналогично к концу 24 недели наблюдения среднее значение показателя НУП в основной группе было статистически значимо ( $p<0,001$ ) ниже, чем в группе контроля ( $322 \pm 44$  пкг/мл в основной группе и  $486 \pm 35$  пкг/мл в группе контроля). При этом в группе контроля было выявлено наличие восходящего, а в основной группе – нисходящего, трендов изменения показателей НУП со временем наблюдения ( $p<0,001$ ).

Таблица 3

Динамика показателя НУП в группах исследования

Время исследования	Среднее значение показателя НУП, пкг/мл $\bar{X} \pm m$		Уровень значимости различия между группами, p
	Основная группа, n=30	Группа контроля, n=30	
исходно	$407 \pm 35$	$408 \pm 30$	0,95
12 нед.	$311 \pm 26^*$	$453 \pm 34^*$	0,002
24 нед.	$322 \pm 44^*$	$486 \pm 35^*$	<0,001

*Примечание:* при сравнении групп в соответствующие периоды измерения использовался критерий Стьюдента (нормальный закон распределения), критерий W-Вилкоксона (закон распределения отличался от нормального); при анализе динамики изменения показателя использовался ANOVA для повторных измерений; \* – отмечено статистически значимое отличие значение показателя от значений в исходном состоянии, ( $p<0,05$  с учетом поправки Бонферрони).

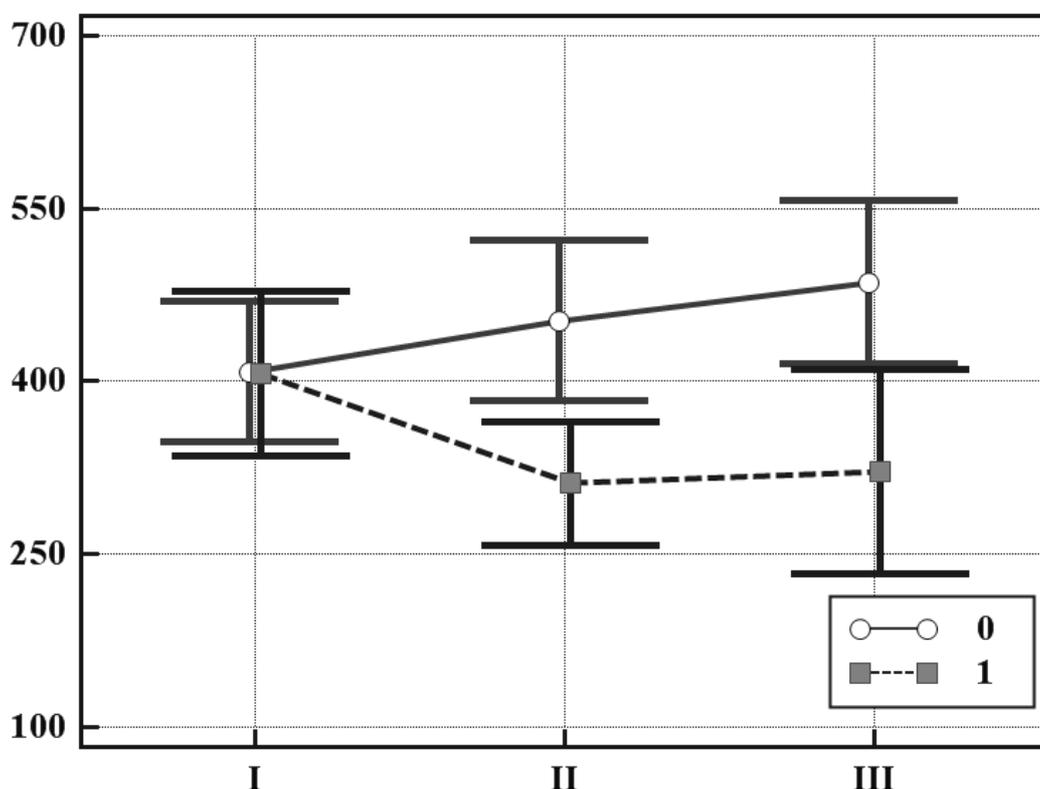


Рис. 4. Динамика показателя НУП в группе контроля (0) и основной группе (1), представлено среднее значение (точка) и 95% ДИ (верхняя и нижняя границы доверительного интервала – усы). Здесь: I – исходное состояние, II – через 12 недель от начала лечения, III – через 24 недели от начала лечения.

