

О.Ю. Усенко, А.В. Якушев, О.В. Лісун, Т.М. Доманський, В.Ф. Оніщенко

Національний інститут хірургії та трансплантології ім. О.О. Шалімова НАМН України, Київ

Електрофізіологічні особливості змін серцевого ритму в пацієнтів зі зниженою скоротливою здатністю міокарда в найближчий період після трансплантації стовбурових клітин пуповинної крові

Робота базується на матеріалі спостереження за хворими з кардіоміопатіями, яким виконано трансплантацію стовбурових клітин з метою зниження виявів хронічної серцевої недостатності. Всім хворим проводили холтеровське моніторування ЕКГ. Проаналізовано проаритмогенний вплив стовбурових клітин пуповинної крові. При використанні клітинного препарату «Кріоконсервовані стовбурові клітини пуповинної крові людини» не зареєстровано підвищення ризику розвитку небезпечних для життя порушень ритму серця. Враховуючи високу ймовірність наявності субстрату аритмій у цієї категорії хворих, рекомендовано проводити холтеровське моніторування ЕКГ до трансплантації стовбурових клітин та в ранній період після трансплантації. Попередні дані продемонстрували перспективність подальших досліджень.

Ключові слова: пуповинна кров, стовбурові клітини, проаритмогенний вплив, трансплантація, серцева недостатність, лікування.

ОРИГІНАЛЬНІ
ДОСЛІДЖЕННЯ

Через кілька років після проведення перших трансплантацій стовбурових клітин (ТСК) висловлено думку, що трансплантовані стовбурові клітини (СК) можуть чинити певний проаритмогенний ефект. Проаритмогенні ефекти частіше спостерігають у пацієнтів, яким вводили скелетні міобласти (СМ) [2, 3]. Причиною проаритмогенної дії СМ є те, що вони диференціюються в міотубули (незрілі м'язові клітини). Внаслідок цього міотубули не мають електричного зв'язку з кардіоміоцитами (КМЦ), що веде до затримки хвилі збудження та створення умов для формування хвиль ріентрі [9]. Крім того, СМ здатні до автоматизму, що може підвищувати збудливість міокарда в цілому [8]. Спонтанна електрична активність енграфтованих СМ веде до виникнення постдеполяризацій і підвищує ризик виникнення шлуночкових аритмій [7].

Після встановлення проаритмогенних особливостей СМ почалися пошуки більш без-

печних типів СК. При трансплантації мезенхімальних СК у міокард виявили зниження швидкості проведення збудження, що призводило до підвищення частоти виникнення хвиль ріентрі та шлуночкових порушень ритму [4]. Незважаючи на меншу аритмогенність мезенхімальних СК порівняно із СМ, вони все ж таки зумовлювали значний ризик розвитку порушень ритму серця [6].

З розвитком трансплантаційних технологій з'явилася думка, що для того щоб СК були безпечними з точки зору порушень ритму, вони повинні мати програму диференціації в КМЦ. Перспективними з огляду на електрофізіологічну безпечність вважають СК пуповинної крові (ПК), оскільки вони теж можуть виявляти КМЦ-подібний фенотип.

Мета роботи – дослідити проаритмогенний ефект стовбурових клітин пуповинної крові у пацієнтів зі зниженою скоротливою здатністю міокарда.

Матеріали і методи

Робота ґрунтується на аналізі показників добового моніторування ЕКГ у 6 пацієнтів з ішемічною кардіоміопатією, яким з метою поліпшення зниженої скоротливої здатності міокарда виконано ТСК ПК. На момент госпіталізації хворі мали знижену толерантність до фізичного навантаження: у 2 пацієнтів була серцева недостатність (СН) IV функціонального класу за NYHA, у 4 – III функціонального класу, що було підтверджено під час виконання проби з фізичним навантаженням. Середня фракція викиду лівого шлуночка до ТСК становила $(31,5 \pm 16,9) \%$. ТСК проводили згідно з дозволами «Координаційного центру трансплантації органів, тканин та клітин МОЗ України» за наявності інформованої згоди пацієнтів. Холтеровське моніторування (ХМ) ЕКГ здійснювали до ТСК та в короткострокові терміни (1, 3 міс) після трансплантації з метою з'ясування можливого впливу ТСК на функцію збудження і проведення в міокарді та визначення ризику раптової смерті.

