

Ю.И. Пивоваров, Т.Е. Курильская, А.А. Рунович, Ю.М. Галеев

ВЛИЯНИЕ КЛЕТОЧНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ НА ХАРАКТЕР АДАПТИВНЫХ РЕАКЦИЙ КОРОНАРНЫХ СОСУДОВ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА К ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКЕ У БОЛЬНЫХ ИБС

НЦ РВХ ВСНЦ СО РАМН (Иркутск)

В статье представлены данные, отражающие изменения коронарного кровотока в миокарде левого желудочка у больных ИБС с позиции поведения автономной системы микроциркуляторного русла в ответ на физическую нагрузку. Проводится сравнительный анализ характера адаптивных реакций сосудов миокарда в различных, сопоставимых зонах левого желудочка при кратковременной гипоксии до и через 6 месяцев после однократной трансплантации эмбриональных клеток больным. Доказывается, что последняя обуславливает значительное расширение числа зон в миокарде больных ИБС с устойчивой и эффективной адаптацией микроциркуляторного русла к недостатку кислорода.

Ключевые слова: клеточная трансплантация, ИБС

THE INFLUENCE OF CELLULAR TRANSPLANTATION ON THE CHARACTER OF ADAPTIVE REACTIONS OF CORONARY VESSELS OF LEFT VENTRICLE OF HEART TO PHYSICAL LOAD IN PATIENTS WITH CORONARY HEART DISEASE

Ju.V. Pivovarov, T.E. Kurilskaja, A.A. Runovitch, Ju.M. Galejev

SC RRS ESSC SB RAMS, Irkutsk

The data reflecting the changes of coronar bloodflow in myocardium of left ventricle of heart to physical load in patients with CHD from the point of autonomous system of microcirculation bed reaction to the physical load. The comparative analysis of adaptive reactions character of myocardium vessels in different comparative zones of left ventricle of heart at short-time hypoxia before and after 6 months after onetime transplantation of embryonic cells to patients was taken. It is proved that onetime transplantation of embryonic cells stipulates considerable extension of number of zones in patients' with CHD myocardium with stable and effective adaptation of microcirculation bed to the lack of oxygen.

Key words: cellular transplantation, coronary heart disease

Проведенные ранее исследования с использованием перфузионной сцинтиграфии и ЭхоКГ показали, что однократная, подкожная трансплантация больным коронарным атеросклерозом эмбриональных клеток приводила к улучшению васкуляризации областей пораженного миокарда и диастолической функции левого желудочка, повышению устойчивости сердца к физической нагрузке [2, 8]. Однако в указанных работах степень нарушения и восстановления коронарного кровотока оценивалась преимущественно в сегментах миокарда, имевших, как правило, стабильные дефекты перфузии на высоте нагрузки и в покое. При этом не анализировались так называемые преходящие дефекты коронарного кровотока, т.е. те дефекты перфузии, которые были обусловлены транзиторной ишемией, вызванной физической нагрузкой [1, 3, 5, 6]. Вместе с тем, данный эффект, а также феномен «обратного или парадоксального перераспределения» радиофармпрепарата (РФП) [9] отражают реактивные свойства и степень адаптации сосудов миокарда к кратковременной гипоксии и позволяют получить более углубленное представление об изменении резервных, микроциркуляторных процессов, происходящих в сердце больного под влиянием указанных терапевтических воздействий.

В связи с этим возникла необходимость в проведении сравнительного анализа адаптивных ре-

акций сосудов миокарда к физической нагрузке у больных коронарным атеросклерозом до и после клеточной трансплантации.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для оценки жизнеспособности и ишемии миокарда пациентам проводилась однофотонная эмиссионная компьютерная томография по протоколу «нагрузка – покой в течение одного дня» с нагрузочной пробой на велоэргометре.

Однофотонная эмиссионная компьютерная томография выполнялась с помощью ротационной гамма-камеры DIACAM фирмы Siemens. Характер распределения РФП в миокарде оценивали с использованием программы *MultiView*. При проведении нагрузочной пробы за 24 часа до исследования отменялась коронароактивная терапия.

