

УДК 616.127-005.8

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТЕРАПИИ КЛЕТОЧНЫМ ПРОДУКТОМ ОСТРОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА У КРЫС ЛИНИИ WISTAR ПО ДАННЫМ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МИОКАРДА

^{1,2}Лыков А.П., ¹Кабаков А.В., ^{1,2}Повешенко О.В., ^{1,2}Бондаренко Н.А.,
^{1,2}Повешенко А.Ф., ¹Казаков О.В., ^{1,2}Никонорова Ю.В., ^{1,2}Коненков В.И.

¹ФГБУ «НИИКЭЛ» СО РАМН, Новосибирск;

²ФГБУ «ННИИ ПК им. акад. А.Е. Мешалкина» МЗ РФ, Новосибирск, e-mail: aplykov2@mail.ru

В работе исследована клиническая эффективность терапии клеточным продуктом (костномозговые-мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки – КМ-ММСК, кондиционная среда от КМ-ММСК) при экспериментальном остром инфаркте миокарда у крыс линии Wistar по данным мониторинга биоэлектрической активности миокарда. Показано, что введение интрамиокардиально вокруг зоны некроза миокарда клеточного продукта приводит к улучшению функциональной активности поврежденного при остром инфаркте миокарда кардиомиоцитов.

Ключевые слова: инфаркт миокарда, клеточный продукт, биоэлектрическая активность миокарда

EFFICIENCY OF THERAPY BY THE CELLULAR PRODUCT OF THE SHARP MYOCARDIAL INFARCTION AT RATS OF THE WISTAR LINE ACCORDING TO BIOELECTRIC ACTIVITY OF THE MYOCARDIUM

^{1,2}Lykov A.P., ¹Kabakov A.V., ^{1,2}Poveshchenko O.V., ^{1,2}Bondarenko N.A.,
^{1,2}Poveshchenko A.F., ¹Kazakov O.V., ^{1,2}Nikonorova Y.V., ^{1,2}Konenkov V.I.

¹Institute Clinical and Experimental Lymphology SB RAMS, Novosibirsk;

²FSBI NNRI Circulation Pathology of E.N. Meshalkin MH RF, Novosibirsk, e-mail: aplykov2@mail.ru

We have studied the clinical efficacy of cellular therapy product (bone marrow multipotent mesenchymal stromal-cell – BM-MMSC, conditioned medium from BM-MMSC) in experimental acute myocardial infarction in Wistar rats according to the monitoring of bioelectric activity of the myocardium. It is shown that intramyocardial administration of myocardial necrosis around the cell product leads to improved functional activity damaged in acute myocardial infarction cardiomyocytes.

Keywords: myocardial infarction, cellular product, the bioelectrical activity of the myocardium

Сердечно-сосудистые заболевания, в частности острый инфаркт миокарда (ИМ), являются основной причиной смертности во всем мире [5]. Недостаток капиллярной сети и перфузии после перенесенного ИМ приводят к апоптозу эндотелиоцитов, что свою очередь ведет к увеличению зоны инфаркта и дисфункции левого желудочка [7]. Более того, ИМ ведет к невосполнимой утрате части кардиомиоцитов и формированию рубца, что также является пусковыми факторами формирования сердечной недостаточности [7]. Таким образом, терапевтический ангиогенез становится важной стратегией лечения сосудистой недостаточности при ИМ. Костномозговые мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (КМ-ММСК) это эффективный клеточный продукт для терапии ИМ, о чем свидетельствуют экспериментальные данные на животных и клинические исследования у человека [3-7]. В основе терапевтического эффекта трансплантации КМ-ММСК лежит регенерация миокарда, ангиогенез, апоптоз кардиомиоцитов и подавление кардиального ремоделирования [4-7]. Показано, что в процессах регенерации миокарда

существенная роль отводится биологически активным продуктам, секретируемых КМ-ММСК [7]. Однако не исследован клинический эффект введения кондиционной среды от КМ-ММСК при ИМ. Поэтому, целью исследования стало сравнительное изучение эффекта клеточного продукта при экспериментальном инфаркте миокарда у крыс линии Wistar.

Материалы и методы исследования

Эксперименты на лабораторных животных проведены в соответствии с «Правилами работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г. №755) и с соблюдением принципов Хельсинской декларации ВМА (2000). Эксперимент выполнен на 16 крысах-самках линии Wistar с массой 300 г. Животные содержались на стандартной лабораторной диете и имели свободный доступ к воде. Инфаркт миокарда моделировался перевязкой левой передней нисходящей коронарной артерии с отступом на 2-3 мм от основания ушка лигатурой под наркозом (Залетил в дозе 3 мг/кг; Вибран С.А., Франция и Ксилазин в дозе 8 мг/кг; ЗАО «Нита-Фарм», Россия – внутривенно) и искусственной вентиляции легких с помощью аппарата искусственной вентиляции легких «Вита-1». Оперативный доступ осуществляли по методике [2]. Об успешной перевязке артерии су-

