

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ КАРДИОЛОГИИ И КАРДИОХИРУРГИИ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2009

УДК 616.12-008.46:576.3+616-092.18

Новые горизонты применения клеточных технологий для лечения пациентов с хронической сердечной недостаточностью

*Л. А. Бокерия, Е. З. Голухова, Т. Т. Какучая *, М. В. Еремеева, И. П. Асланиди, И. В. Шурупова, Н. А. Чигогидзе*

Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А. Н. Бакулева (дир. — академик РАМН Л. А. Бокерия) РАМН, Москва

В данной статье описаны и проанализированы результаты применения аутологичных костно-мозговых клеток-предшественников эндотелиоцитов CD133+ в плацебо-контролируемом исследовании, проведенном в НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН у пациентов с идиопатической и ишемической дилатационной кардиомиопатией.

Ключевые слова: аутологичные костно-мозговые клетки-предшественники эндотелиоцитов CD133+, хроническая сердечная недостаточность, идиопатическая дилатационная кардиомиопатия, ишемическая кардиомиопатия, паракринные эффекты стволовых клеток.

In this article we have analyzed results of applying autologous bone-marrow derived endothelial progenitor cells CD133+ in a placebo-controlled clinical trial, involving patients with idiopathic and ischemic dilative cardiomyopathy. The study was conducted at Bakoulev Scientific Center for Cardiovascular Surgery.

Key words: autologous bone-marrow derived endothelial progenitor cells CD133+, congestive heart failure, idiopathic dilative cardiomyopathy, ischemic cardiomyopathy, paracrine effects of stem cells.

В настоящее время разработка и внедрение в клиническую практику клеточных технологий для лечения пациентов с сердечной недостаточностью остается одним из приоритетных направлений фундаментальных и клинических исследований в кардиологии и кардиохирургии. Первоначальной точкой отсчета для инициации подобных исследований являлось представление о том, что сердце — это постмитотический, не саморегенерирующийся орган. Укоренение этой догмы совпало с серией экспериментальных исследований, продемонстрировавших регенерацию миокарда и сосудистого эндотелия после инъекции трансгенных костно-моз-

говых клеток и формирование взрослых эндотелиальных клеток из циркулирующих компонентов периферической крови. Комбинация этих наблюдений привела к формированию представлений о том, что стволовые клетки могут оказывать влияние на ишемизированный или инфарцированный миокард на молекулярном и клеточно-тканевом уровнях. Являлось ли это революционным предзнаменованием в лечении ишемической болезни сердца? Ответ на этот вопрос пока остается открытым.

Тем не менее в настоящее время доказано, что сердце — это саморегенерирующийся орган и что кардиомиоциты регенерируют

* E-mail: kakuchinit@yahoo.com

на протяжении жизненного цикла организма человека [2]. Было показано, что в нормальном сердце взрослого человека гибель клеток путем апоптоза приводит к потере 3×10^6 кардиомиоцитов в день, что уравновешивается регенерацией почти такого же количества кардиомиоцитов. То есть существует уникальный физиологический баланс между восстановлением/формированием и потерей кардиомиоцитов. По проведенным расчетам оказалось, что если бы сердце представляло собой постмитотический орган и не происходило бы замены погибших кардиомиоцитов вновь сформированными кардиомиоцитами, то сердце бы исчезло в течение приблизительно 4,5 года. Однако наличие стволовых клеток в миокарде не предотвращает неизбежную эволюцию формирования рубца при инфаркте миокарда.

Общим результирующим исходом ишемического повреждения миокарда являются два фактора: 1) стволовые клетки гибнут в зоне инфаркта, так же как и все другие клетки в условиях дефицита кислорода; 2) резидентные стволовые клетки не могут мигрировать из жизнеспособных в нежизнеспособные зоны миокарда (то есть не происходит «хоуминга»), а соответственно расти и дифференцироваться для замещения погибших линий клеток. Это объясняет недостаточную регенерацию миокарда в зоне инфаркта и интенсивное формирование кардиомиоцитов в неишемизированном или жизнеспособном участке миокарда желудочка. В фундаментальных исследованиях было показано, что при остром инфаркте миокарда регенерация кардиомиоцитов умеренно превосходит их гибель, а при застойной сердечной недостаточности (обусловленной постинфарктным кардиосклерозом) процесс восстановления кардиомиоцитов значительно уступает по объему гибели кардиомиоцитов. Таким образом, декомпенсированное при хронической сердечной недостаточности сердце характеризуется потерей кардиомиоцитов и элементов

сосудистых структур, которые не компенсируются активацией и дифференциацией стволовых клеток миокарда, подвергающихся прогрессивному репликативному старению, что приводит к значительному сокращению резерва стволовых клеток в миокарде. В этом смысле так называемое старение сердца и хроническая сердечная недостаточность могут рассматриваться как проявления дисфункции стволовых клеток. Поэтому чрезвычайно интерес представляет применение клеточных технологий, призванных целенаправленно повлиять на процессы электромеханического ремоделирования и восстановления поврежденных кардиомиоцитов.

В связи с этим анализ опыта использования клеточных технологий у больных с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) различной этиологии, накопленного в Научном центре сердечно-сосудистой хирургии им. А. Н. Бакулева РАМН, является чрезвычайно важным. *Исследования по применению генных и клеточных технологий для лечения пациентов вышеуказанной категории были начаты академиком Л. А. Бокерия в 1999 г.* Целью данных исследований является разработка доступных и эффективных методов лечения широкого спектра труднокурабельных заболеваний сердечно-сосудистой системы на основе современных достижений молекулярной и клеточной биологии, генетики и биоинженерии, которые могли бы использоваться изолированно или в комбинации с существующими традиционными хирургическими методами лечения. Для окончательного внедрения в клиническую практику необходимо, чтобы эти новые технологии доказали свою безопасность, высокую и длительную эффективность, целенаправленное воздействие на ткани-мишени, отсутствие развития побочных эффектов — словом, значительное превосходство над традиционными методами лечения вышеуказанных форм сердечно-сосудистых заболеваний.

В настоящей статье мы приведем дизайн и результаты исследования по применению

аутологичных костно-мозговых клеток-предшественников эндотелиоцитов (КМПЭ) CD133+ у пациентов с ишемической кардиомиопатией (ИКМП) и идиопатической дилатационной кардиомиопатией (ИДКМП).

В исследование по оценке применения аутологичных КМПЭ CD133+ были включены 50 пациентов: 24 пациента с ИКМП и 26 пациентов с ИДКМП. Все пациенты относились к III–IV ФК ХСН по Нью-Йоркской классификации (NYHA). Они были распределены на две группы: исследуемую, пациентам которой вводился используемый клеточный материал — изолированно или в сочетании с различными операциями, и группу плацебо, пациентам которой также изолированно или в сочетании с различными операциями вводилась бессывороточная среда точного химического состава, не содержащая компонентов животного происхождения.

