

<https://doi.org/10.30702/ujcvs/21.4203/e007028-037/073.48>
УДК 616.127-005.8-092.9-08:576.3:615.361+616.12-008.1-073.48

Естрін С. І.^{1,2}, канд. мед. наук, ст. наук. співробітник, лікар-хірург серцево-судинний вищої категорії відділення кардіохірургії, <https://orcid.org/0000-0003-3957-5971>

Кравченко Т. В.¹, канд. мед. наук, лікар-кардіолог вищої категорії відділення кардіохірургії

Ковальчук А. О.¹, лікар-хірург серцево-судинний I категорії відділення кардіохірургії

¹ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії імені В. Т. Зайцева НАМН України», м. Харків, Україна

²ДУ «Інститут невідкладної та відновної хірургії імені В. К. Гусака НАМН України», м. Київ, Україна

Вплив трансплантації мезенхімальних стовбурових клітин на функціональну активність серця при експериментальному інфаркті міокарда

Резюме. У дослідженні експериментально вивчали ефективність лікування інфаркту міокарда шляхом внутрішньовенного, інтракоронарного та інтраміокардіального введення аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку. Представлені безпосередні результати кардіоміопластики стовбуровими клітинами при гострому експериментальному інфаркті. Встановлено покращення контрактильної функції серця при всіх способах введення, найкращі результати отримані в разі ін'єкційного інтраміокардіального введення.

Ключові слова: кардіоміопластика, мезенхімальні стовбурові клітини, інфаркт міокарда, скорочувальна функція серця.

Вступ. Ішемічна хвороба серця (ІХС) посідає перше місце серед серцево-судинних захворювань за частотою ускладнень і кількістю летальних наслідків. У США вона слугує причиною кожної п'ятої смерті [1]. В Україні діагноз ІХС встановлюють приблизно 400 тис. пацієнтам щорічно [2, 3]. Серцева недостатність, зумовлена післяішемічним ремоделюванням міокарда, є одним з найтяжчих захворювань з несприятливим життєвим прогнозом. До неї можуть призводити як наслідки інфаркту міокарда (ІМ), як одного з гострих проявів ІХС, так і хронічний перебіг ІХС. Традиційні методи лікування цієї категорії пацієнтів, які існують на сьогодні, це: медикаментозна терапія, пряма ревазуляризація міокарда (аортокоронарне шунтування або ангіопластика зі стентуванням), а також трансплантація серця. Незважаючи на великий арсенал медикаментозних препаратів і хірургічних видів інтервенції, нині залишається значна кількість хворих з ІХС, у яких хірургічне втручання з різних причин неможливе, а сучасна медикаментозна терапія недостатньо ефективна у запобіганні процесам післяішемічного ремоделювання міокарда [4–7].

Сучасні дослідження в галузі біології стовбурової клітини кардинально змінили всі уявлення про регенеративну здатність міокарда та стали початком нового перспективного терапевтичного напрямку – клітинної кардіоміопластики, який спрямований на створення нових клітин і стійких ростків нормально функціонуючого міокарда шляхом імплантації ауто-

логічних мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) кісткового мозку [8–14].

На сьогодні трансплантацію МСК кісткового мозку багато фахівців розглядають як потенційно перспективну терапію для пацієнтів з ускладненими формами ІХС. Однак масштабних досліджень з оцінювання ефективності імплантації МСК кісткового мозку у пацієнтів з ІХС дотепер не проводилось [15].

Багато фундаментальних питань клітинної терапії залишаються відкритими: механізми хоумінга, диференціювання і приживлення трансплантованих МСК, роль клітинного злиття і механізми впливу трансплантованих клітин на функцію і метаболізм серцевого м'яза. Залишається також предметом дискусії найбільш ефективний спосіб доставки клітин у міокард, час проведення кардіоміопластики, кількість клітин у трансплантаті та способи його підготовки, хоча дослідженню цих питань присвячено багато робіт. Також механізми, що лежать в основі регенеративного потенціалу МСК, до кінця не з'ясовані і вимагають подальшого вивчення.

Мета дослідження – вивчити вплив різних способів трансплантації МСК на морфометричні та функціональні показники післяінфарктного ремоделювання серця при експериментальному інфаркті міокарда лівого шлуночка.

Матеріали та методи. Експеримент виконували на 142 щурах лінії Вістар-Кайота, вагою 200–220 г, яких утримували в умовах віварію відділу експери-

ментальної хірургії ДУ «Інститут невідкладної і відновної хірургії імені В. К. Гусака НАМН України». Породу Вістар-Кайота використовували, оскільки вона є інбредною, що мінімізує реакцію відторгнення завдяки її генетичній однорідності.

Тварин утримували у віварії в умовах 12-годинного світлового дня, кімнатної температури і доступу до води та їжі *ad libitum* за температури повітря +20–22 °С, вологості не більше ніж 50 %, у світловому режимі – день-ніч. Використання тварин в експерименті проводилось відповідно до правил, регламентованих «Європейською конвенцією з нагляду і захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986), Директивою Ради Європейської Співдружності від 24.11.1986 р. та розпорядженням МОЗ України № 32 від 22.02.1988 р. Оперативні втручання виконували в умовах експериментальної операційної під кетаміновим наркозом (12,5 мг/100 г маси тіла внутрішньом'язово).

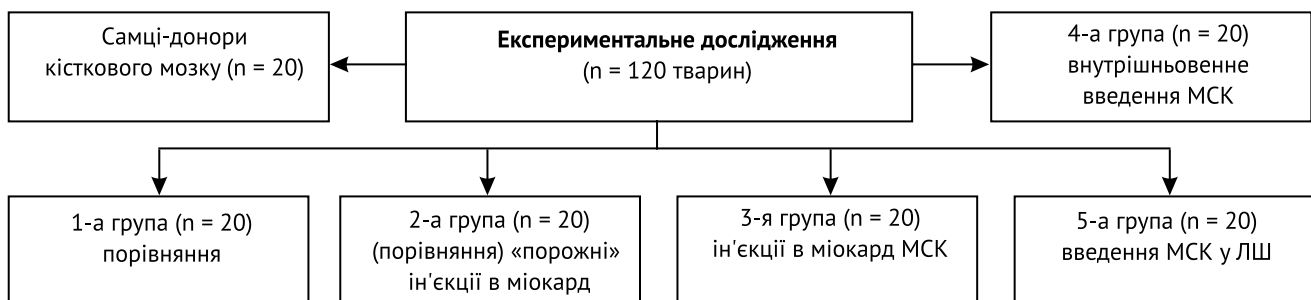
Індукцію ІМ здійснювали за розробленою нами методикою в умовах загального знеболювання. У положенні тварини на спині виконували стернотомію, перикардіотомію, після чого прошивали і перев'язували передню міжшлуночкову артерію. Стернотомну рану ушивали пошарово. Під час операції температура тіла тварин підтримувалася на рівні $37,0 \pm 0,5$ °С за рахунок зовнішнього джерела тепла. 22 тварини померли в перші години після моделювання патологічного стану внаслідок розвитку життєзагрожуючих аритмій. Таким чином, експериментальне дослідження проводилося на 120 тваринах, які були розділені на 6 груп (по 20 у кожній серії). У п'ять груп дослідження увійшли самиці (по 20 голів у кожній серії) (рисунк 1).