дили по изменению цвета миокарда и по отсутствию видимой перфузии ниже места перевязки артерии. Животные были разделены на следующие группы: 1 группа – инфаркт миокарда, 2 группа – инфаркт миокарда с интрамиокардиальным введением забуференного физиологического раствора (ЗФР) в 6 точках левого желудочка по 50 мкл/точка ниже места перевязки артерии, 3 группа – инфаркт миокарда с интрамиокардиальным введением КМ-ММСК в 5 точках левого желудочка по 80 000 клеток/точка ниже места перевязки артерии, 4 группа – инфаркт миокарда с интрамиокардиальным введением КМ-ММСК в 5 точках левого желудочка по 50 мкл/точка ниже места перевязки артерии, по 4 животного в каждой группе. О развитии инфаркта миокарда также судили по данным ЭКГ, которые регистрировали электрокардиографом ЭК1Т-1/3-07 «Аксион» со скоростью ленты 50 мм/сек и вольтажом 20мВ/мм в трех стандартных и трех усиленных отведениях. ММСК от линии крыс Wistar (n=5) получали из клеток костного мозга бедренных костей. Ядродержащие клетки КМ ресуспендировали в среде DMEM (Биолот, СПб) и пропускали через фильтр (размер пор 80 мкм) для удаления клеточного дебриса, подсчитывали количество жизнеспособных клеток. Для получения КМ-ММСК ядродержащие клетки КМ инкубировали в пластиковых флаконах (TPP, Швейцария) в среде DMEM (Биолот, СПб), дополненной 100 мкг/мл гентамицина сульфата (Дальхимфарм, Россия), 2 мМ L-глутамин (ICN, США) и 15 % FCS (фетальная телячья сыворотка; Hyclone, США) при 37 °С в атмосфере 5% CO₂. Через

48 часов неприкрепленные к пластику клетки удаляли, а прилипающую фракцию клеток культивировали до получения конфлюэнтного монослоя. Снятие КМ-ММСК при пассировании осуществляли с использованием 0,25% раствора трипсина/0,02% раствора ЭДТА. В экспериментах использовали КМ-ММСК от 2-4 пассажа. Кондиционную среду от КМ-ММСК собирали начиная с 7 суток культивирования, разливали по аликвотам и хранили при – 70° С. Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica 6.0, меры центральной тенденции и рассеяния описаны медианой (Me), нижним (Lq) и верхним (Hq) квантилями; достоверность различия рассчитывалась по U-критерию Манна-Уитни, и принималась при значениях p < 0,05 [1].

Результаты исследования и их обсуждение

Так как некротизированный миокард не участвует в возбуждении, поэтому на ЭКГ, зарегистрированных в отведениях с положительным электродом над зоной некроза, выявляется, прежде всего, нарушение процесса деполяризации желудочков – изменения комплекса QRS, характер которых зависит от глубины и локализации поражения миокарда. Как видно из таблицы 1, статистически значимые изменения в комплексе QRS_I выявляются спустя 7 суток после индукции ИМ и сохраняются на 30 сутки эксперимента.

Таблица 1

Изменение значений комплекса QRS при экспериментальном инфаркте миокарда у крыс линии Wistar в динамике (в мм)

Значение комплекса QRS _I до индукции инфаркта миокарда 16,0 (11,0 – 18,0)				
Значение комплекса QRS _I после индукции инфаркта миокарда				
через 30 мин	через 2 ч	через 48 ч	через 168 ч	через 720 ч
11,5 (6,0–14,0)	11,0 (9,0–12,0)	6,5 (5,0–16,0)	9,0 (7,5–11,0)*	8,5 (5,0–10,0)*
Значение комплекса QRS _{II} до индукции инфаркта миокарда 18,0 (16,0 – 19,0)				
Значение комплекса QRS _{II} после индукции инфаркта миокарда				
через 30 мин	через 2 ч	через 48 ч	через 168 ч	через 720 ч
11,5 (9,0–13,5)*	11,0 (11,0–12,0)*	12,5 (11,0–16,0)*	12,0 (8,5–14,0)*	14,0 (8,5–18,0)
Значение комплекса QRS _{III} до индукции инфаркта миокарда 4,0 (2,0 – 8,5)				
Значение комплекса QRS _{III} после индукции инфаркта миокарда				
через 30 мин	через 2 ч	через 48 ч	через 168 ч	через 720 ч
4,0 (1,0–8,0)	2,5 (-0,5–5,0)	5,0 (-2,0–6,5)	3,0 (2,0–4,0)	6,0 (0,5–8,0)
Значение комплекса QRS _{aVR} до индукции инфаркта миокарда -16,0 (- 18,0 – -13,5)				
Значение комплекса QRS _{aVR} после индукции инфаркта миокарда				
через 30 мин	через 2 ч	через 48 ч	через 168 ч	через 720 ч
4,5 (-2,0–7,5)	4,0 (-1,0–8,0)	-2,0 (-2,5–11,0)	4,0 (1,5-7,5)	2,5 (-5,5 – 6,5)
Значение комплекса QRS _{aVI} до индукции инфаркта миокарда 8,0 (2,5 – 11,0)				
Значение комплекса QRS _{aVI} после индукции инфаркта миокарда				
через 30 мин	через 2 ч	через 48 ч	через 168 ч	через 720 ч
4,5 (-2,0–7,5)	4,0 (-1,0–8,0)	-2,0 (-2,5–11,0)	4,0 (1,5–7,5)	2,5 (-5,5–6,5)
Значение комплекса QRS _{aVF} до индукции инфаркта миокарда 12,0 (10,5 – 12,0)				
Значение комплекса QRS _{aVF} после индукции инфаркта миокарда				
через 30 мин	через 2 ч	через 48 ч	через 168 ч	через 720 ч
7,0 (6,5 – 10,5)*	6,5 (6,0 – 8,0)*	9,5 (4,5 – 10,5)*	7,0 (4,5 – 10,0)*	9,5 (6,0 – 15,0)

Примечание. * – достоверность различия со значением до индукции инфаркта миокарда p < 0,05.