ХМ ЕКГ проводили на апараті Microvit-101 Shiller з використанням програмного забезпечення MT200 протягом 24 год із застосуванням трьох модифікованих грудних відведень. Під час процедури хворі вели щоденник активності з записом симптомів, що виникали в процесі дослідження. Першим етапом дешифрування результатів ЕКГ був автоматичний аналіз за алгоритмом дешифратора. Після фільтрації електричного сигналу ідентифікували порушення ритму серця. Під час ХМ ЕКГ оцінювали ектопічну активність: визначали кількість екстрасистол, їх морфологію для оцінки джерела походження, парність, умови виникнення та співвідношення із сусідніми комплексами QRS. Оцінювали варіабельність інтервалів RR, ширини комплексів QRS, сегментів ST та інтервалів QT. Варіабельність серцевого ритму досліджували в режимі часового аналізу з використанням інтегрального підходу [1].

Для лікування СН застосовували клітинний препарат «Кріоконсервована пуповинна кров людини» – кріоконсервовану (-196°C) популяцію СК, виділених із ПК. До складу клітинного препарату входили незрілі гемопоетичні комітовані та зрілі клітини крові. Кількість ядровмісних клітин у введених препаратах становила від $0,89 \cdot 10^9$ до $0,95 \cdot 10^9$, кількість мононуклеарів – від $0,486 \cdot 10^9$ до $0,520 \cdot 10^9$, клітин CD34+ – не менше $1,0 \pm 0,01 \cdot 10^3$. Препарат розводили у 200 мл фізіологічного розчину, підігрітого до кімнатної температури. Суспензію

клітин вводили внутрішньовенно краплинно зі швидкістю 2–3 мл/хв. Моніторування загального стану пацієнта та показників гемодинаміки проводили в умовах реанімації.

Під час аналізу даних використовували методи варіаційної статистики, загальноприйняті для аналогічних досліджень. Результати обробляли з використанням пакета програм Microsoft Office 2010.

В Україні дослідження проаритмогенного впливу СК ПК проводиться вперше в рамках клінічних випробувань клітинного транспланта-ту в пацієнтів із хронічною СН.

Результати та обговорення

Під час ХМ ЕКГ встановлено, що до проведення ТСК усі хворі мали синусовий ритм. Частота скорочень серця (ЧСС) під час синусового ритму становила в середньому $(68,5 \pm 8,3)$ за 1 хв. Водночас при добовому спостереженні відзначено суттєві коливання ЧСС, переважно періоди тахікардії. У 3 (50 %) пацієнтів зареєстровано 3–18 епізодів тахікардії з ЧСС понад 100 за 1 хв. Тривалість періодів тахікардії – $1,1\text{--}86,5$ хв, у середньому $(9,7 \pm 3,2)$ хв. Жодного випадку брадикардії з частотою скорочень до 40 за 1 хв не зареєстровано. Встановлено суттєві коливання тривалості інтервалу RR. Середня мінімальна тривалість інтервалу RR становила 169,3 мс (від 0 до 480 мс), а середня максимальна тривалість – 1794,6 мс (від 1312 до 2600 мс). Така картина може свідчити про дисбаланс вегетативної нервової системи, компенсаторну гіперактивацію симпатoadреналової та ренін-ангіотензин-альдостеронової систем і електrolітні порушення внаслідок декомпенсації СН.