Динамика показателя лактата сыворотки крови в группах исследования

Время исследования	Среднее значение показателя лактата сыворотки крови, ммоль/л, $\bar{X} \pm m$		Уровень значимости различия между группами, р
	Основная группа, n=30	Группа контроля, n=30	
исх	5,08±0,26	4,52±0,25	0,12
ч/з 3 мес.	4,37±0,28*	4,8±0,25*	0,18
ч/з 6 мес.	4,86±0,25	5,03±0,25*	0,63

*Примечание:* при сравнении групп в соответствующие периоды измерения использовался критерий Стьюдента (нормальный закон распределения), критерий W-Вилкоксона (закон распределения отличался от нормального); при анализе динамики изменения показателя использовался ANOVA для повторных измерений; \* – отмечено статистически значимое отличие значения показателя от значений в исходном состоянии, (p<0,05 с учетом поправки Бонферрони).

При проведении анализа не было выявлено статистически значимого различия средних значений показателя лактата сыворотки крови между группами ни в одной из точек измерения (p> 0,05 во всех случаях).

Современные взгляды на патогенез ХСН обуславливают включение в фармакотерапию данного патологического состояния таких медикаментозных препаратов, как ингибиторы АПФ, блокаторы бета-адренорецепторов, диуретики, сердечные гликозиды, антагонисты альдостерона. Важную роль играют также хирургические методы коррекции заболеваний, приведших к развитию ХСН, в частности, реваскуляризация миокарда при ИБС. Несмотря на это, достичь значимого результата в лечении ХСН у пациентов, имеющих выраженную систолическую дисфункцию, являющуюся результатом наличия больших постинфарктных рубцовых зон, бывает крайне трудно. Развитие фундаментальных разделов клеточной и молекулярной биологии открывает новые возможности в лечении заболеваний сердца и сосудов [13,17]. Наше исследование показало эффективность применения МСК у пациентов с ХСН при ИБС, которое проявлялось в повышении ФВ ЛЖ, снижении уровня показателей биохимических маркеров ХСН и улучшении качества жизни пациентов.

По данным Patel A.N. и соавт. на фоне клеточной терапии отмечалось уменьшение выраженности клинических симптомов ХСН и уровня МНП через 3-6 месяцев после введения МСК [12], что наблюдалось и в нашем исследовании. В рамках исследования POSEIDON [5] было установлено умеренное позитивное влияние на систолическую функцию ЛЖ и качество жизни пациентов после применения клеточной терапии, что согласуется с результатами представленного нами исследования. В то время как в исследовании FOCUS-CCTRN введение МСК пациентам с ишемической кардиомиопатией не привело к достоверному снижению конечного диасто-

лического объема (КДО) левого желудочка, уменьшению проявлений ХСН в исследуемых группах [13]. Различия в результатах исследований могут быть обусловлены неоднородностью характеристики пациентов, путей введения и клеточности культуры МСК.

Исследование показало, что включение в традиционную медикаментозную терапию ХСН внутривенной трансплантации аутологичных МСК позволяет достичь лучших результатов в лечении, что подтверждается клинически, а также при проведении инструментальных и лабораторных исследований. При контрольном тестировании отмечается улучшение качества жизни пациентов. Однако эффект аутопересадки МСК относительно кратковременный, что требует повторения данной процедуры с периодичностью 4-5 месяцев. Позитивное влияние клеточной трансплантации на течение ХСН позволяет внедрить данный вид клеточной кардиомиопластики в клиническую практику, особенно в случаях, когда реваскуляризирующие операции невозможны.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Кудряшев В.Э., Иванов С.В., Белецкий Ю.В. Количественная оценка нарушений кровообращения (пробы с физической нагрузкой) – М. : Медицина, 2000. – 224 с.
2. Ahmad T., Fiuzat M., Felker G.M., O'Connor C. Novel biomarkers in chronic heart failure// Nature Reviews Cardiology. – 2012. – Vol. 9, N 6. – P.347-359.
3. Desai A.S. Are serial BNP measurements useful in heart failure management? Serial natriuretic peptide measurements are not useful in heart failure management: the art of medicine remains long // Circulation. – 2013. – Vol. 127. – P.509-516.
4. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure, 2012 The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology [Электронный ресурс] // European Heart Journal. – Режим доступа: <https://www.nvvc.nl/media/richtlijn/146>, свободный (03.11.13).