Статистически значимое уменьшение ширины комплекса QRS_{II} выявляются через 30 минут после индукции ИМ и сохраняются до 7 суток наблюдения. Нами не выявлено статистически значимых изменений комплекса QRS_{III} на всех сроках эксперимента. Что касается изменения комплекса QRS в усиленных отведениях, то в aVR на ранних сроках наблюдения отмечено статистически значимое уменьшение ширины комплекса QRS. Не выявлено статистически значимых изменений ширины комплекса QRS в отведение aVL. В тоже время, в отведение aVF выявлено статистически значимое уменьшение ширины комплекса QRS с момента индукции ИМ по 7 сутки включительно.

Таким образом, по изменению комплекса QRS на различные сроки наблюдения

видно, что после перевязки коронарной артерии у крыс линии Wistar развиваются некротические процессы в миокарде, которые с учетом локализации и возможной глубины были зарегистрированы на ЭКГ.

Известно, что основными признаками ишемии миокарда у человека по данным ЭКГ является изменения полярности, амплитуды и формы зубца Т, а также положения сегмента RS-T, которые зависят от локализации зоны ишемии миокарда по отношению к полюсам регистрируемого отведения. Через 30 минут после индукции ИМ в I стандартном отведение выявлено статистически значимое увеличение высоты зубца Т, которое при последующих измерениях начиная со 2 суток и до конца эксперимента сменилось статистически значимым снижением высоты зуба Т ниже изолинии (табл. 2).

Таблица 2

Изменение значений зубца Т при экспериментальном инфаркте миокарда у крыс линии Wistar в динамике (в мм)

Значение зубца T _I до индукции инфаркта миокарда 1,5 (1,0 – 3,0)				
Значение зубца T _I после индукции инфаркта миокарда				
через 30 мин	через 2 ч	через 48 ч	через 168 ч	через 720 ч
3,0 (3,0 – 6,5)*	3,5 (1,5 – 5,0)	-2,5 (-3,0 – -1,5)*	-1,5 (-3,0 – 3,5)*	-1,0 (-2,0 – -0,5)*
Значение зубца T _{II} до индукции инфаркта миокарда 4,0 (3,5 – 5,0)				
Значение зубца T _{II} после индукции инфаркта миокарда				
через 30 мин	через 2 ч	через 48 ч	через 168 ч	через 720 ч
5,5 (3,0 – 7,0) ^{s,^}	3,0 (2,0 – 4,0) ^s	-1,0 (-2,0 – 3,0)*	2,0 (1,5 – 14,0)*	3,0 (1,5 – 4,0)*
Значение зубца T _{III} до индукции инфаркта миокарда 2,5 (2,0 – 3,0)				
Значение зубца T _{III} после индукции инфаркта миокарда				
через 30 мин	через 2 ч	через 48 ч	через 168 ч	через 720 ч
2,0 (1,5 – 3,0)	1,5 (1,0 – 2,5) ^{*,^,&}	2,5 (1,0 – 3,0)	3,0 (2,0 – 4,0)	3,5 (2,0 – 5,0)
Значение зубца T _{aVR} до индукции инфаркта миокарда -3,0 (-3,5 – -2,5)				
Значение зубца T _{aVR} после индукции инфаркта миокарда				
через 30 мин	через 2 ч	через 48 ч	через 168 ч	через 720 ч
-5,0 (-6,0 – -2,5) ^{s,^,&}	-3,0 (-4,5 – 1,5)	1,5 (-2,5 – 2,5)*	-0,5 (-2,0 – 1,5)*	-0,5 (-1,5 – 0,5)*
Значение зубца T _{aVL} до индукции инфаркта миокарда -0,5 (-1,5 – 0,5)				
Значение зубца T _{aVL} после индукции инфаркта миокарда				
через 30 мин	через 2 ч	через 48 ч	через 168 ч	через 720 ч
1,5 (0,5 – 3,0) ^{*,s,^,&}	2,0 (1,0 – 4,0) ^{*,s,^,&}	-2,5 (-3,0 – -1,5)	-3,0 (-5 – -1,0)*	-3,0 (-3,0 – -2,0)*
Значение зубца T _{aVF} до индукции инфаркта миокарда 3,5 (3,0 – 3,5)				
Значение зубца T _{aVF} после индукции инфаркта миокарда				
через 30 мин	через 2 ч	через 48 ч	через 168 ч	через 720 ч
3,5 (3,0 – 5,0) ^{#,s}	2,5 (1,5 – 3,0)*	1,0 (0,5 – 2,0) ^{*,^,&}	3,0 (2,5 – 3,5)	3,0 (1,5 – 4,0)

Примечание. * – достоверность различия со значением до индукции инфаркта миокарда $p < 0,05$; # – достоверность различия со значением через 2 часа после индукции инфаркта миокарда $p < 0,05$; \$ – достоверность различия со значением через 48 часов после индукции инфаркта миокарда $p < 0,05$; ^ – достоверность различия со значением через 168 часов после индукции инфаркта миокарда $p < 0,05$; & – достоверность различия со значением через 720 часов после индукции инфаркта миокарда $p < 0,05$.