У результаті ХМ ЕКГ у всіх хворих виявлено шлуночкові екстрасистолі (ШЕ). Їх середня кількість становила $(0,43 \pm 0,12) \%$ ($0,01\text{--}1,14 \%$) від загальної кількості комплексів QRS. У 3 (50 %) пацієнтів зареєстровано політопні парні ШЕ, зокрема під час епізодів тахікардії (V клас за Lown – Wolf), у 2 (33,3 %) – монотопні парні ШЕ з частотою $0,001\text{--}0,013 \%$ від загальної кількості комплексів QRS, що відповідає IVa класу за Lown – Wolf. У 1 (16,7 %) пацієнта кількість ШЕ становила $< 0,01 \%$, небезпечних для життя форм екстрасистол не було.

Під час ХМ ЕКГ у 3 (50 %) пацієнтів зареєстровано суправентрикулярні екстрасистолі (СВЕ) з частотою $0,05\text{--}0,2 \%$ від кількості всіх комплексів QRS. У одного з цих трьох пацієнтів під час ХМ ЕКГ виявлено нестійкий пароксизм суправентрикулярної тахікардії з ЧСС 100–150 за 1 хв з тривалістю 1,2–5,2 с. СВЕ та парок-

сизми суправентрикулярної тахікардії були клінічно незначущими. У решті (50 %) спостережень кількість СВЕ не перевищувала 0,01 % від загальної кількості комплексів QRS. Порушень провідності та епізодів фібриляції передсердь не виявлено.

Така картина може свідчити про значні метаболічні й електролітні порушення в міокарді та провідній системі серця внаслідок СН. Також відомо, що шлуночкова екстрасистолія високих градацій (III–V класу за Lown – Wolf) є фактором ризику раптової смерті аритмічного генезу [5], отже 83,3 % хворих належали до групи ризику. Як антиаритмічне лікування хворим зі шлуночковою екстрасистолією IVa–V класу за Lown – Wolf призначали аміодарон у дозі 400–600 мг/добу *per os*.

До ТСК у 50 % хворих виявлено депресію сегмента ST (критерій – $ST > 1$ мм). Зниження сегмента ST становило у середньому 3,8 мм (від –1,5 до –4,8 мм). Депресію сегмента ST до 1,5 мм та інверсію зубця Т в I модифікованому відведенні (відповідає V5–V6) виявлено у двох хворих переважно в нічний та ранковий період, загальний час депресії ST становив близько 8,5 год для кожного пацієнта. Таке зниження сегмента ST може свідчити про ушкодження субендокардіальних КМЦ, вірогідніше ішемічного генезу, що відповідає перебігу (наявності) первинного захворювання серця.

Таким чином, ЕКГ у пацієнтів до ТСК характеризувалася помірними порушеннями збудження, проведення та метаболізму в міокарді. Картина була типовою для пацієнтів із хронічним ураженням серця, що супроводжується зниженою скоротливою здатністю міокарда та хронічною СН. До ТСК 83,3 % пацієнтів мали ризик раптової аритмогенної смерті через наявність екстрасистолії високих градацій (клас III–V за Lown – Wolf).

З метою лікування вираженої СН усім хворим вводили клітинний препарат «Кріоконсервована пуповинна кров людини». Через 1 та 3 міс після ТСК у всіх хворих основним ритмом був синусовий. Через 1 міс після ТСК середня добова ЧСС становила 70 за 1 хв. У жодного хворого не зареєстровано епізодів брадикардії з ЧСС > 40 за 1 хв. У всіх хворих відзначено епізоди тахікардії з ЧСС > 100 за 1 хв. У 33,3 % хворих виявлено 3 епізоди тахікардії з максимальною тривалістю 5,8 хв, у 33,3 % пацієнтів – 12 епізодів тахікардії з максимальною тривалістю 19,5 хв, ще у 33,3 % реципієнтів СК – 4 епізоди з максимальною тривалістю 3,8 хв. Середня тривалість тахікардії становила 580,3 с (228–1160 с). У всіх пацієнтів реєстрували поодинокі паузи понад 1,5 с. Через

3 міс після ТСК середня добова ЧСС становила 59 за 1 хв (від 51 до 67). У хворих не зареєстровано епізодів брадикардії з ЧСС < 40 за 1 хв. Епізоди тахікардії відзначено у всіх хворих: у 50 % реципієнтів СК – 12 епізодів з максимальним періодом 3,6 хв, у інших 50 % – 6 епізодів з максимальним періодом 17,2 хв. Середня тривалість тахікардії становила 629 с (від 216 до 1042 с). У 50 % хворих зареєстровано паузи більше 1,5 с.