5. *Hare J.M.* Comparison of allogeneic vs autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells delivered by transcatheter injection in patients with ischemic cardiomyopathy: The POSEIDON randomized trial // *JAMA*. – 2012. – Vol. 308, N 22. – P. 2369-2379
6. *Horwitz E.M.* Clarification of the nomenclature for MSC: The International Society for Cellular Therapy position statement // *Cytotherapy*. – 2005. – Vol.7, № 5. – P. 393-395.
7. *Januzzi J.L. Jr., Rehman S.U., Mohammed A.A.* Use of amino-terminal pro-B-type natriuretic peptide to guide outpatient therapy of patients with chronic left ventricular systolic dysfunction // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2011. – Vol. 58, N 18. – P. 1881-1889
8. *Jeevanantham V.* Adult bone marrow cell therapy improves survival and induces long-term improvement in cardiac parameters: a systematic review and meta-analysis // *Circulation*. – 2012. – Vol. 126. – P.551-568.
9. *Judkins M. P.* Selective coronary arteriography. I. A percutaneous transfemoral technic // *Radiology*. – 1967. – Vol.89, N 5. – P. 815-824.
10. *Ky B., French B., Levy W.C.* Multiple biomarkers for risk prediction in chronic heart failure // *Circulation: Heart Failure*. – 2012. – N 5. – P.183-190.
11. *Leri A., Anversa P.* Stem cells: bone-marrow-derived cells and heart failure—the debate goes on // *Nature Reviews Cardiology*. – 2013. – № 10. – P.372-373.
12. *Patel A.N. Francisco S., Winters A.A.* Stem cells therapy for heart failure // *Heart Failure Clinics*. – 2015. – Vol. 11. – P. 275-286
13. *Petrin E.C., Willerson J.T., Pepine C.J.* Effect of transcatheter delivery of autologous bone marrow mononuclear cells on functional capacity, left ventricular function, and perfusion in chronic heart failure: the FOCUS-CCTRN trial // *JAMA*. – 2012. – Vol. 307, N 16. – P. 1717-1726.
14. *Porapakkham P., Porapakkham P., Zimmet H.* B-type natriuretic peptide-guided heart failure therapy: A meta-analysis // *Archives of Internal Medicine*. – 2010. – Vol. 170, N 6. – P. 507-514.
15. *Rector T.S., Kubo S.H., Cohn J.N.* Patients' self-assessment of their congestive heart failure. Part 2: Content, reliability and validity of a new measure, the Minnesota Living with Heart Failure questionnaire// *Heart Failure*. – 1987. – Vol. 3. – P. 198-209.
16. *Secunda R.* Isolation, expansion and characterisation of mesenchymal stem cells from human bone marrow, adipose tissue, umbilical cord blood and matrix: a comparative study // *Cytotechnology*. – 2015. – Vol. 67, N 5. – P. 793-807.
17. *Tang Y.L., Wang Y.J., Chen L.J., Pan Y.H., Zhang L., Weintraub N.L.* Cardiac-derived stem cell-based therapy for heart failure: progress and clinical applications // *Experimental Biology Medicine* (Maywood). – 2013. – Vol. 238, N 3. – P. 294-300.
18. *Troughton R.W., Frampton C.M., Nicholls M.G.* Biomarker-guided treatment of heart failure: still waiting for a definitive answer // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2010. – Vol. 56. – P. 2101-2104.
19. *Watson N.C., Heard O.S.* The use of lactate as a biomarker // *J. Intensive Care Med*. – 2010. – Vol. 25, N 5. – P. 301-302.