По данным мониторинга зубца Т во II стандартном отведение также выявлены статистически значимые изменения высоты и направленности его по отношению к изолинии на всех точках эксперимента. Что же касается изменений значений зубца Т в III отведение, то нами выявлено статисти-

чески значимое снижение высоты только через 2 часа после индукции ИМ, а в остальных точках эксперимента не выявлено статистически значимых различий. В aVR зубец Т на ранних сроках мониторинга за развитием ИМ выявил статистически значимое снижение ниже изолинии, которое на поздних точках

эксперимента сменяется тенденцией к повышению зубца Т над изолинией. Статистически значимое снижение от изолинии зубца Т выявлено через 30 минут от индукции ИМ у крыс в отведение aVL, которое меняется ее возвышением над изолинией через 2 часа и на поздних сроках опять отмечено снижение ниже изолинии. Также показано статистически значимое снижение зубца Т в отведение aVF через 30 минут от момента индукции ИМ с последующим постепенным подъемом его над изолинией в ранние сроки эксперимента.

Таким образом, на основании изменения высоты и направленности зубца Т можно судить о формировании зоны некроза

миокарда, которое зависит от локализации и глубины ишемии миокарда.

Далее нами проведен анализ изменений ИМ с учетом типа проводимой терапии. Как видно из табл. 3, статистически значимые различия по ширине желудочкового комплекса QRS выявлены статистически значимые различия на различные сроки эксперимента и между различными группами животных с учетом вида проводимой терапии. В большинстве своем эти различия выявлены для групп, получивших терапию интрамиокардиальным введением либо КМ-ММСК, либо кондиционной среды от КМ-ММСК, как в стандартных, так и в усиленных отведениях.

Таблица 3

Эффективность терапии клеточным продуктом экспериментального инфаркта миокарда у крыс линии Wistar по данным комплекса QRS (в мм)

Параметры	через 30 мин	через 2 ч	через 48 ч	через 168 ч	через 720 ч
QRS _I					
ИМ	11,5 (8,0 – 15,0)	11,0 (10,0 – 12,0)	10,5 (6,0 – 15,0)	9,5 (8,0 – 11,0) [^]	10,0 (10,0 – 10,0) ^{#^}
ИМ+ЗФР	6,0 (-2,0 – 14,0)	6,25 (-1,0 – 13,5)	10,5 (5,0 – 16,0) [^]	8,75 (7,5 – 10,0) [^]	7,0 (5,5 – 8,5) [^]
ИМ+ КМ-ММСК	9,5 (6,0 – 13,0)	10,0 (9,0 – 11,0)	13,25 (11,0 – 13,0) [^]	13,25 (9,0 – 17,5) [^]	8,5 (3,0 – 14,0)
ИМ+КС	11,5 (11,5 – 11,5)	11,0 (11,0 – 11,0)	-1,5 (-1,5 – -1,5)	3,0 (3,0 – 3,0)	5,0 (5,0 – 5,0)
QRS _{II}					
ИМ	9,5 (8,0 – 11,0) [^]	13,25 (11,0 – 15,5)	15,75 (12,5 – 19,0) [^]	12,25 (10,5 – 14,0) [^]	16,25 (13,0 – 19,5) [^]
ИМ+ЗФР	10,25 (9,0 – 11,5) [^]	11,25 (10,5 – 12,0)	13,75 (11,5 – 16,0) [^]	12,5 (12,0 – 13,0) [^]	16,0 (14,0 – 18,0) [^]
ИМ+ КМ-ММСК	12,5 (11,5 – 13,5) [^]	11,25 (11,0 – 11,5)	12,0 (11,0 – 13,0) [^]	14,0 (8,5 – 19,5) [^]	12,75 (8,5 – 17,0) [^]
ИМ+КС	15,0 (15,0 – 15,0)	11,0 (11,0 – 11,0)	2,5 (2,5 – 3,5)	5,0 (5,0 – 5,0)	4,5 (4,5 – 4,5)
QRS _{III}					
ИМ	-3,0 (-10,0 – 4,0) [^]	-1,5 (-1,5 – 4,5)	4,0 (2,0 – 6,0)	-0,25 (-4,5 – 4,0)	5,5 (5,0 – 6,0) ^{#S}
ИМ+ЗФР	6,5 (1,0 – 12,0)	6,25 (-0,5 – 13,0)	5,5 (-2,0 – 13,0)	5,0 (2,0 – 8,0)	12,0 (8,0 – 16,0) ^S
ИМ+ КМ-ММСК	6,0 (4,0 – 8,0)	3,75 (2,5 – 5,0) [^]	-0,25 (-7,0 – 6,5)	3,25 (3,0 – 3,5) [^]	3,75 (0,5 – 7,0) [^]
ИМ+КС	0,5 (0,5 – 0,5)	-0,5 (-0,5 – -0,5)	5,0 (5,0 – 5,0)	2,0 (2,0 – 2,0)	-1,0 (-1,0 – -1,0)
QRS _{avR}					
ИМ	-10,0 (-10,5 – -9,5) ^{S^}	-11,75 (-13,0 – -10,5)	-11,75 (-15,0 – -8,5) [^]	-11,75 (-14,0 – -9,5) [^]	-12,5 (-14,5 – -10,5) ^{#^}
ИМ+ЗФР	-9,25 (-11,5 – -7,0) [^]	-8,5 (-12,5 – -4,5)	-11,25 (-14,0 – -8,5) [^]	-9,5 (-10,0 – -9,0) [^]	-9,5 (-9,5 – -9,5) [^]
ИМ+ КМ-ММСК	-12,5 (-13,0 – -11,5) [^]	-0,25 (-11,5 – 11,0)	-3,75 (-17,5 – 10,0)	-14,25 (-19,5 – -9,0) [^]	-13,25 (-19,5 – -7,0) [^]
ИМ+КС	13,5 (13,5 – 13,5)	-10,5 (-10,5 – -10,5)	0,5 (0,5 – 0,5)	-3,0 (-3,0 – -3,0)	-5,0 (-5,0 – -5,0)
QRS _{avI}					
ИМ	6,0 (-2,0 – 14,0)	7,5 (4,0 – 11,0) ^S	4,0 (-2,0 – 10,0)	5,5 (1,0 – 10,0)	4,5 (2,5 – 6,5) [#]
ИМ+ЗФР	0,25 (-7,0 – 7,5)	0,0 (-8,0 – 8,0)	2,75 (-5,5 – 11,0)	4,5 (1,5 – 7,5)	-5,5 (-5,5 – -5,5) ^{S^}
ИМ+ КМ-ММСК	3,25 (-0,5 – 7,0)	1,25 (-1,0 – 3,5) [^]	4,25 (-2,5 – 11,0)	5,0 (4,0 – 6,0) [^]	2,75 (-2,5 – 8,0)
ИМ+КС	4,5 (4,5 – 4,5)	8,0 (8,0 – 8,0)	-2,0 (-2,0 – -2,0)	1,5 (1,5 – 1,5)	4,5 (4,5 – 4,5)
QRS _{avF}					
ИМ	4,25 (0,5 – 8,0) [^]	7,0 (6,5 – 7,5) [^]	10,25 (10,0 – 10,5) ^{S^}	7,0 (7,0 – 7,0) ^{#^}	12,0 (9,5 – 14,5) ^{#S^}
ИМ+ЗФР	9,5 (6,5 – 12,5)	8,75 (5,5 – 12,0)	10,75 (8,0 – 13,5) [^]	9,25 (8,5 – 10,0) [^]	15,0 (15,0 – 15,0) ^{S^}
ИМ+ КМ-ММСК	7,0 (7,0 – 7,0) [^]	7,0 (6,0 – 8,0)	7,0 (4,5 – 9,5) [^]	9,25 (4,0 – 14,5)	7,0 (6,0 – 8,0) [^]
ИМ+КС	10,5; 10,5 – 10,5	6,0; 6,0 – 6,0	4,0; 4,0 – 4,0	4,5; 4,5 – 4,5	3,0; 3,0 – 3,0