Окрему групу становили 20 самців, яких ми використовували як донорів МСК для подальшого дослідження за Y-хромосомою хоумінга клітин в організмі. З п'яти груп: у 1-й групі не проводили будь-якого лікування, у 2-й групі виконували «порожні» ін'єкції в міокард в зони ішемії, які визначали макроскопічно, у 3-й групі проводили ін'єкції МСК безпосередньо в міокард у дозі 10 млн клітин, у 4-й групі МСК вводили

внутрішньовенно в такій самій дозі шляхом пункції хвостової вени, у 5-й групі МСК вводили в порожнину лівого шлуночка (ЛШ) шляхом пункції та проведення катетера крізь праву стегнову артерію, таким чином створювалася максимальна концентрація МСК у вічках коронарних судин.

Мезенхімальні стовбурові клітини отримували з кісткового мозку тварин з додаванням 625 од/мл гепарину. Культивування МСК проводили в суміші живильних середовищ DMEM/F12, 1 : 1, з додаванням 10 % ембріональної телячої сироватки, 0,75 мг/мл глютаміну, 2 нг/мл основного фактору росту фібробластів і по 100 од/мл пеніциліну і стрептоміцину в CO₂-інкубаторі за температури 37 °С і 5 % атмосфери CO₂. Зміну середовища здійснювали кожні 3–4 доби культивування. Культури досягали первинного моношару на 8–11-у добу культивування залежно від щільності засіву первинно виділеної клітинної суспензії, індивідуальних особливостей донорів та рівня проліферативної активності клітин. Пасирування проводили з використанням суміші розчинів трипсину/ЕДТА у співвідношенні 0,05 % : 0,02 % (USA), pH 7,4. Коефіцієнт пасирування становив 1 : 2 або 1 : 3. Після цього клітини культивували в CO₂-інкубаторі за тих самих умов. У результаті цих маніпуляцій отримували неколітовану клітинну культуру МСК.

Ми проаналізували результати макроскопічного дослідження отриманого під час аутопсії міокарда тварин різних експериментальних груп, які були зіставлені з даними прижиттєвого ультразвукового дослідження (УЗД) серця, яке проводили на апараті для новонароджених за допомогою датчика 12 МГц. Вивчали такі показники серця тварин у різних дослідницьких групах: LVIDd – end-diastolic left ventricular internal dimension (кінцевий діастолічний внутрішній діаметр ЛШ); LVIDs – end-systolic left ventricular internal dimension (кінцевий систолічний внутрішній діаметр ЛШ); FS – fractional shortening (ФУ, фракція укорочення); EF – ejection fraction (ФВ, фракція викиду); SV – stroke volume (УО, ударний об'єм). Терміни дослідження становили 1 і 3 місяці після експерименту.



Рисунк 1. Дизайн експериментального дослідження

Таблиця 1

Морфометричні показники серця щурів з експериментальним інфарктом міокарда

Показник	Групи					
	Контроль	1 (n = 20)	2 (n = 20)	3 (n = 20)	4 (n = 20)	5 (n = 20)
BW – маса тіла, г	302,4 ± 13,2	301,5 ± 12,8	300 ± 14,3	302,8 ± 12,2	300 ± 14,2	302,1 ± 11,5
HW – маса серця, г	1,064 ± 0,025	1,029 ± 0,012	1,032 ± 0,014	1,062 ± 0,016	1,054 ± 0,02	1,036 ± 0,014
LW – маса ЛШ, г	0,62 ± 0,05	0,48 ± 0,018	0,47 ± 0,014	0,61 ± 0,019	0,6 ± 0,05	0,51 ± 0,014
HW/BW, г/г	0,354 ± 0,019	0,345 ± 0,021	0,347 ± 0,03	0,353 ± 0,02	0,355 ± 0,02	0,351 ± 0,013
LW/BW, г/г	0,2 ± 0,02	0,16 ± 0,01	0,16 ± 0,02	0,19 ± 0,02	0,2 ± 0,02	0,16 ± 0,01

Примітка. Статистична достовірність показників наведена в тексті.

Статистичну обробку результатів експериментального дослідження проводили на комп'ютері Pentium V Core Due 2 за допомогою ліцензійного пакету програм Microsoft Excel 2010, Statistica 6.0.

Результати та обговорення. Під час дослідження маси тіла експериментальних тварин (таблиця 1) виявлено, що у всіх досліджуваних групах різниці порівняно з групою контролю не було.

При вивченні показників маси серця (HW) тварин ми також відзначили відсутність суттєвої різниці в досліджуваних групах порівняно з контролем. Далі ми вивчали масу лівого шлуночка (LW) і коефіцієнти HW/BW і LW/BW (див. таблицю 1).

У 1-й групі маса ЛШ становила $0,48 \pm 0,018$ г, що було набагато нижче від норми ($0,62 \pm 0,05$) г, при $t = 2,6$, $p < 0,01$. Великий ІМ призводив до розвитку рубцевої тканини і зменшення маси ЛШ при незмінній масі серця, ймовірно, за рахунок компенсаторної гіпертрофії інших відділів серця. У віддалені терміни після ІМ маса серця зростає за рахунок гіпертрофованих правих відділів. У 2-й групі маса ЛШ дорівнювала ($0,47 \pm 0,014$) г, що було також набагато менше від норми, при $t = 2,9$, $p < 0,01$. При цьому достовірних відмінностей за цим показником між 1-ю і 2-ю групами тварин виявлено не було. Між 3-ю і 4-ю групами також не було значної різниці за досліджуваним показником, поряд із цим вони не відрізнялися від норми ($t = 0,19$ і $0,3$ відповідно). У 5-й групі ми відзначали зниження маси ЛШ до ($0,51 \pm 0,014$) г, що було нижче від норми ($t = 2,12$, $p < 0,01$). Слід зазначити, що маса ЛШ була менша в 1-, 2- і 5-й групах порівняно з 3-ю і 4-ю групами.

Дані інтегрального відношення HW/BW залишалися незмінними у всіх групах порівняно з нормою, що пояснювалося рубцюванням і дилатацією ЛШ, які призводили до зниження його насосної функції та розвитку серцевої недостатності у великому колі кровообігу. Далі процес ремоделювання призводив до мітральної регургітації крові і збільшення обсягу лівого передсердя, а це, в свою чергу, до збільшення тиску в малому колі кровообігу. Таке перевантаження серця до певного моменту компенсується гіпертрофією пра-

вих відділів, і в кінцевому рахунку розвивається недостатність кровообігу ще й по малому колу, що за підсумком призводить до летального результату.