Отже, в короткостроковий період спостереження (1 і 3 міс) після ТСК основним ритмом серця у пацієнтів залишався синусовий. Середня ЧСС та мінімальна середня ЧСС не змінювалися протягом усього періоду спостереження. Максимальна середня ЧСС через 1 міс зменшилася на 7,5 % відносно початкового показника і залишалася незмінною через 3 міс після ТСК. Епізодів брадикардії з ЧСС < 40 за 1 хв не зареєстровано. Протягом короткострокового періоду спостереження у всіх хворих реєстрували епізоди тахікардії з ЧСС > 100 за 1 хв. Проте через 1 міс кількість епізодів тахікардії значно зменшилася і залишалася на такому рівні до кінця спостереження. Середній період тахікардії за перший місяць після ТСК зменшився на 60 %, проте через 3 міс становив 56,7 % від базового рівня. Паузи понад 1,5 с через 3 міс реєстрували у меншій кількості пацієнтів, ніж до ТСК.

Шлуночкову екстрасистолію через 1 та через 3 міс після ТСК виявлено у всіх хворих. Через 1 міс у 33,3 % реципієнтів СК зареєстрували 491 ШЕ (0,6 % загальної кількості QRS), серед яких були групові та парні екстрасистолі. Крім того, спостерігали епізоди шлуночкової тахікардії (ШТ) з максимальною ЧСС 261 за 1 хв і тривалістю 16 с, що відповідало IVb класу за Lown – Wolf. Ще у 33,3 % пацієнтів було відзначено 324 ШЕ, що становило 0,3 % від загальної кількості QRS. Серед них реєстрували парні ШЕ, що відповідали IVa класу за Lown – Wolf. У останніх 33,3 % хворих було зареєстровано лише 5 поодиноких ШЕ за 24 год, що є незначущим.

Через 3 міс після ТСК у 50 % хворих виявлено 240 ШЕ, що становило 0,2 % від усіх комплексів QRS. 15 ШЕ були парними, а також зареєстровано короткий пароксизм ШТ із ЧСС 130 за 1 хв та тривалістю 1,9 с, що відповідало IVb класу за Lown – Wolf. У інших 50 % хворих було зареєстровано 891 поодинокі ШЕ (0,9 % усіх комплексів QRS), II клас за Lown – Wolf.

Таким чином, після ТСК у всіх хворих зареєстровано шлуночкову екстрасистолію. Проте загальна кількість екстрасистол за 1 міс змен-

Таблиця

Показники ЕКГ у хворих із СН до та після трансплантації стовбурових клітин пуповинної крові

Показник	До ТСК	Через 1 міс	Через 3 міс
Основний ритм	Синусовий	Синусовий	Синусовий
Середня ЧСС за 1 хв	68,5	70	59
Середня тривалість періодів тахікардії, хв	9,7	9,6	10,5
Частка хворих із ШТ, %	0	33,3	50
Максимальна тривалість епізоду ШТ, с	0	16	1,9
ШЕ, частка від усіх комплексів QRS за добу	0,43 %	0,45 %	0,55 %
Клас ШЕ за Lown – Wolf	50 % – V 33,3 % – IVa 16,3 % – I	33,3 % – IVb 33,3 % – IVa 33,3 % – I	50 % – IVb 50 % – II
Частка пацієнтів зі зниженням ST > 1 мм	50 %	33,3 %	50 %

шилася на 55 %, а за 3 міс – на 73 % порівняно з вихідним станом, що, ймовірно, пов'язано зі своєчасним проведенням антиаритмічної терапії аміодароном та активацією процесів регенерації в міокарді. За час спостереження середня кількість полі- та мономорфних парних екстрасистол і епізодів ШТ зменшилася, що в цілому призвело до зменшення середнього класу ШЕ з IVb до III класу за Lown – Wolf (таблиця).