Обозначения: ИМ – инфаркт миокарда, ЗФР – забуференный физиологический раствор, КМ-ММСК – костномозговые мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, КС – кондиционная среда от КМ-ММСК.

Примечание. # – достоверность различий значений с группой, получившей лечение ЗФР p < 0,05; \$ – достоверность различий значений с группой, получившей лечение КМ-ММСК p < 0,05; ^ – достоверность различий значений с группой, получившей лечение КС от КМ-ММСК p < 0,05.

Также нами выявлены статистически значимые различия между группами животных с учетом типа терапии ИМ на различные сроки наблюдения по данным изменения зубца Т, как в стандартных, так и в усиленных отведениях (табл. 4).

Таблица 4
Эффективность терапии клеточным продуктом экспериментального инфаркта миокарда у крыс линии Wistar по данным зубца Т (в мм)

Параметры	через 30 мин	через 2 ч	через 48 ч	через 168 ч	через 720 ч
T_I					
ИМ	4,0 (3,0 – 5,0) [^]	3,0 (2,5 – 3,5) [^]	-1,75 (-2,0 – -1,5) ^{^S}	-2,5 (-3,5 – -1,5)	-1,5 (-2,5 – -0,5)
ИМ+ЗФР	4,25 (3,5 – 7,0) [^]	2,25 (-0,5 – 5,0) [^]	0,25 (-2,5 – 3,0) [^]	1,25 (-3,5 – 1,0)	-0,25 (-1,0 – 0,5) [^]
ИМ+ КМ-ММСК	3,0 (3,0 – 3,0) [^]	3,0 (1,5 – 4,5) [^]	-2,75 (-3,0 – -2,5) [^]	-0,25 (-1,5 – 1,0) [^]	-1,0 (-1,5 – -0,5) [^]
ИМ+КС	11,0 (11,0 – 11,0)	8,0 (8,0 – 8,0)	-4,5 (-4,5 – -4,5)	-2,0 (-2,0 – -2,0)	-2,0 (-2,0 – -2,0)
T_{II}					
ИМ	4,0 (2,5 – 5,5) [^]	2,5 (2,0 – 3,0) [^]	1,25 (-1,0 – 3,5)	2,0 (1,5 – 2,5)	4,0 (4,0 – 4,0) [^]
ИМ+ЗФР	5,25 (3,5 – 7,0) [^]	3,0 (2,0 – 4,0) [^]	0,75 (-1,5 – 3,0)	3,5 (3,5 – 3,5) ^{^#S}	3,25 (3,0 – 3,5) ^{^#}
ИМ+ КМ-ММСК	4,5 (3,0 – 6,0) [^]	2,75 (2,5 – 3,0) [^]	-0,75 (-2,0 – 0,5)	0,5 (-1,0 – 2,0)	0,5 (-1,0 – 2,0) ^{^#}
ИМ+КС	11,5 (11,5 – 11,5)	6,0 (6,0 – 6,0)	-2,0 (-2,0 – -2,0)	2,0 (2,0 – 2,0)	1,5 (1,5 – 1,5)
T_{III}					
ИМ	1,75 (1,5 – 2,0)	2,5 (1,0 – 1,5)	2,5 (1,0 – 4,0) [^]	3,5 (3,0 – 4,0)	5,5 (5,0 – 6,0) [^]
ИМ+ЗФР	1,25 (-0,5 – 3,0)	0,25 (-2,0 – 2,5)	1,0 (-0,5 – 2,5) [^]	3,75 (2,0 – 5,5)	4,0 (3,5 – 4,5) ^{^S}
ИМ+ КМ-ММСК	3,25; (1,5 – 5,0)	2,25 (1,0 – 3,5)	2,25 (1,5 – 3,0)	2,0 (1,5 – 2,5) [^]	2,0 (2,0 – 2,0) [^]
ИМ+КС	2,0 (2,0 – 2,0)	1,5 (1,5 – 1,5)	3,0 (3,0 – 3,0)	4,0 (4,0 – 4,0)	3,5 (3,5 – 3,5)
T_{avr}					
ИМ	-3,5 (-5,0 – -2,0) [^]	-2,5 (-3,0 – -2,0) [^]	-0,25 (-2,5 – 2,0) [^]	0,5 (-0,5 – 1,5)	-1,0 (-1,5 – -0,5) [^]
ИМ+ЗФР	-4,5 (-6,0 – -3,0) [^]	-1,5 (-4,5 – 1,5) [^]	-0,75 (-3,5 – 1,5) [^]	-1,25 (-2,0 – -0,5)	-1,75 (-2,0 – -1,5) ^{^S}