На наш погляд, більш цікавим видається вивчення інтегрального показника відношення LW/BW. Так, у 1-й групі відбувалося його зменшення до ($0,16 \pm 0,01$) при нормі ($0,2 \pm 0,02$) і $t = 1,8$, $p < 0,05$. У 2-й групі також відзначалося зниження цього показника до ($0,16 \pm 0,02$) і $t = 1,4$, $p < 0,05$. У 3-й і 4-й групах інтегральний показник LW/BW не змінений відносно контролю. У 5-й групі він знижувався до ($0,16 \pm 0,01$) і наближався до значень, отриманих у 1-й і 2-й групах, тобто був також нижче, ніж у 3-й і 4-й групах.

Отже, у результаті морфометричного дослідження встановлено, що при ІМ маса серця і тіла тварин залишається незмінною за рахунок гіпертрофії та збільшення маси правих відділів серця і частково лівого передсердя, а маса ЛШ за рахунок заміщення міокардіоцитів сполучною тканиною і дилатації порожнин зменшується, при цьому об'єм його зростає. Проте в разі внутрішньовенного та інтраміокардіального введення МСК це зменшення нівелюється практично до нормальних значень. Цей факт підтверджується стабільним показником HW/BW і чіткою динамікою LW/BW (див. таблицю 1).

Під час вивчення LVIDd ЛШ виявлено, що в 1-й групі він збільшився з ($6,16 \pm 0,12$) до ($7,19 \pm 0,16$) мм при $t = 5,15$, $p < 0,001$. У 2-й групі відзначалась аналогічна тенденція: цей показник збільшився до ($7,21 \pm 0,14$) мм при $t = 5,7$, $p < 0,001$. У 3-й і 4-й групах LVIDd залишався без зміни при $t = 0,12$ і $0,98$ відповідно. У 5-й групі LVIDd також збільшився до ($6,81 \pm 0,15$) мм при $t = 3,4$, $p < 0,01$, але дещо до менших значень, ніж у перших двох групах. Під час вивчення LVIDs ЛШ було виявлено, що в 1-й групі він збільшився з ($2,82 \pm 0,18$) до ($3,82 \pm 0,11$) мм при $t = 4,7$, $p < 0,05$. У 2-й групі цей показник так само зріс до ($3,76 \pm 0,13$) мм при $t = 4,2$, $p < 0,01$. Слід зазначити, що в 3-й і 4-й групах LVIDs залишався незмінним, а в 5-й групі збільшився до ($3,62 \pm 0,13$) мм при $t = 3,5$, $p < 0,05$. При цьому LVIDs у 5-й групі істотно не відрізнявся від показників 1-ї і

Таблиця 2

Ультразвукові показники функціонування серця у щурів з ІМ

Показник	Група					
	контроль	1 (n = 20)	2 (n = 20)	3 (n = 20)	4 (n = 20)	5 (n = 20)
LVIDd, mm	6,16 ± 0,12	7,19 ± 0,16	7,21 ± 0,14	6,18 ± 0,11	6,34 ± 0,14	6,81 ± 0,15
LVIDs, mm	2,82 ± 0,18	3,82 ± 0,11	3,76 ± 0,13	2,85 ± 0,14	2,93 ± 0,15	3,62 ± 0,13
FS, %	45,3 ± 1,7	26,8 ± 0,8	27,3 ± 0,7	45,0 ± 0,9	42,6 ± 0,12	31,2 ± 0,9
EF, %	76,9 ± 2,5	55,3 ± 3,4	56,2 ± 3,2	75,8 ± 3,2	70,6 ± 2,3	66,5 ± 3,3
SV, ml	0,25 ± 0,08	0,13 ± 0,03	0,15 ± 0,05	0,24 ± 0,07	0,21 ± 0,02	0,18 ± 0,02

Примітка. Статистична достовірність показників наведена в тексті.

2-ї груп і був вищим за показники 3-ї і 4-ї груп при $t = 4,0$, $p < 0,01$. Таким чином, найкращі показники LVIDd і LVIDs були отримані в 3-й і 4-й групах тварин (таблиця 2).

При порівнянні ФУ було виявлено, що в 1-й і 2-й групах цей показник зменшився до $(26,8 \pm 0,8)$ і $(27,3 \pm 0,7)$ % відповідно при $t = 9,8$, $p < 0,001$. У 3-й групі він залишався незмінним і дорівнював $(45,0 \pm 0,9)$ % при $t = 0,16$, $p > 0,05$. У 4-й групі ФУ була трохи нижче від норми і становила $(42,6 \pm 0,12)$ % при $t = 1,98$, $p < 0,05$, а також трохи нижче показників 3-ї групи при $t = 2,6$, $p < 0,05$. У 5-й групі ФУ становила $(31,2 \pm 0,9)$ %, що було також нижче нормальних значень при $t = 7,3$, $p < 0,001$. При цьому ФУ була достовірно вищою в 5-й групі порівняно з результатами, отриманими в 1-й і 2-й групах при $t = 3,7$ і $3,4$ відповідно, $p < 0,05$, а також достовірно нижчою, ніж у 3-й і 4-й групах при $t = 10,8$ і $12,6$ відповідно, $p < 0,001$.

Подібну тенденцію ми спостерігали при аналізі динаміки зміни ФВ ЛШ. Так, у 1-й групі вона зменшилася з $(76,9 \pm 2,5)$ до $(55,3 \pm 3,4)$ % при $t = 5,1$, $p < 0,05$, у 2-й групі спостерігалася така сама картина, причому різниці за цим показником між 1-ю і 2-ю групами не було виявлено. У 3-й групі ФВ не відрізнялася від норми, а в 4-й групі цей показник був нижче від норми і становив

$(70,6 \pm 2,3)$ % при $t = 1,9$, $p < 0,05$. У 5-й групі ФВ також зменшилася до $(66,5 \pm 3,3)$ при $t = 2,5$, $p < 0,05$. Слід зазначити, що показник ФВ у 5-й групі був достовірно вищим, ніж у 1-й і 2-й групах при $t = 2,4$ і $2,2$ відповідно, $p < 0,05$, але водночас достовірно нижче, ніж у 3-й групі при $t = 2,02$, $p < 0,05$. Показник ФВ між 4-ю і 5-ю групами істотно не відрізнявся.

Динаміка зміни УО в експериментальних групах була такою: у 1-й і 2-й групах показник зменшився з $(0,25 \pm 0,08)$ до $(0,13 \pm 0,03)$ і $(0,15 \pm 0,05)$ мл відповідно при $t = 1,9$, $p < 0,05$, а в інших групах цей показник залишався практично незмінним. Однак у 3-й групі УО був найбільш наближений до норми.