В качестве РФП использовали Технетрил (^{99m}Tc – МИБИ), который готовили непосредственно перед исследованием и вводили на высоте нагрузки. Через 3 часа после окончания первого исследования вновь вводили РФП и проводили исследование в покое. Общая активность РФП составляла 855 – 1100 МБк.

Изображение регистрировалось в матрицу (64 × 64). После реконструкции томосцинтиграмм получали срезы левого желудочка в трех сечениях: по короткой и длинной осям сердца. Интерпре-

тация результатов осуществлялась путем математического анализа томографически реориентированных срезов.

У каждого больного анализировались по 7–10 однотипных томограмм (при нагрузке и в покое), полученных по короткой оси от базальной до апикальной области сердца, в которых раздельно математически обрабатывались: перегородка, передняя, задняя и боковая стенка и две зоны в каждом из отделов левого желудочка (рис. 1). Программное выделение отделов и зон левого желудочка и последующее вычисление в них площади распределения РФП проводилось в системе компьютерной математики «MATHCAD - 2000 Pro» [7]. Расчет площади распределения РФП осуществлялся с учетом трех уровней накопления препарата в миокарде: 1) $\geq 70\%$, 2) $\geq 50\%$ и $< 70\%$, 3) $< 50\%$.

Анализ производился до и после клеточной терапии в состоянии покоя и при физической нагрузке у 10 больных с ИБС, постинфарктным кардиосклерозом и хронической недостаточностью кровообращения II–III функционального класса по NYHA и средней длительностью анамнеза

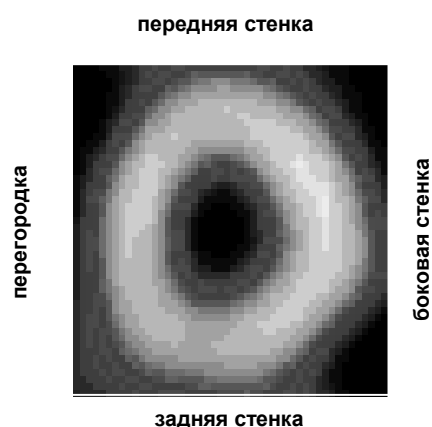


Рис. 1. Схема программного выделения отделов левого желудочка и их различных зон из томосцинтиграмм, полученных по короткой оси с помощью SPECT Multi View.

7,5 ± 0,5 года. Всего математической обработке было подвергнуто по 85 томографических срезов, 340 отделов и 680 зон миокарда левого желудочка.

Эмбриональные клетки печени, сердца и плаценты, которые трансплантировались больным, получали в лаборатории биологически активных веществ НИЦ РВХ ВСНЦ СО РАМН. Способы приготовления, консервации и выделения эмбриональных клеток описаны ранее [2]. Однократная инъекция клеток осуществлялась глубоко подкожно (субфасциально) в переднюю брюшную стенку под местной анестезией с соблюдением всех правил асептики и антисептики. Каждый вид клеточной суспензии (по 2×10^7 клеток) вводился отдельным шприцом через отдельный прокол в брюшной стенке.

Полученные данные подвергались статистической обработке с помощью пакета программ «Statistica 5,5 for Windows».

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Представленные в таблице 1 данные математической обработки томограмм левого желудочка свидетельствуют, что через 6 месяцев после клеточной трансплантации у больных ИБС существенно улучшилась перфузия миокарда. На это указывает уменьшение на 6 % площади участков миокарда, имеющих низкий уровень кровотока, и расширение до 8 % площади миокарда с нормальной перфузией при нагрузке. Те же закономерности значительного улучшения перфузии в миокарде больных после клеточной терапии наблюдались и в состоянии покоя (соответственно на 6,5 и 11,5 %). Кроме того, из приведенных результатов видно, что под влиянием клеточной терапии произошло увеличение площади миокарда и с уровнем перфузии от $\geq 50\%$, до $< 70\%$. Это явление отмечалось как при покое, так и при физической нагрузке. Следовательно, полученные данные в целом подтвердили положительный лечебный эффект клеточной трансплантации на коронарный кровоток в левом желудочке больных ИБС, выявленный предыдущими исследованиями [2, 8].