ИМ+ КМ-ММСК	-3,75 (-5,0 – -2,5) [^]	0,25 (-3,0 – 3,5) [^]	1,75 (1,0 – 2,5) [^]	-0,25 (-2,0 – 1,5)	0,25 (-0,5 – 1,0)
ИМ+КС	-11,5 (-11,5 – -11,5)	-7,0 (-7,0 – -7,0)	3,5 (3,5 – 3,5)	-0,5 (-0,5 – -0,5)	0,5 (0,5 – 0,5)
T_{avl}					
ИМ	2,25 (1,5 – 3,0) ^{^S}	2,0 (2,0 – 2,0) [^]	-2,25 (-3,0 – -1,5)	-3,25 (-3,5 – -3,0)	-4,0 (-5,0 – -3,0)
ИМ+ЗФР	1,0 (-1,0 – 3,0) [^]	1,5 (-1,0 – 4,0) [^]	-0,25 (-2,5 – 2,0) [^]	-2,75 (-5,0 – -0,5) ^{^S}	-2,75 (-3,0 – -2,5) ^{^S}
ИМ+ КМ-ММСК	0,5 (0,5 – 0,5) [^]	2,0 (1,0 – 3,0) [^]	-2,5 (-3,0 – -2,0)	-1,25 (-1,5 – -1,0) [^]	-2,0 (-2,0 – -2,0) [^]
ИМ+КС	5,5 (5,5 – 5,5)	5,5 (5,5 – 5,5)	-3,0 (-3,0 – -3,0)	-3,0 (-3,0 – -3,0)	-3,0 (-3,0 – -3,0)
T_{ave}					
ИМ	3,25 (3,0 – 3,5) [^]	2,0 (1,5 – 2,5) [^]	2,25 (0,5 – 4,0)	3,0 (2,5 – 3,5)	4,5 (4,0 – 5,0) [^]
ИМ+ЗФР	3,5 (3,5 – 3,5) [^]	1,25 (1,0 – 1,5) ^{^S}	1,0 (0,5 – 1,5)	4,0 (3,0 – 5,0)	3,5 (3,0 – 4,0) ^{^S}
ИМ+ КМ-ММСК	4,0 (3,0 – 5,0) [^]	2,75 (2,5 – 3,0) [^]	0,5 (-1,0 – 2,0)	1,75 (1,0 – 2,5) [^]	1,5 (1,5 – 1,5) [^]
ИМ+КС	6,0 (6,0 – 6,0)	3,5 (3,5 – 3,5)	1,0 (1,0 – 1,0)	3,0 (3,0 – 3,0)	3,0 (3,0 – 3,0)

Обозначения: ИМ – инфаркт миокарда, ЗФР – забуференный физиологический раствор, КМ-ММСК – костномозговые мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, КС – кондиционная среда от КМ-ММСК.

Примечание. * – достоверность различий значений с группой ИМ $p < 0,05$; # – достоверность различий значений с группой, получившей лечение ЗФР $p < 0,05$; \$ – достоверность различий значений с группой, получившей лечение КМ-ММСК $p < 0,05$; ^ – достоверность различий значений с группой, получившей лечение КС от КМ-ММСК $p < 0,05$.

Таким образом, на основании выявленных изменений желудочкового комплекса QRS и зубца Т с учетом проводимой терапии можно отметить, что интрамиокардиальное введение КМ-ММСК или же кондиционной среды от КМ-ММСК способствует уменьшению выраженности некротических процессов в области ишемии миокарда.

Известно, что при инфаркте миокарда возрастает нагрузка на предсердия, которые берут на себя некоторую функцию желудочков, направленную на сохранение цирку-

ляции крови. Результатом такой компенсаторной деятельности предсердий является ремоделирование сердечной деятельности и гипертрофии предсердий.

Как видно из табл. 5, на фоне терапии ИМ интрамиокардиальным введением КМ-ММСК или же кондиционной среды от КМ-ММСК отмечено статистически значимое снижение высоты зубца Р, как в стандартных, так и в усиленных отведениях по сравнению с другими группами животных.