Аутологичные КМПЭ CD133+ были получены из пунктата костного мозга подвздошной кости пациентов и далее выделены с помощью запатентованной CLINIMACS технологии магнитной сепарации (к.б.н. М. В. Еремеевой, лаборатория клеточных технологий НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН), что позволяло получить чистую популяцию клеток CD133+ с высокой выживаемостью (87%) и сохраненными функциями. Время получения чистой популяции CD133+ занимало в среднем 3–4 часа. Введение клеток проводилось в аутологичной сыворотке в средней дозе 2×10^6 . Выбор данного клеточного пула был основан на быстрой технологии их получения, характеристиках и обнадеживающих результатах рандомизированных клинических исследований [4, 8, 10, 12]. По своим характеристикам эти клетки обладают паракринными/ангиогенными свойствами, колониеобразующей, миграционной и адгезивной способностью и дифференцируются во взрослые эндотелиальные клетки. То есть они демонстрируют свойства, характерные как для эндотелиальных, так и для

гематопозитических клеток. Свидетельства дифференцировки КМПЭ в эндотелиальные клетки, способности интегрироваться в миокард и оказывать паракринное действие (выделять локально действующие субстанции — паракринные факторы, стимулирующие выживаемость клеток и процессы неоваскуляризации) были получены лишь в экспериментальных исследованиях [6]. По результатам рандомизированных клинических исследований КМПЭ способствовали нестойкому (до 6 мес) улучшению глобальной сократимости миокарда левого желудочка (ЛЖ) (наблюдалось достоверное уменьшение конечного систолического объема и увеличение фракции выброса ЛЖ; достоверных изменений конечного диастолического объема ЛЖ не отмечалось), уменьшению дефектов перфузии у пациентов с ИКМП и не оказывали влияния на параметры ремоделирования миокарда [1]. Поскольку не было получено веских прямых или косвенных доказательств о трансдифференцировке этих клеток в кардиомиоциты, вышеуказанные изменения стали связывать с их *паракринным эффектом — выделением клетками локально действующих субстанций — паракринных факторов, стимулирующих выживаемость клеток и процессы неоваскуляризации*, хотя убедительные доказательства последнего в клинических исследованиях пока не представлены [5, 7, 11, 15].

В качестве плацебо нами использовалась бессывороточная среда точного химического состава (0,45% NaCl, 2,5% D-Glucose, L-glutamine) с физиологическими pH и осмолярностью, не содержащая компонентов животного происхождения, разработанная коммерческим производителем РАА (Austria) в соответствии со строгими международными стандартами GMP для применения в клинических исследованиях.

Обследование пациентов до и после введения привносимого материала проводилось по следующему протоколу:

1) стандартная электрокардиография (ЭКГ);

- 2) тредмил-тест (Bruce protocol);
- 3) 6-минутный тест с ходьбой;
- 4) холтеровское мониторирование ЭКГ (ХМ ЭКГ);
- 5) рентгенологическое исследование;
- 6) трансторакальная эхокардиография (ЭхоКГ), трансэзофагеальная ЭхоКГ при необходимости; помимо оценки традиционных показателей при сердечной недостаточности проводилась оценка параметров деформации (strain) и скорости деформации миокарда – режимы цветового тканевого доплера по методу двухмерной деформации миокарда на аппарате iE33 в динамике до и после введения привнесимого материала, а также оценка характера движения миокарда с помощью методики цветового кинеза;
- 7) радионуклидные методы исследования (ОФЭКТ – однофотонная эмиссионная компьютерная томография миокарда с технецием ^{99m}Tc и ПЭТ – позитронно-эмиссионная компьютерная томография миокарда с 18 фтордезоксиглюкозой ^{18}F ДГ);
- 8) магнитно-резонансная томография миокарда (МРТ);
- 9) коронарография, левая вентрикулография (ЛВГ);
- 10) в плазме крови мы определяли содержание *проангиогенных факторов* – человеческого васкулоэндотелиального фактора роста *VEGF* (Hu VEGF-165), щелочного фактора роста фибробластов *FGFb*, плацентарного фактора роста *PlGF* – маркера ишемического повреждения миокарда и сосудистого воспаления, ангиогенина (*Angiogenin*), ангиопоэтина-1 (*Angiopoetin-1*), ангиопоэтина-2 (*Angiopoetin-2*); матриксной металлопротеиназы *MMP-9* (цинк-зависимой эндопептидазы); *фактора некроза опухоли TNF- α* (цитокина воспаления) – маркера повреждения тканей и индикатора прогрессирования сердечной недостаточности (СН); *антиангиогенного фактора* – эндостатина (*Endostatin*); *SDF-1 α* (*стромального фактора роста*), являющегося необходимым фактором хоуминга костно-

мозговых стволовых клеток в ткани сердца, *NTpro-BNP* (конечного неактивного продукта синтеза мозгового предшественника натрийуретического пептида – зрелая форма BNP; его период полужизни составляет 120 мин, в отличие от 2 мин периода полужизни pro-BNP, и он имеет большую, чем pro-BNP, молекулярную массу) – известного маркера прогрессирования СН, до и после введения клеточных «препаратов» CD133+ и плацебо с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) на микропланшетном вертикальном фотометре SUNRISE фирмы TECAN (Австрия). Сроки наблюдения составили 1, 3, 6, 12 мес и далее после введения.

В контрольную группу ($n=25$) включены 10 лиц женского пола и 15 лиц мужского пола (средний возраст $47,0 \pm 17,5$ года), у которых после проведенного обследования, включавшего стандартную ЭКГ в 12 отведениях, эхокардиографическое исследование и коронарографию, было исключено наличие заболеваний сердца. У них также определяли в плазме крови содержание вышеуказанных факторов.

Статистическая обработка данных проведена на персональном компьютере с помощью программы «Statistica 6.0 for Windows». При этом предусматривалось получение комбинационных таблиц, диаграмм, графиков и аналитических показателей: структуры (p), средних величин (M) и стандартных отклонений ($\pm sd$). В ходе анализа использовались три уровня значимости различий: $p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$ – достоверность различий 95, 99 и 99,9%.

Для сравнительного анализа различных методов лечения ХСН мы проводили расчет показателя NNT (Number Needed to Treat) числа пациентов, которых необходимо лечить с использованием предлагаемого вмешательства для предотвращения одного случая нежелательного исхода. Это нормализованный показатель клинической эффективности, позволяющий сравнивать различные методы лечения. Расчет показателя NNT проводился сле-

дующим образом: определялась разница между уровнями риска нежелательных явлений в группе предполагаемого вмешательства и в группе без применения этого вмешательства; после этого мы находили обратное значение разницы в уровнях риска ($1/\text{разница рисков} \times 100$).

Критериями включения в исследование для пациентов с ишемической кардиомиопатией являлись:

– фракция выброса (ФВ) ЛЖ $>20\%$ и $\leq 45\%$;

– перенесенный в анамнезе ИМ (рубцовая фаза ИМ или постинфарктный кардиосклероз);

– невозможность реваскуляризации зоны инфаркта (нешунтабельная и/или непригодная для транслюминальной баллонной ангиопластики коронарная артерия);

– возможность осуществления реваскуляризации смежных областей миокарда или отсутствие такой возможности;

– наличие рубцовой зоны с жизнеспособным миокардом по данным радионуклидных методов исследования (ОФЭКТ с ^{99m}Tc , ПЭТ с ^{18}F ДГ);

– согласие больного (пациенты, вошедшие в исследование, подписали информированное согласие).