Таким чином, найбільш наближеними до норми були показники, отримані в 3-, 4- і 5-й групах, при цьому в 3-й групі вони практично не відрізнялися від норми. Тобто найкращі показники були досягнуті в групі з інтраміокардіальними ін'єкціями МСК. Отже, дані ультразвукової картини збігалися з даними морфометричного дослідження видалених після евтаназії сердець.

Ми вивчили низку якісних характеристик роботи серця за даними УЗД. Так, наявність систолічного потовщення ураженого сегмента міокарда при ІМ у систолу було або знижено, або взагалі відсутнє. У терміни

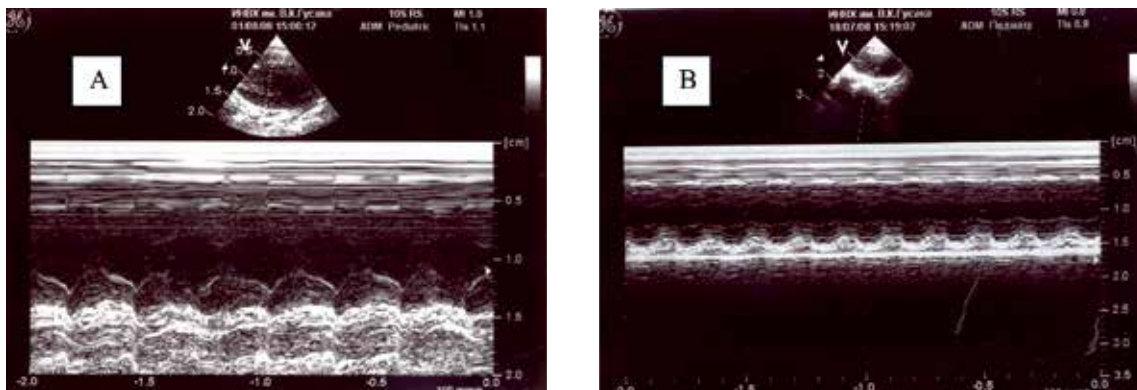


Рисунок 2. Ехокардіограми серця у щурів у нормі (А) і через 1 місяць після моделювання ІМ (В)

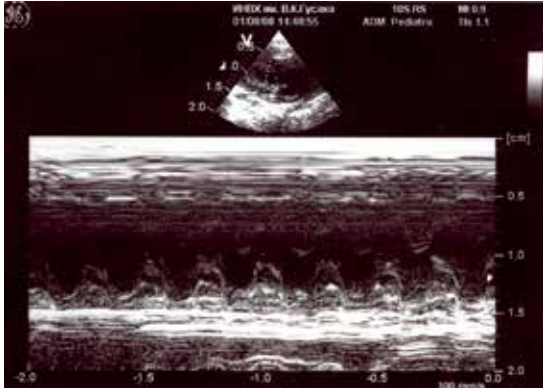


Рисунок 3. Ехокардіограма серця у щурів через 1 місяць після трансплантації МСК при ІМ

понад 1 місяць зазначалося потоншення ураженого сегмента міокарда. Потоншений сегмент мав підвищену ехогенність порівняно з прилеглими сегментами внаслідок більшої кількості сполучної тканини (рисунок 2).

Візуалізувалися порушення рухливості стінки: гіпокінезія, акінезія або дискінезія, тобто рух ураженого сегмента всередину в систолу частково знижений, відсутній або парадоксально спрямований назовні. Сегменти протилежної від ураженої гострим ІМ стінки, як правило, компенсаторно гіперкінетичні. У 3 тварин 1-ї групи візуалізувалася аневризма ЛШ у вигляді випинання «німої» стінки.

На рисунку 3 представлена ехокардіограма щурів 3-ї групи: чітко видно номінальні зміни, які є, по суті, варіантом норми.

Отже, за даними УЗД можна визначити характерні для ІМ зміни в роботі серця, що збігається з характерними даними клінічної картини у хворих з ІМ. Цей факт підтверджує адекватність моделі ІМ у щурів і можливість прогнозування перебігу ішемії міокарда. З досліджуваних варіантів клітинної кардіоміопластики найкращі результати були досягнуті при інтраміокардіальному введенні МСК.

Таблиця 3

Вплив 1- і 3-місячного постінфарктного ремоделювання серця на АТ і скорочувальну функцію серця у щурів 1-ї групи

Серія експерименту	Показник							
	ЧСС, за 1 хв	АТ, мм рт. ст.		Тиск у ЛШ, мм рт. ст.			Індекс Катца	ІФС
		САТ	ДАТ	СТ	КДТ	РТ		
Контроль	371 ± 12	90 ± 4,8	62 ± 2,6	103 ± 6,3	4,3 ± 0,2	98 ± 6,4	47 120 ± 2839	61 ± 4,7
Модель ІМ 1 міс.	340 ± 18*	85 ± 3,8	61 ± 3,4	95 ± 4,5*	9,9 ± 0,84	92 ± 4,3	36 227 ± 2175*	55 ± 3,4
Модель ІМ 3 міс.	375 ± 24	92 ± 4,3	63 ± 4,1	83 ± 3,2	18,5 ± 2,4	66 ± 3,2	35 487 ± 1864	51 ± 2,1

Примітка. * – достовірність розбіжностей між показниками норми та ІМ ($p < 0,05$). СТ – систолічний тиск у лівому шлуночку, ІФС – індекс функціонування серця, РТ – різниця тиску.

Через 1 місяць від початку експерименту ми провели порівняльний аналіз скорочувальної функції серця у тварин з ІМ без лікування з групою контролю. У щурів наприкінці 1-го місяця постінфарктного періоду достовірно зменшилася частота серцевих скорочень (ЧСС) на 31 за 1 хв, а систолічний артеріальний тиск (САТ) дещо зменшився порівняно з нормою (таблиця 3, див. рисунок 3). Зіставлення функції ЛШ серця показало, що в досліджуваний термін у порівнюваних групах різниця між систолічним та діастолічним тиском у лівому шлуночку мала тенденцію до зниження відносно норми (на 6 мм рт. ст.). Найбільша різниця між групами виявлена у рівні кінцевого діастолічного тиску (КДТ) в лівому шлуночку, який у щурів з ІМ виявився збільшеним майже у 2 рази порівняно з нормою (9,9 проти 4,4 мм рт. ст.). Збільшення КДТ свідчило про порушення механізмів скорочення і розслаблення міокарда. Слід зазначити, що індекс Катца у щурів з ІМ зменшився майже на 23 % з високим рівнем достовірності.

При розрахунку ІФС з урахуванням маси тільки скорочувального міокарда, тобто без маси постінфарктного рубця, виявлено, що цей показник у щурів з ІМ не змінювався, що свідчить про те, що у тварин у стані спокою він зберігається на вихідному рівні, незважаючи на деякі дефекти скорочувальної функції серця. Це вказує на те, що часткова втрата скорочувального міокарда на цій стадії захворювання добре компенсується роботою збереженого міокарда.