СВЕ через 1 міс після ТСК реєстрували у всіх хворих. Проте у 66,6 % хворих СВЕ були безсимптомними, кількість їх була незначною і становила менше 0,1 % усіх комплексів QRS. У 33,3 % реципієнтів СК було зареєстровано 735 поодиноких екстрасистол, що становило 0,8 % усіх комплексів QRS. Епізодів суправентрикулярної тахікардії або фібриляції передсердь у жодного хворого не виявлено. Через 3 міс після ТСК у всіх хворих реєстрували поодинокі СВЕ, проте їх кількість була значно менше 0,1 % від усіх комплексів QRS. Жодного епізоду суправентрикулярної тахікардії або фібриляції передсердь не виявлено.

Отже, суправентрикулярну екстрасистолію реєстрували у всіх хворих протягом усього періоду спостереження. До ТСК у всіх хворих відзначено епізоди суправентрикулярної тахікардії. Проте вже через 1 міс після ТСК СВЕ виникали значно рідше, а через 3 міс їхня кількість була незначною щодо загальної кількості комплексів QRS. Епізодів суправентрикулярної тахікардії через 1 та 3 міс після ТСК не зареєстровано. Епізодів фібриляції передсердь або шлуночків до та після ТСК не було.

Депресію сегмента ST (з використанням критерію ST > 2,0 мм) відзначали переважно в нічний та ранковий час, через 1 міс після ТСК – тільки у 33,3 % хворих з максимальним значенням –4 мм, а через 3 міс – у 50 % хворих з максимальним значенням –5,1 мм.

Результати дослідження показали, що ТСК ПК крові не спричиняла проаритмогенної дії у пацієнтів із СН у короткострокові терміни спостереження.

Висновки

Холтерівське моніторування електрокардіограми у пацієнтів з вираженою серцевою недостатністю засвідчило, що 83,3 % із них мають високий ризик раптової аритмогенної смерті внаслідок наявності шлуночкових екстрасистол високих градацій (III–V класу за Lown – Wolf). Це може бути наслідком метаболічних та структурних змін у міокарді під впливом первинного захворювання серця. Через 1 та 3 міс після трансплантації стовбурових клітин пуповинної крові ризик раптової аритмогенної смерті не збільшився, загальна кількість суправентрикулярних екстрасистол була клінічно незначущою, а зміна їх кількості несуттєвою.

Зазначена категорія пацієнтів потребує контролю порушеної функції збудження та проведення, тому вважаємо доцільним ввести у план спостереження за хворими холтерівське моніторування електрокардіограми з метою своєчасного виявлення порушень ритму.

У пацієнтів зі зниженою скоротливою здатністю міокарда після трансплантації стовбурових клітин пуповинної крові (введених внутрішньовенно в дозі: ядромісних клітин – від $0,89 \cdot 10^9$ до $0,95 \cdot 10^9$, моноклеарів – від $0,486 \cdot 10^9$ до $0,520 \cdot 10^9$, CD 34+ клітин не менше $1,00 \pm 0,01 \cdot 10^3$) не виявлено підвищення аритмогенної активності в міокарді. Негативних наслідків трансплантації стовбурових клітин не зареєстровано, що може свідчити про електрофізіологічну безпечність цього класу стовбурових клітин.