Критериями исключения из исследования являлись:

– острый ИМ;

– недавний (менее 6 недель до начала исследования) инсульт;

– наличие указаний на диагностированные злокачественные новообразования в течение последних 5 лет;

– выраженная дисфункция почек (мочевина крови >50 мг/дл, креатинин $\geq 2,5$ мг/дл);

– выраженная дисфункция печени (аспартатаминотрансфераза, аланинаминотрансфераза, в 5 раз превышающие верхнюю границу нормы);

– иммунокомпрометирующий статус;

– наличие активной инфекции любого типа;

– тяжелое легочное заболевание.

Включенные в исследование пациенты с ИДКМП имели ФВ ЛЖ $>20\%$ и $\leq 45\%$ и относились к III–IV ФК ХСН по NYHA.

Пациенты были распределены на группы в зависимости от: а) вида привносимого материала: аутологичные КМПЭ CD133+ (исследуемая группа) или плацебо (группа плацебо); б) способа введения привносимого материала: изолированно транскатетерно интракоронарно, или трансэндокардиально под флюороскопическим контролем с помощью гибкой иглы с аксиальной системой доставки, регулятором глубины вкола для интрамиокардиальной пункции (0,3 мм) и дозатором введения, разработанной Н. А. Чигогидзе (НЦССХ им. А. Н. Бакулева), или интраоперационно трансэпикардиально путем введения привносимого материала в зоны интереса с помощью инсулиновых игл в сочетании с открытыми операциями на сердце, выполненными академиком Л. А. Бокерия (рис. 1).

Дизайн нашего исследования был построен как на применении современных неинвазивных и инвазивных методов обследования пациентов с ХСН для оценки динамики параметров ремоделирования, перфузии и метаболизма миокарда после клеточной терапии, так и оценке целого ряда биомаркеров в плазме крови у пациентов до и после клеточной терапии по сравнению с группой плацебо с целью выявления возможных паракринных эффектов клеточной терапии. Аналогов подобного дизайна исследования в клинической практике по оценке эффективности клеточной терапии мы не встречали.

Динамика ФК СН и толерантности к физическим нагрузкам (ФН)

В послеоперационном периоде в исследуемой группе и группе плацебо в общем отмечалась тенденция к достоверному уменьшению ФК СН и увеличению толерантности к ФН, однако статистически значимой разницы между группами плацебо и исследуемой группой выявлено не было, возможно потому, что 39% пациентов

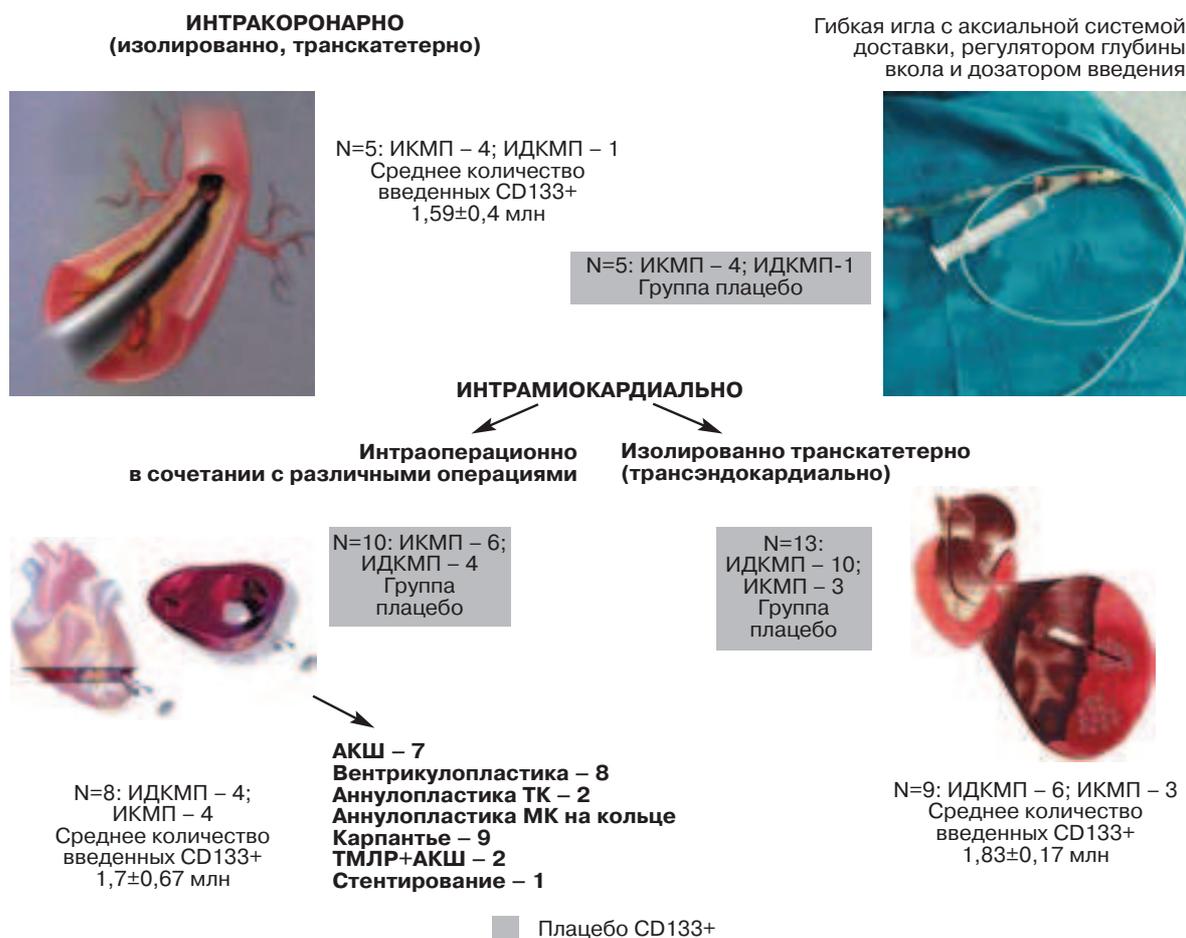


Рис. 1. Распределение пациентов по группам в зависимости от способа введения привносимого материала

введение клеток осуществлялось в сочетании с различными операциями, что не позволяло адекватно оценивать эффективность собственно клеточной терапии.

Проанализировав результаты динамики толерантности к ФН, мы пришли к выводу, что для оценки истинной эффективности клеточной терапии достовернее опираться на данные изолированного использования клеточных технологий у пациентов с ИКМП и ИДКМП. При анализе сочетанных вмешательств не представлялось возможным интерпретировать эффекты клеточной терапии вне зависимости от положительных результатов выполненного спектра операций. Поэтому далее мы проанализировали результаты только изолированного транскатетерного интракоронарного и трансэндокарди-

ального введения привносимого материала ($n=32$).