Через 3 місяці за даними УЗД виявлено, що у щурів з експериментальним ІМ спостерігалася виражена гіпертрофія правого шлуночка (в 1,14 раза), унаслідок чого відносна маса серця щура збільшувалася на 1,1 %. Слід зазначити, що якщо гіпертрофія ЛШ пов'язана зі збільшенням механічного навантаження на збережений міокард, то гіпертрофія правого шлуночка обумовлена легеневою гіпертензією, характерною для серцевої недостатності. Гіпертрофія правого шлуночка в групах порівняння була значною в 92 %, причому відносна маса правого шлуночка зросла на 46 %, незважаючи на те що відносна маса серця збільшилася майже в 2 рази, у той час як маса серця зросла на 49 %.

Таблиця 4

Вплив 1- і 3-місячного постінфарктного ремоделювання серця на АТ і скорочувальну функцію серця у щурів 3-ї групи

Серія експерименту	Показник							
	ЧСС, за 1 хв	АТ, мм рт. ст.		Тиск у ЛШ, мм рт. ст.			Індекс Катца	ІФС
		САТ	ДАТ	СТ	КДТ	РТ		
Контроль	371 ± 12	90 ± 4,8	62 ± 2,6	103 ± 6,3	4,3 ± 0,2	98 ± 6,4	47 120 ± 2839	61 ± 4,7
ІМ + трансплантація МСК 1 міс.	368 ± 13	87 ± 3,4	61 ± 3,3	99 ± 5,2	4,9 ± 0,3	97 ± 6,5	44 418 ± 2975	59 ± 4,1
ІМ + трансплантація МСК 3 міс.	370 ± 17	86 ± 2,9	60,8 ± 3,3	104 ± 4,7	4,5 ± 0,47	92 ± 5,8	43 258 ± 2147	58 ± 3,6

Через 3 місяці після ІМ, на відміну від 1-місячного процесу, спостерігалось істотне пригнічення скорочувальної функції серця в досліджуваній групі. Передусім привертає увагу значне збільшення КДТ у ЛШ у щурів з ІМ (18,5 проти 4,4 мм рт. ст.). Наприкінці 3-го місяця постінфарктного періоду значно знижується РТ – на 33 %, причому ЧСС повернулася до висхідних «доінфарктних» значень. Індекс Катца у тварин зменшився на 25 %, а ІФС на 16 % відносно контролю. Слід зазначити, що систолічний тиск у ЛШ у щурів з ІМ у термін 3 місяці був набагато нижчим, ніж через 1 місяць (83 проти 95 мм рт. ст.), водночас діастолічний тиск, як вже зазначалося, був набагато вищим, що було пов'язано з більш високим кінцево-діастолічним об'ємом (КДО).

Таким чином, через 1 місяць після моделювання ІМ виявлено незначне пригнічення насосної функції серця на тлі вираженої депресії скорочувальної функції серця. Це пов'язано з тим, що на початку ремоделювання серця на тлі ІМ компенсація серцевої недостатності відбувається за рахунок підвищеного тиску наповнення ЛШ, що відбивається в підвищенні КДТ, КДО і кінцевих діастолічних розмірів ЛШ, а потім і правого шлуночка. Ці фактори в певні терміни після ІМ можуть сприяти збереженню УО на рівні, достатньому для підтримання життєздатності організму. Однак через 3 місяці компенсаторні можливості серця закінчуються і відбувається декомпенсація серцевої недостатності,

що призводить до високого рівня летальності серед тварин з ІМ (у наших дослідженнях до 25 %).

При вивченні цих показників у тварин після різних способів клітинної кардіоміопластики ми отримали такі дані. У 3-й групі, на відміну від 1-ї, в терміни 1 і 3 місяці експерименту ми не виявили достовірної різниці з нормальними показниками із групи контролю (таблиця 4, рисунок 4). Подібну картину, але в меншій мірі, ми спостерігали і стосовно показників груп 4 і 5 (таблиці 5, 6, див. рисунок 4).

Цілком імовірно, низка незмінних показників пов'язана з ангіогенним і паракринним ефектом трансплантації мезенхімальних стовбурових клітин, які призводять до адаптації серця до нових умов існування і антиішемічного впливу. Так, при вивченні показників, отриманих у тварин 4-ї групи виявлено, що ЧСС через 1 місяць після ІМ у щурів зменшувалася з (371 ± 12) до (333 ± 22) за 1 хв, потім поступово відновлювалася і через 3 місяці вже не відрізнялася від норми. Під час вивчення динаміки АТ (як систолічного так і діастолічного) не було виявлено достовірної різниці в усі терміни дослідження. СТ у ЛШ зменшувався з (103 ± 6,3) до (97 ± 3,8) мм рт. ст. і в термін 3 місяці майже не відрізнявся від норми. КДТ до 1-го місяця зростав з (4,3 ± 0,2) до (4,9 ± 0,8) мм рт. ст. і залишався постійним до кінця експерименту. Також відзначалося зниження РТ й індексу Катца, до того ж у термін 1 місяць достовірно знизився ІФС з (61 ± 4,7)

Таблиця 5

Вплив 1- і 3-місячного постінфарктного ремоделювання серця на АТ і скорочувальну функцію серця у щурів 4-ї групи

Серія експерименту	Показник							
	ЧСС, за 1 хв	АТ, мм рт. ст.		Тиск у ЛШ, мм рт. ст.			Індекс Катца	ІФС
		САТ	ДАТ	СТ	КДТ	РТ		
Контроль	371 ± 12	90 ± 4,8	62 ± 2,6	103 ± 6,3	4,3 ± 0,2	98 ± 6,4	47 120 ± 2839	61 ± 4,7
1 міс.	333 ± 22*	84 ± 3,3	60 ± 2,9	97 ± 3,8*	4,9 ± 0,8*	92 ± 4,3*	36 887 ± 2175*	55 ± 3,4*
3 міс.	373 ± 21*	91 ± 4,1	61 ± 3,7	99 ± 2,7*	4,9 ± 0,4*	95 ± 2,6***	36 929 ± 1539***	56 ± 1,8***

Примітка. * – достовірність розбіжностей між досліджуваним показником і попередніми даними ($p < 0,05$); ** – достовірність розбіжностей між досліджуваним показником і нормою ($p < 0,05$).

Таблиця 6

Вплив 1- і 3-місячного постінфарктного ремодельовання серця на АТ і скорочувальну функцію серця у щурів 5-ї групи

Серія експерименту	Показник							
	ЧСС, за 1 хв	АТ, мм рт. ст.		Тиск у ЛШ, мм рт. ст.			Індекс Катца	ІФС
		САТ	ДАТ	СТ	КДТ	РТ		
Контроль	371 ± 12	90 ± 4,8	62 ± 2,6	103 ± 6,3	4,3 ± 0,2	98 ± 6,4	47 120 ± 2839	61 ± 4,7
1 міс.	351 ± 15*	87 ± 3,5	61 ± 3,1	97 ± 3,2*	5,4 ± 0,7*	90 ± 3,8*	35 318 ± 2202*	55 ± 2,7*
3 міс.	366 ± 19*	91 ± 3,7	62 ± 3,8	97 ± 2,6**	5,5 ± 0,5**	86 ± 2,9**	36 487 ± 1713**	56 ± 1,1**

Примітка. * – достовірність відмінностей між досліджуваним показником і попередніми даними ($p < 0,05$); ** – достовірність відмінностей між досліджуваним показником і нормою ($p < 0,05$).