Таблица 1
Характер дискриминации площади распределения РФП (в %) в левом желудочке больных коронарным атеросклерозом в исходном состоянии и через 6 месяцев после клеточной трансплантации

нагрузка	исход	6 мес.	исход	покой	нагрузка
AR1	15.00	22.87*	AR1	20.55	15.00*
AR2	36.99	45.18*	AR2	39.13	36.99
AR3	48.00	31.93*	AR3	40.31	48.00*
покой	исход	6 мес	6 мес.	покой	нагрузка
AR1	20.55	27.18*	AR1	27.18	22.87*
AR2	39.13	44.17*	AR2	44.17	45.18
AR3	40.31	28.64*	AR3	28.64	31.93*

Примечание: AR – площадь распределения РФП с разным уровнем его накопления: 1. уровень накопления РФП $\geq 70\%$, 2. 50 % \leq уровень накопления РФП $< 70\%$, 3. уровень накопления РФП $< 50\%$; * – $p < 0,01$ (Wilcoxon).

Вместе с тем, приведенные в таблице 1 результаты показывают, что и в исходном состоянии и после клеточной терапии при пробе с физической нагрузкой дефект перфузии миокарда был более выраженным, чем в покое. Этот процесс увеличения площади миокарда с низким уровнем кровотока сопровождался сопряженным уменьшением участков миокарда левого желудочка, в которых отмечалась нормальная перфузия. Хотя после клеточной терапии это явление и было менее выраженным, чем в исходном состоянии, но это не меняет его сути. Важно, что до и после клеточной трансплантации коронарные сосуды больных ИБС в целом реагировали спазмом в ответ на физическую нагрузку.

Таким образом, наши исследования выявили, что существенное расширение площади миокарда с нормальным кровотоком и уменьшение площади дефекта коронарной перфузии в целом сочетались с неизменным спастическим характером реакций коронарных сосудов в ответ на физическую нагрузку, как в исходном состоянии, так и после клеточной терапии. Это явление плохо согласуется с общим положительным лечебным эффектом клеточной трансплантации на функцию миокарда.

По-видимому, используемая оценка реактивных свойств коронарных сосудов по разнице усредненных данных при наличии неоднородной перфузии миокарда у больных ИБС, особенно при физической нагрузке, является не совсем корректной. Здесь требовался иной подход.

В связи с чем была сделана попытка рассмотреть микроциркуляторную систему левого желудочка с позиции ее поведения как автономной системы в пределах каждого томографического среза в целом, отдела желудочка в срезе или его отдельной зоны, основанного на расчетах величин дискриминантных дефектов перфузии миокарда.

В этом случае поведение каждой автономной системы можно было оценить по состоянию ее равновесия или точки покоя с привлечением математического аппарата [4]. Если система находилась в равновесном состоянии, то ее функция стремилась бы к точке покоя, если нет, то к бесконечности. Таким образом, по соответствующей функции и характеру точки покоя можно было установить степень устойчивости автономной системы к «возмущаемому» фактору, в данном случае к недостатку кислорода при физической нагрузке.

В качестве модели исследовалась автономная система из двух линейных дифференциальных уравнений:

$$f(t, x) = \begin{cases} \frac{\Delta s_1}{\sum \Delta s_{1,2,3}} x_2 - \frac{\Delta s_2}{\sum \Delta s_{1,2,3}} x_1 - \frac{\Delta s_3}{\sum \Delta s_{1,2,3}} x_1 \\ - \frac{\Delta s_1}{\sum \Delta s_{1,2,3}} x_2 + \frac{-\Delta s_2}{\sum \Delta s_{1,2,3}} x_1 + \frac{-\Delta s_3}{\sum \Delta s_{1,2,3}} x_1 \end{cases}$$

где: s_1 – площадь распределения РФП в миокарде при уровне накопления препарата $\geq 70\%$; s_2 –

при уровне накопления РФП $\geq 50\%$ и $< 70\%$ и s_3 – при уровне накопления РФП $< 50\%$. Положительные значения Ds отражали степень прироста, а $-\Delta s$ – степень уменьшения площади накопления РФП при нагрузке. Таким образом, коэффициенты автономной системы при x_2 и x_1 являлись соответственно долями прироста или уменьшения площади распределения РФП с разным уровнем накопления препарата.