При отдельном анализе результатов лечения пациентов с ИКМП с введением привносимого материала изолированно, без сочетанных операций, до 6 мес после данной процедуры наблюдалось достоверное увеличение толерантности к ФН в исследуемой группе по сравнению с плацебо (в сроки через 6 мес не отмечалось достоверной динамики толерантности к ФН по сравнению с таковой в сроки через 3 мес в исследуемой группе), а через 1 год достоверной разницы между группами не наблюдалось.

При отдельном анализе результатов лечения пациентов с ИДКМП с введением привносимого материала изолированно не наблюдалось достоверной динамики

толерантности к ФН по тесту 6-минутной ходьбы как в исследуемой группе, так и в группе плацебо ($p > 0,05$).

Динамика ЭхоКГ-показателей ремоделирования ЛЖ

По данным ЭхоКГ исследований мы наблюдали нестойкую (в течение 3–6 мес) динамику достоверного уменьшения объемов ЛЖ с умеренным увеличением ФВ ЛЖ в группе пациентов с ИКМП после изолированного интрамиокардиального введения аутологичных КМПЭ CD133+ по сравнению с группой плацебо. При этом не наблюдалось достоверных изменений других важнейших глобальных индексов ремоделирования, таких как масса миокарда (ММ) ЛЖ и объем левого предсердия (ЛП), и не происходило регресса митральной недостаточности (МН). Через 3 мес после изолированного интрамиокардиального введения аутологичных КМПЭ CD133+ у пациентов с ИКМП также наблюдалось умеренное, но статистически значимое улучшение региональной сократимости в зонах интереса по сравнению с нелечеными зонами, группой плацебо и по отношению к исходным значениям. Через 6 мес по сравнению с данными от 3 мес существенной положительной динамики не отмечалось. При последующем наблюдении (через 1 год и позднее) эти изменения нивелировались. После изолированного интракоронарного введения аутологичных КМПЭ CD133+ в группе пациентов с ИКМП не происходило достоверных изменений по сравнению с группой плацебо. Что касается пациентов с ИДКМП, то у них не наблюдалось достоверных изменений индексов ремоделирования ЛЖ (конечного диастолического размера – КДР и конечного диастолического объема – КДО ЛЖ, ММ ЛЖ и объема ЛП), соответственно ФВ ЛЖ и МН как после изолированного интрамиокардиального введения, так и после интракоронарного введения аутологичных КМПЭ CD133+ по сравнению с группой плацебо.

Кроме того, как у пациентов с ИКМП, так и у пациентов с ИДКМП не наблюдалось достоверного изменения индекса производительности миокарда (MPI – myocardial performance index или index Tei) – доплеровского параметра, используемого для оценки систоло-диастолической функции левого и правого желудочков, не зависящего от частоты сердечных сокращений, артериального давления и геометрической конфигурации сердца и высоко коррелирующего с инвазивными параметрами ХСН [3, 13, 14]. Он рассчитывается как отношение суммы времени изоволюметрического сокращения и времени изоволюметрического расслабления ко времени изгнания соответственно ЛЖ или ПЖ.

Динамика перфузии и метаболизма миокарда по данным ОФЭКТ и ПЭТ

Прежде чем изложить результаты этих исследований, следует отметить, что пациентам с ИКМП изолированное транскатетерное трансэндокардиальное введение привносимого материала осуществлялось на основании результатов ОФЭКТ и ПЭТ в зоны рубцово-измененного, но жизнеспособного миокарда и зоны ишемии в 79% случаев, а в 21% случаев – в зоны нежизнеспособного миокарда. На основании данных этих исследований 93% пациентов с ИКМП изолированное транскатетерное трансэндокардиальное введение привносимого материала осуществлялось в заднебоковые сегменты ЛЖ, 57% – в задненижние сегменты ЛЖ помимо заднебоковых сегментов и 64% – в верхушечные сегменты ЛЖ наряду с заднебоковыми сегментами ЛЖ. Таким образом, в нашем исследовании не было случаев трансэндокардиального введения привносимого материала в переднюю стенку миокарда ЛЖ у пациентов с ИКМП.

Изолированное транскатетерное интракоронарное введение привносимого материала осуществлялось у 8 пациентов с ИКМП: в 4 случаях в ПМЖВ – переднюю межжелудочковую артерию (во всех

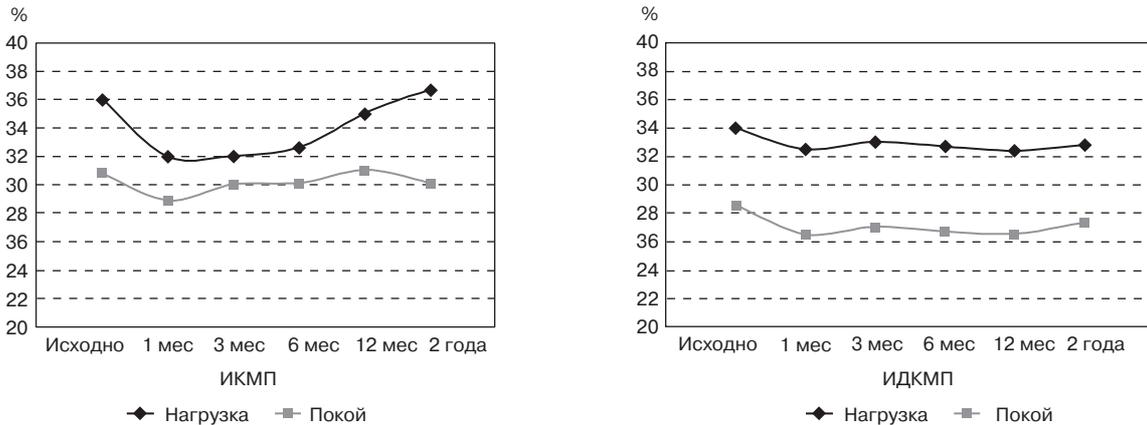


Рис. 2. Динамика величины дефектов перфузии исходно и в различные сроки после изолированного интрамиокардиального введения КМПЭ CD133+. Различия между группами с ИКМП и ИДКМП достоверны ($p < 0,05$)

случаях отмечались стенозы ПМЖВ в с/3 от 95 до 99%) и в 4 случаях в ПКА — правую коронарную артерию (во всех случаях отмечалась окклюзия д/3 ПКА и стенозы с/3 ПКА от 75 до 99%).

Пациентам с ИДКМП изолированное транскатетерное трансэндокардиальное введение привносимого материала осуществлялось на основании результатов ОФЭКТ, ПЭТ миокарда и ЛВГ — в зоны с дефектами перфузии, нарушениями метаболизма и наиболее выраженным гипокинезом. Исходно для этих пациентов характерным являлось наличие зон с умеренным снижением перфузии и метаболизма миокарда, свидетельствующее о наличии фиброзированного и в то же время жизнеспособного миокарда на фоне глобального снижения сократительной способности ЛЖ с диффузным гипокинезом стенок. На основании данных этих исследований 100% пациентов с ИДКМП изолированное транскатетерное трансэндокардиальное введение привносимого материала осуществлялось в заднедиафрагмальные сегменты ЛЖ, а 44% пациентов — помимо заднедиафрагмальных сегментов в переднебоковой и верхушечный сегменты ЛЖ. Введение в зону межжелудочковой перегородки не проводилось ни пациентам с ИКМП, ни пациентам с ИДКМП ввиду известной уязвимости этой области — вы-

сокой вероятности возникновения жизнеугрожающих аритмий. Двум пациентам с ИДКМП введение привносимого материала осуществляли интракоронарно в систему левой и правой коронарных артерий — ПМЖВ и ПКА.