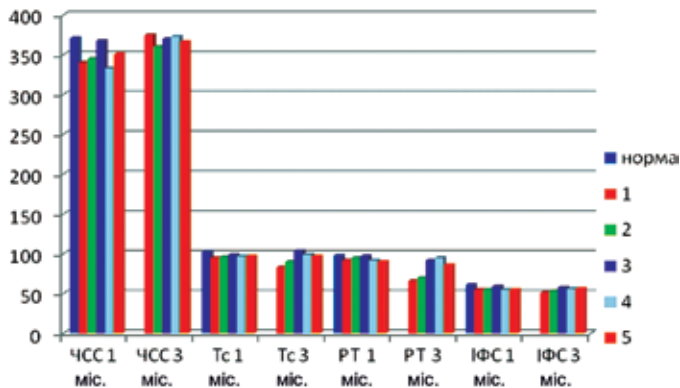


Рисунок 4. Динаміка АТ і показників скорочувальної функції міокарда через 1 і 3 місяці експерименту

до (55 ± 3,4) і залишався таким до кінця дослідження (див. таблицю 5, рисунок 4).

У 5-й групі тварин через 1 місяць після індукції експерименту відзначалося зменшення базової ЧСС з (371 ± 12) до (351 ± 15) за 1 хв і до 3 місяців цей показник підвищувався до (366 ± 19) за 1 хв, що істотно не відрізнялося від норми. Показники системного АТ як у систолу, так і в діастолу залишалися стабільними. СТ в ЛШ у термін 1 місяць зменшився з (103 ± 6,3) до (97 ± 3,2) мм рт. ст. і залишався стабільним до кінця дослідження. КДТ збільшився з (4,3 ± 0,2) до (5,4 ± 0,7) мм рт. ст., також залишаючись стабільним до кінця дослідження. Різниця тиску через 1 місяць становила (90 ± 3,8) мм рт. ст. і потім до 3-го місяця знизилася ще до (86 ± 2,9) мм рт. ст. Індекс Катца зменшився через 1 місяць з (47 120 ± 2839) до (35 318 ± 2202) і не змінювався до кінця дослідження. ІФС також зменшився з (61 ± 4,7) до (55 ± 2,7) і в подальшому залишався стабільним (таблиця 6).

Під час вивчення показників роботи серця за інвазивною методикою у щурів 2-ї групи було виявлено, що через 1 місяць ЧСС у стані спокою знизилася з (371 ± 12) до (345 ± 13) за 1 хв і потім, попри деяке підвищення до завершення 3-місячного терміну, за-

лишалася значно нижчою від норми – (360 ± 15) за 1 хв. Показники АТ не змінювалися протягом усього експерименту. СТ зменшився з (103 ± 6,3) до (96 ± 2,6) мм рт. ст. в термін 1 місяць і до (90 ± 2,4) мм рт. ст. у термін 3 місяців. При цьому відзначалося збільшення КДТ до (8,6 ± 0,7) і (12,1 ± 0,4) мм рт. ст. відповідно. РТ в термін 1 місяць знижувалася незначно до (95 ± 3,3) мм рт. ст., однак до завершення 3 місяців цей показник становив (70 ± 2,5) мм рт. ст. Індекс Катца знижувався з (47 120 ± 2839) до (36 319 ± 2274) і залишався стабільним до кінця дослідження. ІФС зменшився з (61 ± 4,7) до (55 ± 1,8) і залишався на таких низьких показниках до кінця експерименту.

Отримані дані свідчать про відсутність достовірної різниці між більшістю досліджуваних показників у 1-й і 2-й групах. Дані, отримані в 3-5-й групах тварин, були найбільш наближені до фізіологічної норми (див. мал. 4). Проте оптимальні показники були досягнуті в 3-й групі тварин (з інтраміокардіальними ін'єкціями МСК) у максимальний, тобто 3-місячний, термін дослідження.

КДТ ЛШ значно збільшився в 1-й групі, що свідчить про прогресування серцевої недостатності, у 2-й групі цей показник був нижче ніж у 1-й, але тим не менш набагато вище від норми. У 3-, 4- і 5-й групах КДТ був у термін 1 місяць експериментального дослідження вищим від фізіологічної норми, але потім практично не змінювався. Найбільш близькими до норми були показники в 3-й групі (рисунок 5).

Під час вивчення динаміки індексу Катца (рисунок 6) у всіх групах, крім 3-ї, ми відзначили значне його зменшення вже через 1 місяць після ІМ та подальшу стабілізацію приблизно на одному зниженому рівні у пізніші терміни. У 3-й групі цей показник у всі терміни зберігався практично на незмінному початковому рівні.

Початково ми висунули гіпотезу про можливість прискорення неоангіогенезу в 2-й групі дослідження за рахунок запальної реакції в ділянці алтерації («порожньої» ін'єкції), але в результаті ми не отримали достовірної різниці даних порівняно з 1-ю групою. Крім

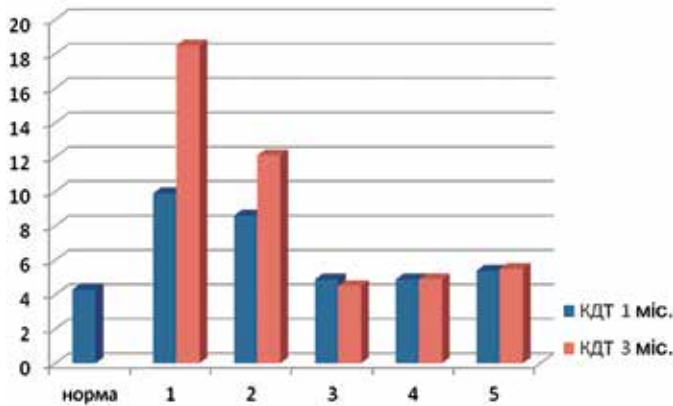


Рисунок 5. Динаміка КДТ за інвазивною методикою в терміни 1 і 3 місяці

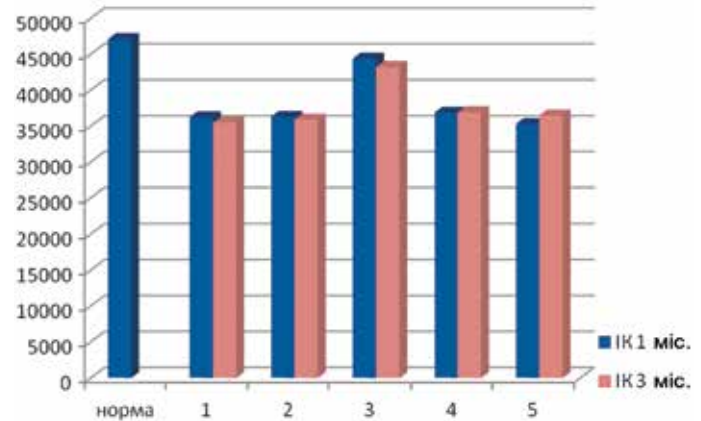


Рисунок 6. Динаміка індексу Катца за інвазивною методикою в терміни 1 і 3 місяці

Примітка. ІК – індекс Катца.