Література

1. Макаров Л.М. Особенности использования вариабельности ритма сердца у больных с болезнями сердца // Физиология человека.– 2002.– Т. 28, № 3.– С. 65–68.
2. Bartunek J., Vanderheyden M., Vandeckerckhove B. et al. Intracoronary injection of CD133-positive enriched bone marrow progenitor cells promotes cardiac recovery after recent myocardial infarction: feasibility and safety // Circulation.– 2005.– Vol. 112, Suppl. I.– P. I-178–II-83.
3. Britten M. B., Abolmaali N.D., Assmus B. et al. Infarct remodeling after intracoronary progenitor cell treatment in patients with acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI): mechanistic insights from serial contrast-enhanced magnetic resonance imaging // Circulation.– 2003.– Vol. 108.– P. 2212–2218.
4. Chang M.G., Tung L., Sekar R.B. et al. Proarrhythmic potential of mesenchymal stem cell transplantation revealed in an in vitro coculture model // Circulation.– 2006.– Vol. 113.– P. 1832–1841.
5. Dabrowski A., Dabrowski B., Piotrowicz R. Суточное мониторирование ЭКГ.– М.: Медпрактика, 2000.– С. 76–85.
6. Gutstein D.E., Morley G.E., Tamaddon H. et al. Conduction slowing and sudden arrhythmic death in mice with cardiac-restricted inactivation of connexin43 // Circ. Res.– 2001.– Vol. 88.– P. 333–339.
7. Kolettis T.M. Arrhythmogenesis after cell transplantation post-myocardial infarction: four burning questions and some answers // Cardiovasc. Res.– 2006.– Vol. 69.– P. 299–301.
8. Makkar R.R., Lill M., Chen P.S. Stem cell therapy for myocardial repair: is it arrhythmogenic? // J. Am. Coll. Cardiol.– 2003 – Vol. 42.– P. 2070–2072.
9. Rubart M., Soonpaa M.H., Nakajima H., Field L.J. Spontaneous and evoked intracellular calcium transients in donor-derived myocytes following intracardiac myoblast transplantation // J. Clin. Invest.– 2004.– Vol. 114.– P. 775–783.

А.Ю. Усенко, А.В. Якушев, О.В. Лисун, Т.Н. Доманский, В.Ф. Онищенко

Национальный институт хирургии и трансплантологии им. А.А. Шалимова НАМН Украины, Киев

Электрофизиологические особенности изменений ритма сердца у пациентов со сниженной сократительной способностью миокарда в ближайший период после трансплантации стволовых клеток пуповинной крови

Работа основана на материале наблюдения за больными с кардиомиопатиями, которым выполнена трансплантация стволовых клеток с целью снижения проявлений хронической сердечной недостаточности. Всем больным проводили холтеровское мониторирование ЭКГ. Осуществлен анализ проаритмогенного влияния стволовых клеток пуповинной крови. При использовании клеточного препарата «Криоконсервированные стволовые клетки пуповинной крови человека» не зарегистрировано повышения риска развития опасных для жизни нарушений ритма сердца. Учитывая высокую вероятность наличия субстрата аритмий у данной категории больных, рекомендуется проводить холтеровское мониторирование ЭКГ до трансплантации стволовых клеток и в ранний период после трансплантации. Предварительные данные показали перспективность дальнейших исследований.

Ключевые слова: пуповинная кровь, стволовые клетки, проаритмогенный эффект, трансплантация, сердечная недостаточность, лечение.

O.Yu. Usenko, A.V. Yakushev, O.V. Lisun, T.M. Domanskiy, V.F. Onishchenko

O.O. Shalimov National Institute of Surgery and Transplantology by of NAMS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Electrophysiological features of cardiac rhythm changes in patients with decreased myocardial contractility after cord blood stem cell transplantation during short-term follow-up

This work is based on the material of monitoring of patients with cardiomyopathy, who underwent a stem cell transplantation (SCT) to reduce manifestations of chronic heart failure (CHF). According to the protocol examination, all patients underwent 24-hour Holter – ECG. In this work we have analyzed the proarrhythmogenic effect of the cord blood stem cells. We have demonstrated that administration of cell preparation «Cryopreserved human cord blood cells» didn't increased risk of life-threatening arrhythmias. Considering high probability of having substrate of arrhythmias in patients with CHF, Holter ECG monitoring has been recommended before SCT and in the early post-transplantation period.

Key words: cord blood, stem cells, proarrhythmogenic effect, transplantation, heart failure, treatment.