Результаты анализа данных ОФЭКТ и ПЭТ показали, что после изолированного использования аутологических КМПЭ CD133+ у пациентов с ИКМП и ИДКМП:

- перфузия миокарда умеренно, но достоверно улучшалась после изолированного интрамиокардиального введения клеточных препаратов CD133+ в зоны дефектов перфузии с жизнеспособным миокардом у 79% пациентов с ИКМП в отличие от пациентов с ИДКМП и в отличие от интрамиокардиального введения плацебо при ИКМП и ИДКМП (рис. 2).

- перфузия миокарда достоверно не менялась при интракоронарном способе введения CD133+ у пациентов с ИКМП и ИДКМП, так же как не менялась при интракоронарном способе введения плацебо у этих пациентов;

- достоверное улучшение перфузии у 79% пациентов с ИКМП отмечалось в леченных сегментах (преимущественно на нагрузке, меньше — в покое) с исходно умеренным и значительным снижением перфузии, но сохранным метаболизмом

¹⁸ФДГ, к 3–6 мес после изолированного интрамиокардиального введения CD133+ по сравнению с плацебо; через 1 год этот эффект нивелировался; в не леченных сегментах перфузия не менялась;

– у 21% пациентов с ИКМП, которым изолированное интрамиокардиальное введение аутологичных КМПЭ CD133+ проводилось в зоны дефектов перфузии с нежизнеспособным миокардом по данным ПЭТ, достоверных изменений метаболизма не наблюдалось как по сравнению с исходными значениями, так и по сравнению с группой плацебо;

– процент жизнеспособных и нежизнеспособных сегментов по данным ПЭТ достоверно не менялся после клеточной терапии по сравнению с плацебо.

Динамика биомаркеров – ангиогенных факторов и маркеров ХСН

Поскольку КМПЭ CD133+ вызывают паракринные эффекты опосредованно – путем секреции ангиогенных факторов, то в нашем исследовании мы решили оценить плазменную концентрацию 11 биомаркеров. Биомаркеры оценивались в плазме крови у четырех групп пациентов: 1) в группе здоровых ($n=25$; средний возраст $47 \pm 17,5$ года), 2) в исследуемой группе ($n=14$; средний возраст $55,3 \pm 13,4$ года) до и после изолированного интрамиокардиального введения КМПЭ CD133+; 3) в группе плацебо ($n=18$; средний возраст $51,7 \pm 15,3$ года) до и после изолированного интрамиокардиального введения плацебо, 4) в группе пациентов с ИБС с ФВ ЛЖ $>50\%$ до и после операций АКШ без искусственного кровообращения (ИК) или стентирования коронарных артерий ($n=36$; $61,3 \pm 8,6$ года).

Через 14 дней после изолированного транскатетерного интрамиокардиального введения аутологичных КМПЭ CD133+ (исследуемая группа) мы наблюдали достоверное увеличение концентрации SDF-1 α и VEGF и снижение концентрации PIGF в венозной крови. При отдель-

ном анализе динамики биомаркеров в подгруппах пациентов с ИКМП и ИДКМП оказалось, что у пациентов с ИДКМП наблюдалось достоверное повышение концентрации в плазме крови SDF-1 α наряду с достоверным повышением концентрации NT-proBNP, а у пациентов с ИКМП наблюдалось лишь достоверное снижение концентрации PIGF, при этом концентрация NT-proBNP у них не менялась. В группе плацебо каких-либо изменений не отмечалось. При сравнительном анализе послеоперационной (в сроки через 14 дней после изолированного введения привносимого материала) концентрации биомаркеров в исследуемой группе и группе плацебо в первой достоверно выше были показатели SDF-1 α и VEGF. Однако при сравнительном анализе послеоперационной концентрации биомаркеров у пациентов двух подгрупп в исследуемой группе – ИКМП и ИДКМП оказалось, что у пациентов с ИДКМП достоверно выше были послеоперационные концентрации Angiopoetin-2, SDF-1 α и NT-proBNP, чем у пациентов с ИКМП, различий в концентрации других показателей не выявлено.

При оценке дальнейшей динамики наблюдавшихся изменений концентраций SDF-1 α , VEGF, PIGF, NT-proBNP и Angiopoetin-2 в исследуемой группе после изолированного и/миокардиального введения CD133+ оказалось, что в сроки через 1 мес после данной процедуры нивелировались изменения концентраций SDF-1 α , VEGF и Angiopoetin-2 в подгруппе ИДКМП, а изменения концентрации PIGF в подгруппе ИКМП – через 3 мес. Концентрация NT-proBNP в исследуемой группе и группе плацебо достоверно не менялась (табл. 1, 2).

Полученные результаты означают, что у пациентов с ИДКМП аутологичные КМПЭ CD133+ попадают в кровоток, что отражается повышением концентрации SDF-1 α у этих пациентов, так как из-за сниженной активации факторов

Таблица 1

Сравнительная динамика концентраций NT-proBNP, VEGF, Angiopoetin-2, PIGF и SDF-1α в различные сроки после изолированного транскатетерного интрамиокардиального введения КМПЭ CD133+ и плацебо

Показатели	Исходно	Через 14 дней после операции	Через 1 мес после операции	Через 3 мес после операции	Через 6 мес после операции	Через 1 год после операции
NT-proBNP, fmol/ml						
исследуемая группа	139,7±40,1	168,48±26,3	158,25±65,4	159,25±63,4	160,49±45,32	162,53±46,2
плацебо	148,2±39,6	168,5±26,5	179,9±36,3	173,9±37,3	172,02±36,45	171,5±36,8
VEGF, нг/мл						
исследуемая группа	0,069±0,013	0,139±0,05* ^Δ	0,062±0,013 [#]	0,064±0,012	0,063±0,013	0,069±0,013
плацебо	0,098±0,012	0,013±0,007	0,015±0,013	0,016±0,012	0,091±0,009	0,095±0,012
Angiopoetin-2, нг/мл						
исследуемая группа	5,6±1,4	6,2±1,4	6,4±1,2	6,3±1,5	5,9±1,3	5,6±1,4
плацебо	6,9±4,9	10,2±2,4	6,5±1,5	6,2±1,6	6,2±1,4	6,9±3,7
PIGF, нг/мл						
исследуемая группа	0,042±0,011*	0,02±0,012 ^Δ	0,029±0,011	0,039±0,012 [#]	0,04±0,009*	0,042±0,001*
плацебо	0,027±0,0064	0,023±0,003	0,025±0,003	0,026±0,0062	0,025±0,006	0,026±0,0064
SDF-1α, нг/мл						
исследуемая группа	2,61±0,38	3,1±0,75* ^Δ	2,6±0,29 [#]	2,6±0,39	2,58±0,40	2,6±0,40
плацебо	2,63±0,61	2,61±0,29	2,53±0,46	2,63±0,46	2,63±0,59	2,58±0,60

p<0,05 по сравнению с предыдущей ячейкой.