того, цілком імовірно розростання рубцевої тканини в місці ін'єкції, що посилює низку показників.

У наших дослідженнях моделювання ІМ було пов'язане з вираженим зниженням скорочувальної функції серця. Тенденція до відновлення, втім, намітилася вже в перші години після моделювання патологічного стану, що дає змогу припустити наявність потужних компенсаторних механізмів, як у самому міокарді, так і в серцево-судинній системі в цілому. Це положення ґрунтується, на наш погляд, на реакції серця на стресове навантаження.

У тварин, обстежених через тиждень після моделювання ІМ, відзначався високий вихідний рівень ЧСС, який значно перевищував такий в інтактних тварин. Стресове навантаження не виявило якісних відмінностей у динаміці змін ЧСС, але кількісні відмінності в реакціях існують. Можна припустити, що саме зазначені кількісні відмінності в реакціях міокарда на стрес і є проявом тих деструктивних процесів, які сприяють розвитку вторинних порушень, що супроводжуються збільшенням летальних випадків у популяції в разі інтенсивного стресового навантаження.

Нівелювання відмінностей у реакціях на стрес між інтактними тваринами і щурами через 2 тижні після моделювання ІМ показує активацію компенсаторних механізмів серцево-судинної системи, спрямованих на нормалізацію реакції міокарда на стрес, що в кінцевому рахунку має проявитися у відносному відновленні життєстійкості організму.

Висновки. З огляду на аналіз отриманих експериментальних даних, можна констатувати, що клітинна кардіоміопластика (будь-яким методом доставки МСК до міокарда) покращує контрактильну функцію міокарда, що спостерігалось нами в короткотривалі терміни спостереження. Проте найкращі результати отримано в групі ін'єкційної інтраміокардіальної

трансплантації, а серед інших двох груп клітинної кардіоміопластики більш наближеними до найкращих результатів виявились окремі показники групи внутрішньовенного введення.

Список використаних джерел

References

- Воронков ЛГ, Березін ОЕ, Жарінова ВЮ, Жебель ВМ, Коваль ОА, Рудик ЮС та ін. Біологічні маркери та їх застосування при серцевій недостатності. Консенсус Всеукраїнської асоціації кардіологів України, Всеукраїнської асоціації фахівців із серцевої недостатності та Української асоціації фахівців з невідкладної кардіології. Український кардіологічний журнал. 2019;26(2):11-22.
Voronkov LG, Berezin OE, Zharinova VYu, Zhebel VM, Koval OA, Rudik YuS, et al. [Biological markers and their use in heart failure. Consensus of Ukrainian Association of Cardiology, Ukrainian Heart Failure Association and Ukrainian Association on Acute Cardiovascular Care]. Ukrainian Journal of Cardiology. 2019;26(2):11-22. Ukrainian.
- Никоненко АС, Молодан АВ, Иващук ВА. Оценка деформационных свойств миокарда у больных ишемической болезнью сердца с выраженной дилатацией полости левого желудочка, осложненной сердечной недостаточностью. Вісник серцево-судинної хірургії. 2015;23:135-139.
Nikonenko AS, Molodan AV, Ivashchuk VA. [Evaluation of the deformation properties of the myocardium in patients with ischemic heart disease with marked dilatation of the left ventricular cavity is complicated by heart failure]. Cardiovascular Surgery Herald. 2015;23:135-139. Ukrainian.
- Габріелян АВ, Смржевський ВЙ, Оніщенко ВФ, Лукач ПМ, Белейович ВВ, Доманський ТМ. Коронарне шунтування у хворих на ішемічну хворобу серця з хронічною серцевою недостатністю. Серцево-судинна хірургія: щорічник наукових праць Асоціації серцево-судинних хірургів України. 2009;17:103-107.