Исследование поведения автономной системы по характеру кривой $f(x)$ при различной комбинации как положительных, так и отрицательных коэффициентов при x_2 и x_1 выявило основные типы поведения автономной системы (рис. 2). На рисунке видно, что кривая $f(x)$ могла не достигнуть исходной точки (рис. 2А), что свидетельствовало о неустойчивости автономной системы, поскольку ее «возмущение» сопровождалось существенным отклонением от точки покоя. При возврате автономной системы к исходному состоянию с характерной односторонней траекторией кривой $f(x)$, рассматривался нами как полустойчивый тип ее поведения (рис. 2В). И, наконец, как это видно из графиков решения уравнений на рис. 2С и 2D, наличие двухсторонних траекторий отражало устойчивость системы к отклонениям в пределах заданных условий.

Поскольку при разных типах поведения автономной системы изменялся интервал t_u (от t_0 до точки пересечения кривой оси абсцисс (рис. 2), то численное выражение качества ее устойчивости определялось путем интегрирования кривой выявленной функции методом трапеций на интервале t_u :

$$S = \left(\frac{m}{2}\right) \cdot \sum_i (Y_i + Y_{i+1}),$$

где: S – определенный интеграл, $m = 0,25$, Y – вектор решения дифференциального уравнения на интервале $i = 0, 1 \dots t_u$. Расчеты показали, что при устойчивом типе автономной системы величина интеграла находилась в пределах $4,99 \leq S \leq 10$, при полустойчивом – $10 < S \leq 14,66$, а при неустойчивом типе – $S > 14,66$.

Помимо этого, в каждом случае рассчитывался индекс эффективности адаптивных свойств сосудистых реакций в %:

$$I_{эфф} = \frac{\Delta s_1 / \sum \Delta s_{1,2,3}}{S} \cdot 500,$$

где в числителе выставлялась доля прироста площади распределения РФП в миокарде с нормальным уровнем кровотока. Таким образом, показатель $I_{эфф}$ отражал 100% -ую эффективность адаптивных свойств микроциркуляторной системы при максимальной доле прироста площади нормального кровотока (1,0) и наименьшей величине определенного интеграла $f(x)$ автономной системы (4,99 – 5,0).

Полученные дискретные величины, S и $I_{эфф}$, которые вычислялись программно в системе ком-