Δ p<0,05 по сравнению с исходным значением.

* p<0,05 между исследуемой группой и группой плацебо.

Таблица 2

Сравнительная динамика концентраций NT-proBNP, VEGF, Angiopoetin-2, PIGF и SDF-1α в различные сроки после изолированного транскатетерного интрамиокардиального введения КМПЭ CD133+ у пациентов с ИКМП и ДКМП

Показатели в исследуемой группе	Исходно	Через 14 дней после операции	Через 1 мес после операции	Через 3 мес после операции	Через 6 мес после операции	Через 1 год после операции
NT-proBNP, fmol/ml						
ДКМП	186,45±42*	230,2±25,9*	198,25±35,4*	198,25±35,4*	189,49±45,32*	182,53±46,2*
ИКМП	64,4±20,1	92,7,5±18,1	79,9±16,3	79,9±16,3	82,02±26,45	85,5±16,5
SDF-1α, нг/мл						
ДКМП	2,76±0,36*	3,42±0,62* ^Δ	2,67±0,45* [#]	2,7±0,29*	2,73±0,31*	2,69±0,33*
ИКМП	2,32±0,29	2,41±0,54	2,5±0,25	2,37±0,5	2,49±0,5	2,39±0,27
Angiopoetin-2, нг/мл						
ДКМП	7,37±1,9*	7,9±1,9*	6,4±1,6*	6,2±1,7*	5,9±1,7*	7,2±1,4*
ИКМП	2,4±0,8	2,7±0,84	3,5±0,5	3,4±0,7	3,2±0,64	3,5±0,57
PIGF, нг/мл						
ДКМП	0,03±0,011	0,023±0,01	0,023±0,01	0,03±0,013	0,02±0,015	0,029±0,011
ИКМП	0,064±0,01*	0,015±0,009 ^Δ	0,017±0,01	0,059±0,01* [#]	0,061±0,02*	0,063±0,009*

*p<0,05 между группами с ДКМП и ИКМП.

Остальные символы означают, то же, что и в таблице 1.

хоуминга в ткани сердца они не мигрируют то есть не попадают в зоны поражения сосудистого эндотелия и миокарда (поэтому мы и наблюдаем увеличение содержания SDF-1 α в крови при отсутствии или значительном снижении их экспрессии в миокарде, в отличие от пациентов с ИКМП), что подтверждается клиническими данными, объективными и лабораторными методами обследования, частотой госпитализаций и выживаемостью в ближайшем и отдаленном периодах. То есть указанная терапия не приводила к какому-либо торможению или регрессу ремоделирования миокарда у этих пациентов. Вышеуказанные изменения концентрации SDF-1 α нивелировались в сроки через 1 мес после изолированного введения, возвращаясь к исходным значениям, которые, тем не менее, были значимо выше, чем у пациентов с ИКМП, и по сравнению с нормой.

У пациентов с ИКМП наблюдалось только достоверное снижение концентрации PIGF после изолированного интрамиокардиального введения аутологичных КМПЭ CD133+, которая исходно у них была значимо больше, чем у пациентов с ДКМП. Это является прогностически благоприятным признаком, поскольку в настоящее время доказано и нами также было продемонстрировано, что концентрация этого специфического для ИБС маркера сосудистого воспаления и проангиогенного фактора прогрессивно возрастает по мере увеличения ФК СН по NYHA ($p=0,00012$), достоверно коррелирует с NT-proBNP ($r=0,56$, $p=0,015$) и с ФВ ЛЖ ($r=-0,56$, $p=0,023$). Тем не менее в послеоперационном периоде корреляции PIGF с NT-proBNP не наблюдалось, возможно, из-за того, что: 1) в сроки через 14 дней не происходило достоверного снижения КДО, КДД и ММ ЛЖ, чтобы уменьшился выброс NT-proBNP; 2) снижение концентрации PIGF нивелировалось через 3 мес после введения CD133+.

Все это свидетельствует о том, что у пациентов с ИКМП CD133+ мигрируют и попадают в зону повреждения миокарда (о чем свидетельствует достоверно более низкая концентрация фактора хоуминга SDF-1 α в крови по сравнению с пациентами с ДКМП) вследствие более высокой активности экспрессии факторов хоуминга в рубцово-измененном миокарде в отличие от миокарда пациентов с ИДКМП, что выразилось в достоверном снижении концентрации PIGF и положительной клинической динамике, результатах ЭхоКГ и данных перфузии миокарда в сроки через 1–3 мес. Через 6 мес указанные эффекты нивелировались.

Таким образом, после однократного изолированного транскатетерного интрамиокардиального введения аутологичных клеточных препаратов CD133+ в средней дозе 2×10^6 у больных с ИКМП отмечалось умеренное достоверное улучшение перфузии в леченных сегментах в отличие от не леченных и по сравнению с изолированным интрамиокардиальным введением плацебо. Введение клеточных препаратов способствовало достоверному уменьшению объемов ЛЖ с умеренным увеличением ФВ ЛЖ в сроки до 6 мес после данной процедуры. В то же время не претерпевали значимых изменений такие показатели ремоделирования, как ММ ЛЖ, доплеровский индекс производительности миокарда, объем ЛП и митральная недостаточность.

Оценивая паракринную активность клеточных препаратов CD133+ после однократного изолированного интрамиокардиального их введения у больных с ИКМП, отметим их ограниченную эффективность и непродолжительное действие. У больных с ДКМП указанные эффекты представлены еще более скромно, что может быть связано с отсутствием активации факторов хоуминга в миокарде. Дальнейшие исследования должны открыть причины указанных изменений на молекулярном и клеточно-тканевом уровнях.

Выживаемость, частота госпитализаций и сравнение с другими методами лечения ХСН

За 5-летний период наблюдения в течение 1-го года после операций изолированного интракоронарного/интрамиокардиального введения привносимого материала в исследуемой группе число выживших составило 77%, а в группе плацебо – 80% ($p=0,67$). Соответственно летальность в исследуемой группе составила 23%, а в группе плацебо – 20% ($p=0,81$). Из них, как в исследуемой группе, так и в группе плацебо, по одному летальному исходу приходилось на пациентов с ИКМП – смерть наступала от прогрессирующей ЛЖ-недостаточности, урежения сердечного ритма и фибрилляции желудочков. Остальные летальные исходы наблюдались у пациентов с ИДКМП (возраст составил от 22 до 48 лет) – они умерли внезапно, и эти случаи были классифицированы как внезапная сердечная смерть.

За период наблюдения после выписки из НЦССХ им. А. Н. Бакулева высокой была частота госпитализаций выживших пациентов в связи с декомпенсацией СН

(33% через 1 мес и 50–55% через 1 год в обеих группах).