- Gabrielyan AV, Smorzhevskiy VY, Onishchenko VF, Lukach PM, Beleyovich VV, Domanskiy TM. Koronarne shuntuvannia u khvorykh na ishemichnu khvorobu sertsia z khronichnoiu sertsevoiu nedostatnistiu [Coronar bypass grafting in patients with ischemic heart disease complicated by heart failure]. *Sertsevo-sudynna khirurhiia: shchorichnyk naukovykh prats Assotsiatsii sertsevo-sudynnykh khirurhiv Ukrainy*. 2009;17:103-107. Ukrainian.
4. Ponikowski P, Anker SD, AlHabib KF, Cowie MR, Force TL, Hu S, et al. Heart failure: preventing disease and death worldwide. *ESC Heart Failure*. 2014;1(1):4-25. <https://doi.org/10.1002/ehf2.12005>
 5. Alba AC, Foroutan F, Duero Posada J, Battioni L, Schofield T, et al. Implantable cardiac defibrillator and mortality in non-ischaemic cardiomyopathy: an updated meta-analysis. *Heart*. 2018;104(3):230-236. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2017-311430>
 6. Nanayakkara S, Patel HC, Kaye DM. Hospitalisation in patients with heart failure with preserved ejection fraction. *Clin Med Insights Cardiol*. 2018;12:1179546817751609. <https://doi.org/10.1177/1179546817751609>
 7. Крикунов ОА, Руденко КВ, Руснак АО, Лучинець ОФ, Буряк РВ, Шаповалова ВВ. Комплексний підхід до лікування хворих на дилатаційну кардіоміопатію. Вісник серцево-судинної хірургії. 2015;23:77-82. Krykunov OA, Rudenko KV, Rusnak AO, Luchynets OF, Buriak RV, Shapovalova VV. [A complex approach to the treatment in patients with dilated cardiomyopathy]. *Cardiovascular Surgery Herald*. 2015;23:77-82. Ukrainian.
 8. Blair A. The Use of Left Ventricular Assist Devices in End-Stage Heart Failure. *Crit Care Nurs Q*. 2018;41(4):376-382. <https://doi.org/10.1097/CNQ.0000000000000223>
 9. Nishimura S, Izumi C, Himura Y, Kuroda M, Amano M, Harita T, et al. Very long-term follow-up data of non-ischemic idiopathic dilated cardiomyopathy after beta-blocker therapy: recurrence of left ventricular dysfunction and predictive value of ¹²³I-metaiodobenzylguanidine scintigraphy. *Heart Vessels*. 2019 Feb;34(2):259-267. <https://doi.org/10.1007/s00380-018-1245-y>
 10. Kanda P, Davis D. Cellular mechanisms underlying cardiac engraftment of stem cells. *Expert Opinion on Biological Therapy*. 2017 Sep;17(9):1127-1143. <https://doi.org/10.1080/14712598.2017.1346080>
 11. Габрієлян АВ, Смержевський ВЙ, Доманський ТН, Оніщенко ВФ. Джерела стовбурових клітин для лікування хворих з порушеною функцією скорочення міокарда. Серце і судини. 2011;3(35):89-92. Gabrielyan AV, Smorzhevskiy VY, Domanskiy TM, Onishchenko VF. [Sources of stem cells for the treatment of myocardial contractility disorders]. *Heart and Vessels*. 2011;3(35):89-92. Ukrainian.
 12. Габрієлян АВ, Смержевський ВЙ, Оніщенко ВФ, Гарасимов ДЮ, Топчук ЄІ, Миронюк ОІ та ін. Актуальні проблеми серцево-судинної хірургії. Тези доповідей VII Південноукраїнської науково-практичної конференції «Сучасні проблеми атеросклерозу - від гіпотез до фактів»; 11 квітня 2012 р.; м. Одеса, Україна. Одеса; 2012. С. 146. Gabrielyan AV, Smorzhevskiy VY, Onishchenko VF, Garasymov DY, Topchuk YI, Myronyuk OI, et al. Aktualni problemy sertsevo-sudynnoi khirurhii [Actual problems of cardiovascular surgery]. *Suchasni problem ateroskleroosu - vid gipotez do faktiv: Proceedings of the VII South Ukrainian Scientific and Practical Conference; 2012 Apr 11; Odesa, Ukraine. Odesa; 2012. p. 146. Ukrainian.*
 13. Габрієлян АВ, Салютін РВ, Якушев АВ, Оніщенко ВФ, Шаблій ВМ, Доманський ТМ та ін. Сучасні підходи та методики трансплантації стовбурових клітин хворим з термінальною стадією серцевої недостатності. Кардіохірургія та інтервенційна кардіологія. 2014;1(6):8-12. Gabrielyan AV, Salutin RV, Yakushev AV, Onishchenko VF, Shablii VM, Domanskiy TM, et al. [Contemporary approaches and methods of stem cell transplantation in patients with end-stage heart failure]. *Cardiac Surgery and Interventional Cardiology*. 2014;1(6):8-12. Ukrainian.
 14. Габрієлян АВ. Современные методы хирургического лечения рефрактерной сердечной недостаточности при ишемической болезни сердца. Клінічна хірургія. 2014;1,2:52-55. Gabrielyan AV. *Sovremenniy metody khirurgicheskogo lecheniya refrakternoy serdechnoy nedostatocchnosti pri ishemicheskoy bolezni serdtsa* [Contemporary techniques in the surgical treatment of refractory post-ischemic heart failure]. *Klinicheskaya khirurgiya*. 2014;1,2:52-55. Russian.
 15. Джолдасбекова АУ, Федотовских ГВ, Аскарров МБ, Комсабакова БА, Байгенжина АБ, Кайратова АК и др. Системное введение аутологичных мононуклеарных прекультивированных клеток костного мозга при сердечной недостаточности. *Clinical Medicine of Kazakhstan*. 2015;3(37):14-18. Dzholdasbekova A, Fedotovskikh G, Askarov M, Komsabakova B, Baigenzhina A, Kairatova A, et al. [Systemic administration of autologous mononuclear precultured bone marrow stem cells in heart failure]. *Clinical Medicine of Kazakhstan*. 2015;3(37):14-18. Russian.

The Effect of Mesenchymal Stem Cells Transplantation on Cardiac Functioning and Contractility in Experimental Myocardial Infarction

Estrin S. I.^{1,2}, Kravchenko T. V.¹, Kovalchuk A. O.¹

¹State Institution "V. T. Zaitsev Institute of General and Urgent Surgery of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv, Ukraine

²State Institution "V. K. Gusak Institute of Urgent and Reconstructive Surgery of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv, Ukraine

Abstract

Introduction. Heart failure as a result of ischemic myocardial remodeling is one of the most severe diseases with poor prognosis. Drug therapy alone with surgical or percutaneous revascularization of damaged myocardium often fails to achieve optimum effect in the treatment of the mentioned syndrome. Cell cardiomyoplasty using autologous bone marrow derived mesenchymal stem cells (BM-MSCs) has already proved to be promising alternative to both these treatment methods, as it's aimed directly at restoration of normally functioning myocard.

The aim. To study the effects of different techniques of cardiomyoplasty with BM-MSCs on morphometrical and functional indices of post-infarctional left ventricular remodeling in experiment.

Materials and methods. An experimental model of myocardial infarction in laboratory rats was used for the research. The survived animals were equally divided into 5 groups; the animals of 3 groups underwent BM-MSC transplantation. A certain technique of cardiomyoplasty was used in each of the 3 groups: direct injection into necrotic myocardium, intravenous injection and injection inside left ventricular cavity (which imitates intracoronary introduction). Other 2 groups were comparison groups where the animals did not achieve BM-MSCs after infarction. There was also control group with intact animals with normal values of all the studied indices. The following invasive and noninvasive measurements of functional heart indices have been done in all research groups: left ventricular weight and its relation to body weight, end-systolic and end-diastolic left ventricular internal dimensions, fractional shortening, ejection fraction, stroke volume, heart rate, systemic arterial pressure and left ventricular inner pressure, both systolic and diastolic. The follow-up period was 1 and 3 months after the experiment. Finally, all animals were euthanized and autopsied, and the results of macroscopic examination of their hearts have been matched with aforesaid functional indices in each group.

Results and discussion. The analysis of all measured parameters and their comparison between groups have revealed that BM-MSC transplantation (irrespective of technique) conduces to reliably significant retention of functioning myocardium volume, reliably significant improvement of contractility parameters, particularly, reduced end-systolic and end-diastolic internal dimensions, increased ejection fraction, fractional shortening and stroke volume; it also contributes to maximal inalterability of such hemodynamic parameters as heart rate, systemic arterial pressure, left ventricular inner pressure. In addition, in all 3 groups of cell therapy the indices of contractility and pump function of the left ventricle were very close to normal rates. But the optimal results have been obtained in the group of direct intramyocardial injections.

Conclusion. Cell cardiomyoplasty with BM-MSCs tends to prevent ischemic myocardial remodeling and, as a result, to improve myocardial contractility and neutralize manifestations of severe heart failure in short-term follow-up of 1 and 3 months.

Keywords: *cardiomyoplasty, mesenchymal stem cells, myocardial infarction, cardiac contractility.*

Стаття надійшла в редакцію 21.01.2021 р.