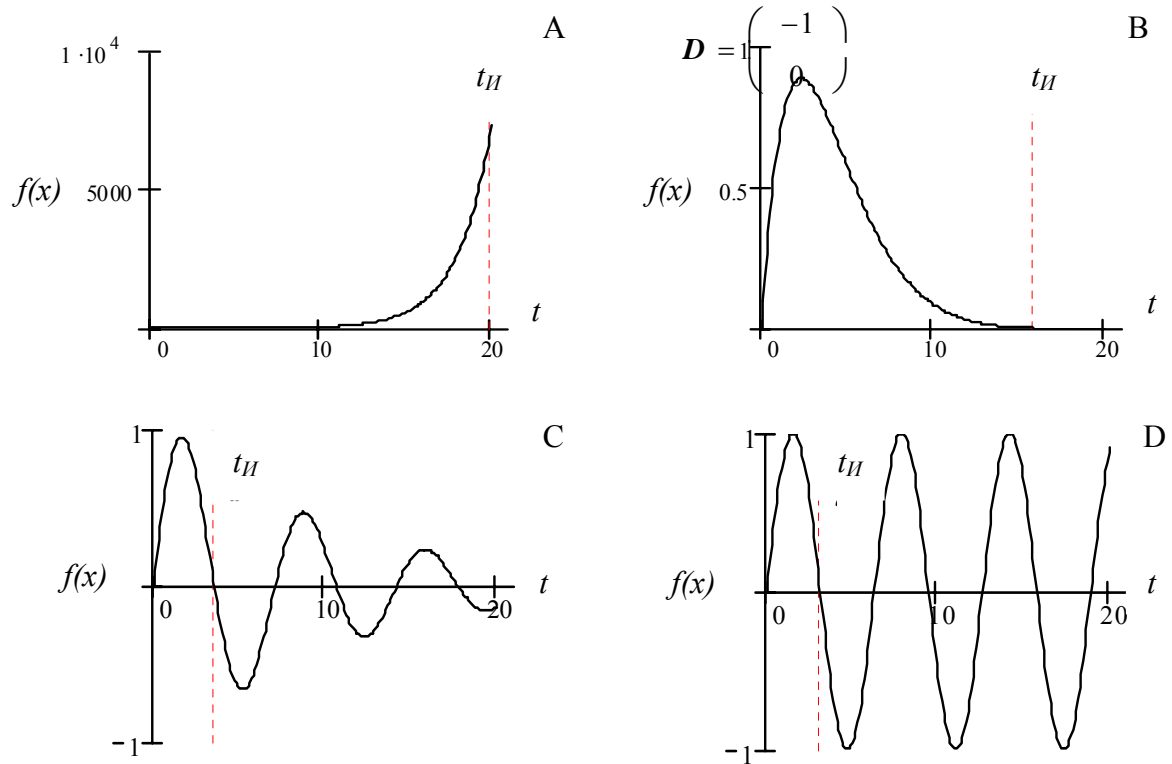


Рис. 2. Графики решения уравнений линейных автономных систем $f(t, x)$ с различными коэффициентами при x_1 и x_2 и начальными условиями: $x_1(0) = 0$ и $x_2(0) = 1$ на интервале $t_0 = 0$ и $t_{end} = 20$. А – неустойчивая система, В – полуустойчивая система, С и D – устойчивые системы; t_{II} – интервал от t_0 до первой точки пересечения кривой с осью абсцисс.