Для оценки эффективности клеточной терапии с использованием аутологичных КМПЭ CD133+ в лечении пациентов с ХСН III–IV ФК по NYHA ишемического и неишемического генеза по сравнению с другими современными методами лечения ХСН мы сочли целесообразным рассчитать показатель NNT для летальности и частоты госпитализаций. При сравнительном анализе нормализованных показателей $NNT_{летальность}$ и $NNT_{частота\ госпитализаций}$ для АКШ, сердечной ресинхронизирующей терапии и клеточной терапии с использованием аутологичных КМПЭ CD133+ с изолированным медикаментозным лечением у соответствующей категории пациентов в течение 1–5 лет оказалось, что клеточная терапия имеет достаточно скромные результаты (табл. 3). В любом случае в лечении столь тяжелого контингента больных необходим гибридный комплексный подход, предусматривающий оптимизацию терапевтического лечения, клеточной кардиомиопластики, хирургических и интервенционных пособий.

Таблица 3

Сравнительный анализ использования клеточных препаратов CD133+ и других современных методов лечения ХСН по показателям NNT с точки зрения летальности и частоты госпитализаций

Вид лечения	Результаты по сравнению с контр. группой	Длительность лечения, годы	NNT	95% ДИ
АКШ/АКШ+вентрикулопластика при трехсосудистом поражении коронарных артерий и ФВ ЛЖ<45% (ХСН ишемического генеза)	Летальность	1 год/5 лет	15/11	8–16
	Частота госпитализаций	1 год/5лет	13/10	8–14
Сердечная ресинхронизирующая терапия (\pm ИКВДФ) у пациентов с III–IV ФК по NYHA, ФВ ЛЖ<35%, QRS>120 мс (пациенты с ХСН ишемического и неишемического генеза); ИКВДФ при классе I показаний к ИКВДФ	Летальность	1 год/3 года	13/7	5–44
	Частота госпитализаций	1 год/3 года	12/8	6–30
Клеточная терапия с применением CD133+ у пациентов с ХСН III–IV ФК по NYHA	Летальность	1 год/5 лет	33/60	9–66
	Частота госпитализаций	1 год/5 лет	22/50	5–62

Примечание. ИКВДФ – имплантируемый кардиовертер-дефибриллятор, ДИ – доверительный интервал

На основании полученных результатов были сделаны следующие выводы:

1. Применение аутологичных костномозговых клеток-предшественников эндотелиоцитов CD133+ (клеточных «препаратов» CD133+) в средней дозе 2×10^6 в лечении пациентов с ИКМП и идиопатической ДКМП является осуществимым и безопасным.

2. Однократный изолированный транскатетерный интрамиокардиальный способ введения аутологичных клеточных препаратов CD133+ у пациентов с ИКМП обладает преимуществами перед изолированным интракоронарным их введением по данным клинико-инструментальных методов исследования, в том числе однофотонной эмиссионной компьютерной томографии миокарда и эхокардиографии.

3. По данным радионуклидных методов исследования после однократного изолированного транскатетерного интрамиокардиального введения аутологичных клеточных препаратов CD133+ в средней дозе 2×10^6 у больных с ИКМП отмечается умеренное достоверное улучшение перфузии в леченных сегментах в отличие от не леченных сегментов и по сравнению с изолированным интрамиокардиальным введением плацебо. Эти явления наблюдаются преимущественно в сегментах с исходно значимым снижением перфузии, но сохранным метаболизмом 18 фтордезоксиглюкозы.

4. По данным эхокардиографии однократное изолированное транскатетерное интрамиокардиальное введение аутологичных клеточных препаратов CD133+ приводит к достоверному уменьшению объемов левого желудочка с умеренным увеличением фракции выброса в сроки до 6 мес после данной процедуры. В то же время не претерпевают значимых изменений такие показатели ремоделирования, как масса миокарда левого желудочка, доплеровский индекс производительности миокарда, объем левого предсердия и митральная недостаточность.

5. Паракринные свойства аутологичных клеточных препаратов CD133+, опосредованных секрецией ангиогенных факторов и оцениваемых путем определения их концентрации в плазме крови, после однократного транскатетерного интрамиокардиального введения у больных с ИКМП нестойки и мало выражены, однако их эффект превосходит таковой у больных с идиопатической ДКМП. Возможно, описанный эффект обусловлен экспрессией фактора хоуминга SDF-1 α , более выраженной в рубцово-измененном миокарде больных с ХСН ишемического генеза.

6. Применение аутологичных клеточных препаратов CD133+ может быть перспективным в комплексном лечении пациентов с ХСН ишемического генеза при условии результативной активации экспрессии факторов хоуминга в рубцово-измененном миокарде и повторного выполнения процедур их введения через 6 мес.

Заключение

История применения клеточных технологий в кардиологии и кардиохирургии с целью регенерации поврежденного миокарда была ознаменована 9–10 лет назад серией экспериментальных исследований, продемонстрировавших уменьшение зоны постинфарктного рубца, улучшение перфузии и систолической/диастолической функций миокарда вследствие интеграции введенных в миокард стволовых клеток. Тем не менее воспроизведения аналогичных результатов в клинических исследованиях к настоящему времени пока достигнуть не удалось. Скептики могут рассматривать это как конец эры подобных исследований, а оптимисты – как начало нового этапа научного поиска с возможностью реализации новых идей. Подобные идеи часто возникают при интуитивной трансформации простых истин в совершенно новую концепцию. Так, систематические и высокоточные астрономические наблюдения великого астронома Тихо Браге помогли не менее великому

математику и астроному Иоганну Кеплеру через 10 лет после Браге открыть законы движения планет, а «неряшливость» Александра Флеминга, не выбрасывавшего заплесневевшие культуры в чашках Петри и сделанное им наблюдение явились всего лишь двумя обстоятельствами в целом ряду случайностей, способствовавших открытию пенициллина. Что касается новейших идей относительно применения клеточных технологий в кардиологии, то в настоящее время на поверхности лежат *три направления*, которые, объединив, можно было бы назвать «тем очевидным и в то же время невидимым», которое описывает Дениел Куинн в своем знаменитом опусе «За пределами цивилизации».

Первой такой новаторской идеей является воссоздание в клинических исследованиях, направленных на регенерацию поврежденного миокарда, процессов эмбрионального онтогенеза для создания более благоприятного микроокружения стволовых клеток, что может быть достигнуто путем активации специфических генов или индукцией цитокинов (стимулирующих миграцию и пролиферацию) и ингибиторов апоптотической гибели клеток. Одним словом – воссоздание процессов, происходящих в ране сумки эмбриона опоссума, которая заживает через 9 дней после нанесения повреждения без образования рубца с нормальным ростом волосяного фолликула и развитием эпителия. Этот эмбриональный механизм заживления раны без образования рубца, наблюдаемый у некоторых животных, по-видимому, включает и процессы воспалительного ответа, поэтому при условии воссоздания подобного микроокружения в ткани сердца человека можно было бы добиться регенерации миокарда с помощью стволовых клеток в более благоприятных условиях эмбриональной среды.

Вторая идея основана на применении резидентных стволовых клеток миокарда и их потенциала с учетом уже доказанной концепции о том, что сердце человека –

это саморегенерирующийся орган (по данным P. Anversa (2006 г.), в целом клеточная популяция ткани сердца самообновляется приблизительно каждые 4,5 года, а популяция кардиомиоцитов самообновляется приблизительно 18 раз на протяжении жизненного цикла организма человека независимо от заболеваний сердца). Только резидентные стволовые клетки миокарда, дифференцирующиеся в кардиомиоциты, могут воспроизвести уникальные процессы электромеханического сопряжения, заложенные природой в сердце.