Таблица 5

Эффективность терапии клеточным продуктом экспериментального инфаркта миокарда у крыс линии Wistar по данным зубца Р (в мм)

Параметры	через 30 мин	через 2 ч	через 48 ч	через 168 ч	через 720 ч
P_I					
ИМ	4,0 (3,0 – 5,0) [^]	3,0 (2,5 – 3,5) [^]	-1,75 (-2,0 – -1,5) ^{§,^}	-2,5 (-3,5 – -1,5)	-1,5 (-2,5 – -0,5)
ИМ+ЗФР	4,25 (3,5 – 7,0) [^]	2,25 (-0,5 – 5,0) [^]	0,25 (-2,5 – 3,0) [^]	1,25 (-3,5 – 1,0)	-0,25 (-1,0 – 0,5) [^]
ИМ+ КМ-ММСК	3,0 (3,0 – 3,0) [^]	3,0 (1,5 – 4,5) [^]	-2,75 (-3,0 – -2,5) [^]	-0,25 (-1,5 – 1,0) [^]	-1,0 (-1,5 – -0,5) [^]
ИМ+КС	11,0 (11,0 – 11,0)	8,0 (8,0 – 8,0)	-4,5 (-4,5 – -4,5)	-2,0 (-2,0 – -2,0)	-2,0 (-2,0 – -2,0)
P_{II}					
ИМ	2,0 (2,0 – 2,0) ^{§,^}	2,0 (1,5 – 2,5) [^]	1,25 (0,5 – 2,0)	1,25 (1,0 – 1,5) ^{#,§,^}	1,0 (1,0 – 1,0) ^{#,§}
ИМ+ЗФР	2,5 (2,5 – 2,5) ^{§,^}	1,5 (1,5 – 1,5) [^]	1,75 (1,5 – 2,0)	2,0 (2,0 – 2,0)	2,75 (2,5 – 3,0) ^{§,^}
ИМ+ КМ-ММСК	1,25 (0,5 – 2,0)	1,5 (1,5 – 1,5) [^]	1,5 (1,0 – 2,0)	2,0 (2,0 – 2,0)	1,5 (1,0 – 2,0)
ИМ+КС	0,5 (0,5 – 0,5)	3,0 (3,0 – 3,0)	2,0 (2,0 – 2,0)	2,0 (2,0 – 2,0)	2,0 (2,0 – 2,0)
P_{III}					
ИМ	1,0 (1,0 – 1,0) [^]	0,75 (0,5 – 1,0) [^]	-0,5 (-1,5 – 0,5) [#]	0,25 (-0,5 – 1,0)	0,0 (-0,5 – 0,5) ^{#,§}
ИМ+ЗФР	1,0 (0,5 – 1,5) [^]	1,25 (0,5 – 2,0)	1,0 (1,0 – 1,0) [^]	1,75 (1,5 – 2,0)	2,75 (2,5 – 3,0) ^{§,^}
ИМ+ КМ-ММСК	0,5 (-0,5 – 1,5) [^]	1,25 (1,0 – 1,5) [^]	1,0 (0,5 – 1,5)	1,5 (1,0 – 2,0)	1,0 (0,5 – 1,5)
ИМ+КС	-1,0 (-1,0 – -1,0)	2,0 (2,0 – 2,0)	0,5 (0,5 – 0,5)	1,0 (1,0 – 1,0)	1,0 (1,0 – 1,0)
P_{AVR}					
ИМ	-1,75 (-2,0 – -1,5) ^{§,^}	-1,25 (-1,5 – -1,0) [^]	-1,0 (-1,0 – -1,0) [#]	-1,5 (-1,5 – -1,5) [^]	-0,5 (-0,5 – -0,5) ^{#,§}
ИМ+ЗФР	-1,5 (-1,5 – -1,5) ^{§,^}	-0,75 (-1,0 – -0,5) [^]	-1,24 (-1,5 – -1,0) [^]	-1,5 (-1,5 – -1,5) [^]	-1,5 (-2,0 – -1,0)
ИМ+ КМ-ММСК	-1,25 (-2,0 – -0,5)	-1,25 (-1,5 – -1,0) [^]	-1,0 (1,5 – -1,0) [^]	-1,75 (-2,0 – -1,5) [^]	-1,25 (-2,0 – -0,5)
ИМ+КС	-0,5 (-0,5 – -0,5)	-2,0 (-2,0 – -2,0)	-2,0 (-2,0 – -2,0)	-1,0 (-1,0 – -1,0)	-1,0 (-1,0 – -1,0)
P_{AVL}					
ИМ	0,5 (0,5 – 0,5)	0,5 (0,5 – 0,5)	1,0 (0,5 – 1,5) [#]	0,5 (0,5 – 0,5)	0,75 (0,5 – 1,0) ^{#,§}
ИМ+ЗФР	0,5 (0,5 – 0,5)	0,0 (-0,5 – 0,5)	-0,5 (-0,5 – -0,5) ^{§,^}	-0,5 (-0,5 – -0,5)	-1,5 (-2,0 – -1,0) ^{§,^}
ИМ+ КМ-ММСК	-0,5 (-0,5 – -0,5)	0,0 (-0,5 – 0,5)	0,5 (0,5 – 0,5)	-0,25 (-1,0 – 0,5)	-0,5 (-0,5 – -0,5) [^]
ИМ+КС	1,5 (1,5 – 1,5)	0,5 (0,5 – 0,5)	1,0 (1,0 – 1,0)	0,5 (0,5 – 0,5)	0,5 (0,5 – 0,5)
P_{AVE}					
ИМ	1,75 (1,5 – 2,0) ^{§,^}	1,25 (1,0 – 1,5) [^]	1,0 (0,5 – 1,5)	1,25 (0,5 – 2,0) [#]	0,5 (0,5 – 0,5) ^{#,§,^}
ИМ+ЗФР	1,5 (1,5 – 1,5) ^{§,^}	1,5 (1,0 – 2,0)	1,5 (1,5 – 1,5) [^]	1,75 (1,5 – 2,0) [^]	2,5 (2,0 – 3,0) [^]
ИМ+ КМ-ММСК	-0,5 (-0,5 – -0,5) [^]	0,75 (0,5 – 1,0) [^]	1,0 (0,5 – 1,5)	1,75 (1,5 – 2,0)	1,5 (1,0 – 2,0)
ИМ+КС	-1,5 (-1,5 – -1,5)	2,0 (2,0 – 2,0)	1,0 (1,0 – 1,0)	1,5 (1,5 – 1,5)	1,5 (1,5 – 1,5)