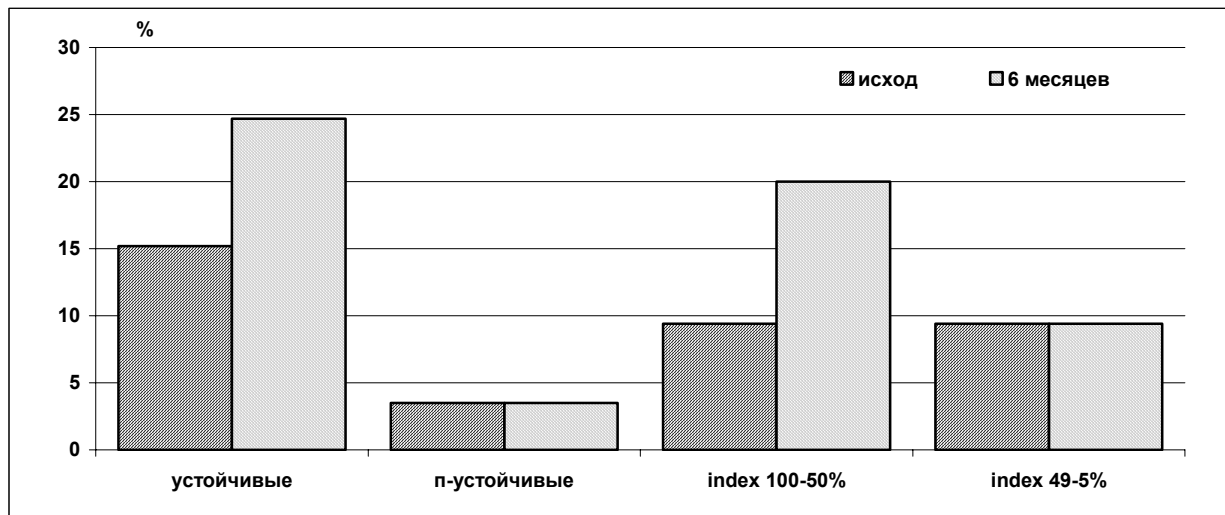


Рис. 3. Характер адаптивных реакций к физической нагрузке сосудистой системы в исследуемых томографических срезах левого желудочка у больных коронарным атеросклерозом в исходном состоянии и через 6 месяцев после клеточной трансплантации (процент томограмм от общего числа исследуемых томографических срезов). Устойчивые – устойчивые адаптивные реакции сосудов, п-устойчивые – полуустойчивые адаптивные реакции сосудов, index – индекс эффективности адаптации сосудов миокарда.

пьютерной математики «MATHCAD – 2000pro», подвергались статистической обработке путем сравнения двух пропорциональностей с помощью t -критерия и определения уровня его значимости по таблице t -распределения. При этом t -критерий рассчитывался по формуле:

$$t = \left(\frac{\sqrt{(n1 \cdot n2)}}{(n1 + n2)} \right) \cdot \left(\frac{p1 \cdot p2}{\sqrt{p \cdot q}} \right),$$

$$p = \frac{(p1 \cdot n1 + p2 \cdot n2)}{(n1 + n2)}, \quad q = 1 - p,$$

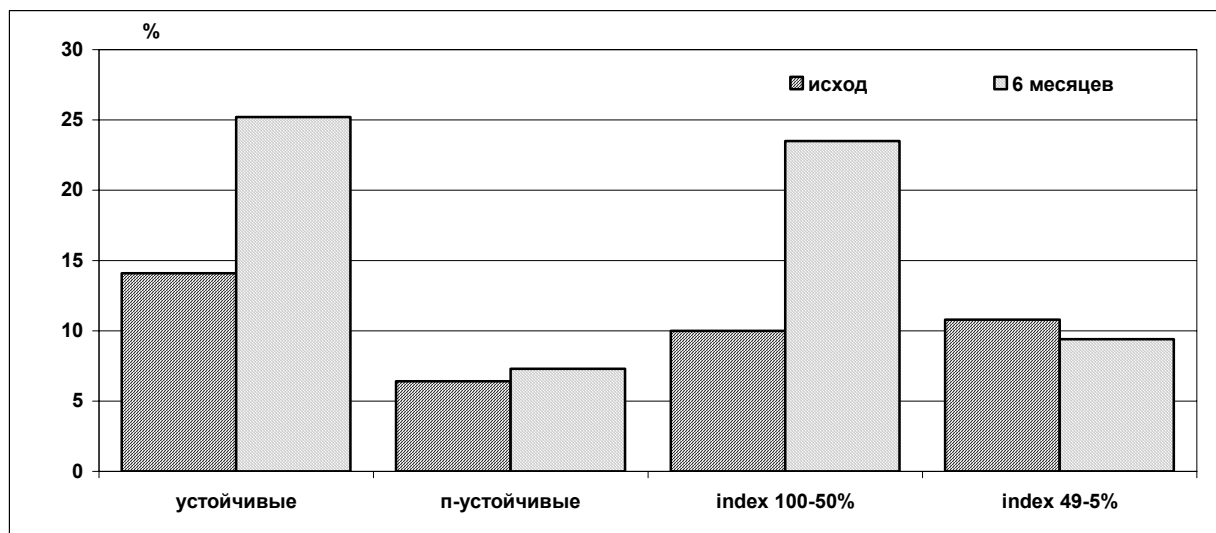


Рис. 4. Характер адаптивных реакций к физической нагрузке сосудистой системы в исследуемых отделах левого желудочка у больных коронарным атеросклерозом в исходном состоянии и через 6 месяцев после клеточной трансплантации (процент от общего числа исследуемых отделов левого желудочка). Обозначения см. рис. 3.