И наконец, третья идея, являясь логическим завершением первой и второй идей, предполагает идентификацию и использование уникальных генов, ответственных за уже упомянутую выше «безрубцовую» регенерацию миокарда. К. Ross и соавт. еще в 2002 г. обнаружили, что ткани сердечной мышцы взрослой особи рыбки-зебры (*данио*) полностью саморегенерируются через 2 мес после резекции 20% сердца, восстанавливая исходные размеры сердца. Более того, авторы идентифицировали гены, ответственные за эти процессы, и выявили их у человека. Контроль и регуляция активации/подавления подобных генов открыли бы новые возможности в процессах регенерации миокарда, в котором наличие резидентных стволовых клеток не предотвращает неизбежное формирование рубца при инфаркте миокарда и дальнейшее развитие ремоделирования.

К концепции третьей идеи можно присовокупить и возможность использования стволовых клеток или их продуцентов для предотвращения развития дефектов сердца внутриутробно. Чрезвычайно захватывающей в связи с этим явилась серия экспериментальных исследований, выполненная D. Fraidenraich и соавт., с использованием мышинных эмбриональных стволовых клеток для внутриутробной коррекции врожденных пороков сердца у мышей. Врожденные пороки сердца, описываемые авторами, весьма сложны и возникают вследствие отсутствия (потери) группы ге-

нов, известных как гены ингибиторы дифференцировки. Подобный генетический дефект влияет на формирование (или закладку) развивающихся структур сердца, приводя к смерти мышей до их рождения. Исследователи показали, что внедрение стволовых клеток здоровых особей или их продуцентов (IGF-1 – инсулиноподобного фактора роста или его комбинации с геном Wnt5a) в организм матери может предотвращать у мышей многие (но не все, подчеркивают авторы) дефекты сердца у плода. Работа этих авторов создает новый виток в направлении использования стволовых клеток в кардиологии и кардиохирургии.

Таким образом, пока область науки, охватывающая разработку и внедрение клеточных и генных технологий не только в сердечно-сосудистую хирургию, но и в другие сферы медицины, окружена безграничным, полным тайн лесом Неведомого. То, что мы знаем, – ограничено, а что не знаем – бесконечно. В обществе неизбежно разгораются споры и дискуссии, знания обрастают мифами и предубеждениями. Готовность к восприятию нового позволяет нам осознанно изучать новые концепции, иногда даже отличные от общепринятых положений.

Л и т е р а т у р а

1. *Abdel-Latif, A.* Adult bone marrow – derived cells for cardiac repair. A Systematic Review and Meta-analysis / A. Abdel-Latif, R. Bolli, I. M. Tleyjeh et al. // *Arch. Intern. Med.* – 2007. – Vol. 167. – P. 989–997.
2. *Anversa, P.* Life and death of cardiac stem cells: a paradigm shift in cardiac biology / P. Anversa // *Circulation.* – 2006. – Vol. 113. – P. 1451–1463.
3. *Arnlov, J.* Myocardial performance index, a Doppler-derived index of global left ventricular function, predicts congestive heart failure in elderly men / J. Arnlov, E. Ingelsson, U. Risérus et al. // *Eur. Heart J.* – 2004. – Vol. 25. – P. 2220–2225.
4. *Assmus, B.* Transcoronary transplantation of progenitor cells after myocardial infarction / B. Assmus, J. Honold, V. Schachinger et al. // *New Engl. J. Med.* – 2006. – Vol. 355. – P. 1222–1232.
5. *Burchfield, J. S.* Role of paracrine factors in stem and progenitor cell mediated cardiac repair and tissue fibrosis / J. S. Burchfield, S. Dimmeler // *Fibrogenesis Tissue Repair.* – 2008. Vol. 1, № 4. – P. 1–11.
6. *Chavakis, E.* Role of β 2-integrins for homing and neovascularization capacity of endothelial progenitor cells / E. Chavakis, A. Aicher, Ch. Heeschen et al. // *J. Exp. Med.* – 2005. – Vol. 201, № 1. – P. 63–72.
7. *Crisostomo, P. R.* Stem cell mechanisms and paracrine effects: potential in cardiac surgery / P. R. Crisostomo, M. Wang, T. A. Markel et al. // *Shock.* – 2007. – Vol. 28, № 4. – P. 375–383.
8. *Erbs, S.* Transplantation of blood-derived progenitor cells after recanalization of chronic coronary artery occlusion: first randomized and placebo-controlled study / S. Erbs, A. Linke, V. Adams et al. // *Circ. Res.* – 2005. – Vol. 97. – P. 756–762.
9. *Fraidenraich, D.* Rescue of cardiac defects in id knockout embryos by injection of embryonic stem cells / D. Fraidenraich, E. Stillwell, E. Romero et al. // *Science.* – 2004. – Vol. 306, № 5694. – P. 239–240.
10. *Hendrikx, M.* Recovery of regional but not global contractile function by the direct intramyocardial autologous bone marrow transplantation: results from a randomized controlled clinical trial / M. Hendrikx, K. Hensen, C. Clijsters et al. // *Circulation.* – 2006. – Vol. 114. – P. I101–I107 (Suppl. 1).
11. *Hunting, C.* Circulating endothelial (progenitor) cells reflect the state of the endothelium: vascular injury, repair and neovascularization / C. Hunting, W. A. Noort, J. J. Zwaginga // *Intern. J. Transfus. Med. Vox Sanguinis.* – 2005. – Vol. 88, Is. 1. – P. 1–9.
12. *Kang, H.* Differential effect of intracoronary infusion of mobilized peripheral blood stem cells by granulocyte colony-stimulating factor on left ventricular function and remodeling in patients with acute myocardial infarction versus old myocardial infarction: the MAGIC Cell-3-DES randomized, controlled trial / H. Kang, H. Lee, S. Na et al. // *Circulation.* – 2006. – Vol. 114. – P. I145–I151 (Suppl. 1).
13. *Kirkpatrick, J.* Echocardiography in heart failure. Applications, utility and new horizons / J. Kirkpatrick, M. A. Vannan, J. Narula et al. // *JACC.* – 2007. – Vol. 50, № 5. – P. 381–396.
14. *Mikkelsen, K. V.* Tei index and neurohormonal activation in patients with incident heart failure: serial changes and prognostic value / K. V. Mikkelsen, J. Moller, P. Bie et al. // *Eur. J. Heart Fail.* – 2006. – Vol. 8. – P. 599–608.
15. *Miller-Kasprzak, E.* Endothelial progenitor cells as a new agent contributing to vascular repair / E. Miller-Kasprzak, P. P. Jagodziński // *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz).* – 2007. – Vol. 55, № 4. – P. 247–259.
16. *Poss, K. D.* Heart Regeneration in Zebrafish / K. D. Poss, L. G. Wilson, M. T. Keating // *Science.* – 2002. – Vol. 298, № 5601. – P. 2188–2190.

Поступила 19.11.2009