Обозначения: ИМ – инфаркт миокарда, ЗФР – забуференный физиологический раствор, КМ-ММСК – костномозговые мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, КС – кондиционная среда от КМ-ММСК.

Примечание. # – достоверность различий значений с группой, получившей лечение ЗФР p < 0,05; § – достоверность различий значений с группой, получившей лечение КМ-ММСК p < 0,05; ^ – достоверность различий значений с группой, получившей лечение КС от КМ-ММСК p < 0,05.

Следовательно, терапия КМ-ММСК или же кондиционной средой от КМ-ММСК уменьшает нагрузку на предсердия в ходе ремоделирования сердечной деятельности.

Выявленный нами клинический эффект интрамиокардиального введения КМ-ММСК не противоречит имеющимся литературным данным, в которых также отмечается улучшение функционирования сердца после индукции ИМ и терапии стволовыми клетками [7]. В основе улучшения сократительной способности поврежденного миокарда авторы рассматривают неангиогенез в области клеточной трансплантации, обусловленные продукцией ростовых факторов ММСК с одной стороны, а с другой стороны, их способностью дифференцироваться в эндотелиальные клетки, перициты, гладкомышечные клетки и кардиомиоциты. Авторы полагают, что превалирующим является паракринный эффект ММСК. Существенное значение в достижение клинической эффективности клеточной терапии при ИМ является сроки интрамиокардиальной трансплантации стволовых клеток, в том числе и ММСК. Так, в работе авторов [6] показано, что наиболее благоприятным моментом является сохранность локального микроокружения, способствующего приживлению в большинстве своем введенных в зону ишемии стволовых клеток. Клиническая эффективность интрамиокардиальной трансплантации стволовых клеток зависит и от типа вводимых клеток. Так, в работе авторов [4] показано, что трансплантация CD 133+клеток (предшественники эндотелиальных прогениторных клеток) больным с острым ИМ не смотря на отсутствие видимых изменений по данным эхокардиографии, все же отмечено локальное улучшение сократительной способности стенки левого желудочка спустя 6 месяцев после трансплантации клеток, что является обнадеживающим

фактом для применения такого вида терапии у больных с ИМ.

Заключение

Таким образом, исходя из вышеизложенного, очевиден факт, что применение КМ-ММСК и КМ от КМ-ММСК приводит к нормализации биоэлектрической активности миокарда при моделировании острого инфаркта миокарда и сопровождается тенденцией к нормализации параметров ЭКГ к исходным значениям до индукции инфаркта миокарда у экспериментальных животных. Экспериментальные данные указывают на клиническую эффективность не только КМ-ММСК, но и КС от данных клеток, что может быть использовано для клеточной терапии не только хронической сердечной недостаточности, но и при остром инфаркте миокарда в ранних сроках его развития.

Список литературы

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика. – М: Практика. – 1999. – 459 с.
2. Джиджихия К.М., Каде А.Х., Занин С.А. и др. Получение модели крупноочагового инфаркта миокарда в остром эксперименте на крысах // *Фундаментальные исследования*. – 2012. – №4. – С. 270-273.
3. Михайличенко В.Ю., Коноплянко В.А. Электрофизиологическая функция сердца после некоторых вариантов клеточной кардиомиопластики при инфаркте миокарда в эксперименте // *Новоутворения*. – 2010. – № 2. – С. 106-110.
4. Ahmadi H., Moshkani Farahani M., Kouhkan A. et al. Five-year follow-up of the local autologous transplantation of CD133+ enriched bone marrow cells in patients with myocardial infarction // *Arch. Iran Med.* – 2012. – Vol.15. – P. 32 – 35.
5. Cook M.M., Kollar K., Brooke G.P. et al. Cellular therapy for repair of cardiac damage after acute myocardial infarction // *Int. J. Cell Biology*. – 2009. doi:10.1155/2009/906507.
6. Jiang C., Gui C., He A., Hu X. et al. Optimal time for mesenchymal stem cell transplantation in rats with myocardial infarction // *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* – 2008. – Vol. 9. – P. 630-637.
7. Liang J., Huang W., Y.X. et al. Suicide gene reveals the myocardial neovascularization role of mesenchymal stem cells over expressing CXCR4 (MSCCXCR4) // *PLoS ONE*. – 2012. doi:10.1371/journal.pone.0046158.