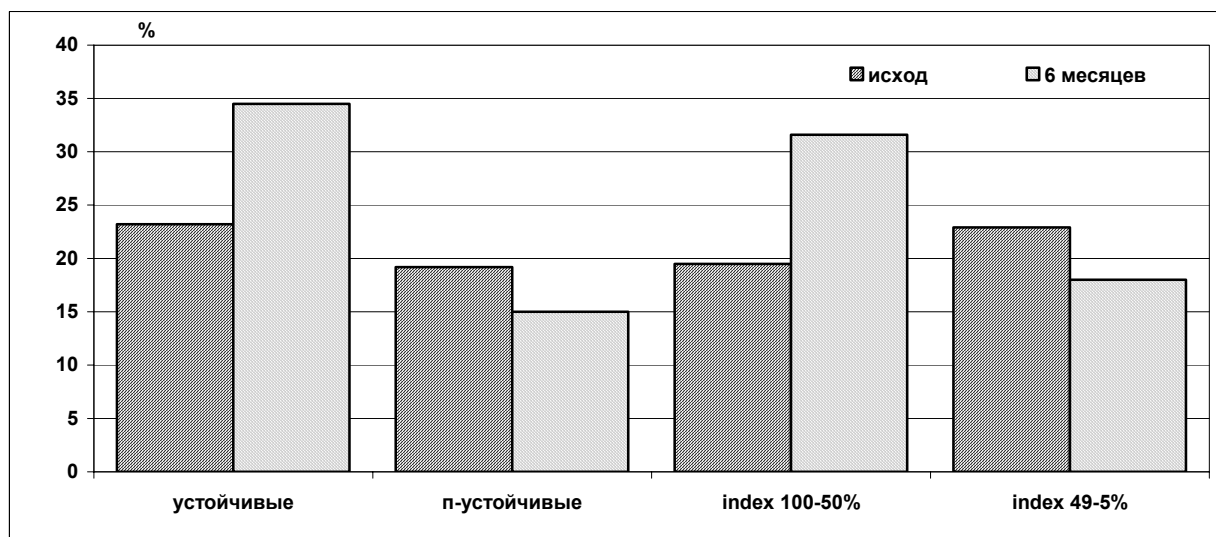


Рис. 5. Характер адаптивных реакций к физической нагрузке сосудистой системы в исследуемых зонах миокарда левого желудочка у больных коронарным атеросклерозом в исходном состоянии и через 6 месяцев после клеточной трансплантации (процент от общего числа исследуемых зон миокарда левого желудочка). Обозначения см. рис. 3.

где: $n1$ — число наблюдений в исходном состоянии, $n2$ — число наблюдений через 6 месяцев, а $p1$ и $p2$ — соответственно доли выявленного эффекта.

Анализ поведения автономных систем микроциркуляции миокарда в ответ на физическую нагрузку показал, что суммарные реакции сосудистой системы в пределах томографических срезов разных областей левого желудочка после клеточной терапии не претерпели существенных изменений в плане адаптивных свойств коронарных сосудов к кратковременному недостатку кислорода (рис. 3). Вместе с тем, полученные данные отразили положительное влияние клеточной трансплантации на эффективность имевшихся адаптивных сосудистых реакций, о чем свидетельствовало увеличение числа томограмм, в которых *Иэфф* был выше 50%.

Детальное изучение реактивных свойств коронарных сосудов больных ИБС путем оценки поведения автономных систем микроциркуляции в рамках различных отделов левого желудочка позволило выявить уже более существенное влияние клеточной трансплантации на эти свойства сосудов. Из диаграмм, представленных на рисунке 4, видно, что после клеточной терапии число отделов левого желудочка, в которых определялись устойчивые адаптивные реакции коронарных сосудов на нехватку кислорода, возросло на 11 %, а их количество с *Иэфф* более чем 50 % — на 13,5 %.

Наиболее четкий эффект клеточной терапии на характер адаптивных реакции коронарных сосудов был получен при сканировании отдельных зон миокарда левого желудочка (рис. 5). Здесь, наряду с увеличением количества зон миокарда с устойчи-

вым типом адаптивных реакций сосудов к кратковременному кислородному голоданию и высоким индексом эффективности, отмечалось достоверное снижение их числа с *Iэфф* — меньше 50 %.

Понятно, что такое возрастание значимости сравнительных данных по мере увеличения дискриминации отдельных областей миокарда было обусловлено прежде всего объемом выборки переменных (от 85 до 680). Тем не менее, при всех трех вариантах исследования адаптивных свойств коронарных сосудов выявилась общая закономерность: клеточная трансплантация приводила не только к улучшению перфузии миокарда больных ИБС, но и повышению у них устойчивости и эффективности ответных сосудистых реакций, вызванных физической нагрузкой.

Полученный эффект мог быть связан как с восстановлением проходимости отдельных, поврежденных атерогенным процессом, функциональных элементов системы микроциркуляции, так и вовлечением в процесс адекватного обеспечения кардиомиоцитов субстратами метаболизма ранее «молчавших» элементов микроциркуляции в гибернированных участках миокарда. При этом первое, по-видимому, обуславливало в целом общее уменьшение дефекта перфузии и расширение площади миокарда с нормальным уровнем кровотока, а второе — мобилизовало дополнительный адаптационный резерв коронарных сосудов к кратковременной гипоксии за счет восстановления их реактивных свойств в участках сердечной мышцы, в которых до клеточной терапии кровоснабжение было умеренно снижено.

Эти обстоятельства, вероятно, способствовали долговременной индукции саногенетических механизмов повышения резистентности сердца к физической нагрузке и улучшения сократительной функции миокарда, которые были отмечены в вышеупомянутых работах. Однако для подтверждения данного предположения требуются специальные, сопоставимые исследования регионарной функции левого желудочка с определением характера сократительных свойств в различных сегментах мышцы сердца и степени нормализации в них адаптивных реакций коронарных сосудов у больных ИБС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антиангинальное действие антагонистов кальция, результаты инструментального обследования и их клиническая оценка / Р.С. Карпов, В.Ф. Мордовин, Е.Н. Павлюкова, В.И. Чернов и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 1995. — Т. 3, № 58. — С. 7–10.
2. Атеросклероз и клеточная терапия / Под ред. А.А. Руновича, Ю.И. Пивоварова, Т.Е. Курильской. — Иркутск, 2005. — 304 с.
3. Заренко С.И. Значение методов радионуклидной вентрикулографии, сцинтиграфии миокарда с ²⁰¹Tl и ^{99m}Tc-пирофосфатом в оценке состояния миокарда у больных дилатационной кардиомиопатией // Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. — М., 1984. — 32 с.
4. Ильин В.А. Математический анализ / В.А. Ильин, В.А. Садовничий, Бл.Х. Семенов. М.: МГУ, 1987. — 345 с.
5. Использование перфузионной сцинтиграфии сердца для проспективной оценки результатов прямой реваскуляризации миокарда у больных ИБС / Ж.В. Веснина, Ю.Б. Лишманов // Сердце. — 2005. — Т. 4, № 4. — С. 205–209.
6. Лишманов Ю.Б. Сцинтиграфия миокарда в ядерной кардиологии / Ю.Б. Лишманов, В.И. Чернов, Н.Г. Кривоногов. — Томск: Изд-во Томского Университета, 1997. — 276 с.
7. Расширение возможностей сцинтиграфии миокарда для количественной оценки эффективности лечения ИБС / Ю.И. Пивоваров, Ю.М. Галеев, А.А. Рунович, Т.Е. Курильская и др. // Визуализация в медицине. — 2005. — № 1. — С. 103–110.
8. Состояние перфузии миокарда и функции сердца у больных коронарным атеросклерозом после клеточной трансплантации / Ю.И. Пивоваров, А.А. Рунович, Т.Е. Курильская, Ю.М. Галеев и др. // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. — 2005. — № 6. — С. 82–90.
9. Effect of thallium-201 blood levels on reversible myocardial defects / C.W. Nelson, R.A. Willson, D.A. Angelic, R.T. Palac // J. Nucl. Med. — 1989. — Vol. 30. — P. 1172–1175.