

## КЛЕТОЧНАЯ ТЕРАПИЯ В ЛЕЧЕНИИ ДИСТАЛЬНОЙ ФОРМЫ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛИТЕРИРУЮЩЕГО ЗАБОЛЕВАНИЯ АРТЕРИИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

*С. Е. Турсынбаев, Н. Ж. Аманкелдин*

Алматинский государственный институт усовершенствования врачей

### АННОТАЦИЯ

В статье приведен обзор современных литературных данных о применении клеточной терапии, то есть стимуляции неоангиогенеза при хронических облитерирующих заболеваниях артерии нижних конечностей. Несмотря на прогресс в сосудистой хирургии, лечение больных дистальным поражением хронических облитерирующих заболеваний артерии нижних конечностей представляет сложную задачу, так как произвести реконструктивно-восстановительные операции остается актуальной проблемой и во многих случаях консервативная терапия оказывается исчерпанной.

**Ключевые слова:** атеросклероз, неоангиогенез, дистальное поражение хронических облитерирующих заболеваний артерии нижних конечностей

Дистальное поражение при хронических облитерирующих заболеваниях артерии нижних конечностей (ХОЗАНК) является одним из актуальных проблем XXI века, так как оно приобретает хроническое течение, вследствие чего приводит к частой потере конечности, последующий к инвалидизации, вплоть до летальных исходов. Облитерирующий атеросклероз является основной причиной приводящий к ХОЗАНК – 75-80%. У 2,6-6,7% больных встречается периферическая форма аortoартериита и облитерирующего тромбангиита. Сахарный диабет встречается в 1,5-6% случаях. Причем клиническое течение ХОЗАНК во многом обусловлено от тяжести сопутствующих сердечнососудистых заболеваний [1].

Облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей (ОААНК) является одним из частых проявлений генерализованного атеросклероза, встречается у 2-3% населения и составляет 20% от всех сердечнососудистых заболеваниях. После появления первых симптомов ОААНК, у 10-40% больных в течение 3-5 лет развивается гангрена, что приводит к ампутации конечности. Даже при лечении пациентов в условиях специализированного стационара количество ампутаций достигает 10-20%, а летальность – 15%

У большинства больных оперативное вмешательство выполняется только при запущенных стадиях ОААНК. Это связано с риском реконструктивно-восстановительных операций и известными осложнениями. Так же надо отметить, что у многих пациентов с ишемией ИБ стадией заболевание носит стабильный характер, консервативное лечение оказывает эффект на определенное время, что приводит к прогрессированию атеросклероза. [1, 2]. Но даже в случае своевременной диагностики прогрессирующего течения у ряда пациентов невозможно выполнить реконструктивно-восстановительную операцию на магистральных артериях в связи с многоуровневым характером поражения или отсутствием воспринимающего русла. Использование способов не прямой реваскуляризации расширило возможности помощи этим больным, однако, результаты таких вмешательств не всегда удовлетворительные [2].

По мнению большинства ученых, успешное лечение дистальных форм ХОЗАНК можно с помощью клеточной терапии, которая способствует стимуляцию новых коллатералей кровеносных сосудов, идущих в обход поврежденных, а также улучшают проходимость патологически изменённых артерий в тех местах, где образовались атеросклеротические бляшки. Прикрепляясь к внутренней оболочке сосудов, имплантированные клетки дают рост новой здоровой ткани, постепенно вытесняя атеросклеротические наложения и фиброзную ткань. Всё это хорошо сказывается на состоянии органов, недополучавших вследствие сужения артерий кислород и питательные вещества.

Для процедуры, как правило, используются аутогенные стволовые клетки, полученные из красного костного мозга пациента. Не исключена также возможность применения материала пуповинной крови близкого родственника.

Клинический эффект развивается постепенно, по мере восстановления адекватного кровотока. Клеточная терапия обещает стать эффективным и безопасным методом борьбы с атеросклерозом, способным не только лечить данную патологию, но и предупреждать её развитие [4, 5, 6, 7].

Именно поэтому в настоящее время изобретены новые методы стимуляции неоангиогенеза: неоангиогенез, индуцированный действием высокоинтенсивного лазерного излучения; метод внутритканевого введения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами; применения аутологичных стволовых клеток периферической крови у пациентов с хронической артериальной недостаточностью нижних конечностей; стимуляция неоангиогенеза аутологичными прогениторными клетками костного мозга, а так же стимуляция ангиогенеза препаратом неоваскулген на основе человеческого гена VEGF165

Неоангиогенез, индуцированный действием высокоинтенсивного лазерного излучения [3]. Экспериментальная работа была проведена на 29 собаках. На 24 собаках моделировали хроническую ишемию одной из конечности путем лигирования поверхностной бедренной артерии на всем протяжении. Ишемия конечности подтверждалась клинически и диагностическим методом обследования.

В первой группе (19 собак) на ишемизированной конечности проводили туннелизацию мышц бедра и перфорацию кости в диафизе и метафизе высокоинтенсивным лазерным излучением (Nd: YAG лазер). Вторая группа из 5 собак служила контролем для изучения реакции на ишемию.

К 60-м суткам после лазерного воздействия отмечалась значительная разница в контрольной и экспериментальной группах: в опытной группе при ангиографическом исследовании количество сосудов в зоне лигированной бедренной артерии оказалось значительно большим. При микроскопическом исследовании определялись васкуляризированные рубцы с артериями мышечного типа, наблюдалась активная пролиферация эндотелиоцитов, формировалось новое сосудистое русло.

Метод внутритканевого введения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами [4]. Впервые данный метод использовался в Республиканском кардиологическом центре г. Чебоксары, Россия. За период с 1998 г по 2007 г. было проведено 28 операций по данному методу. У части больных операции проводились несколько раз на одной и той же конечности. Всем больным, к которым проводилась исследования, проводить реконструктивные операции были невозможны по разным причинам.

Исследование проводили до и через 4-6 месяцев после стимуляции неоангиогенеза. При сроке наблюдения до 3 лет было отмечено, что из 19 пациентов лишь у 2 проходимость расстояния не увеличилось. У 17 (82,6%) больных оно увеличилось более, чем в 2 раза. При повторной оценке лодыжечно-плечевого индекса через 4-6 месяцев после проведения стимуляции, отмечалось увеличение данного показателя на  $0,38 \pm 0,07$ .

Применения аутологичных стволовых клеток периферической крови у пациентов с хронической артериальной недостаточностью нижних конечностей [5]. Данный метод использовался у пациентов с хроническими облитерирующими заболеваниями нижних конечностей II Б степени (по Фонтейну-Покровскому). Оценка результатов лечения в сроки наблюдения 3 и 6 месяцев показала достоверное увеличение лодыжечно-плечевого индекса, улучшение показателей по результатам тредмил-теста (дистанция безболевой ходьбы исходно –  $102,2 \pm 11,55$  м., через 3 месяца –  $129,4 \pm 11,13$  м. ( $p < 0,001$ ), после 6 месяцев –  $140,3 \pm 13,11$  м. ( $p = 0,021$  от исходного)). При иммуногистохимическом исследовании скелетной мышцы, развитие неоангиогенеза и увеличение плотности капиллярной сети после введения в мышцу аутологичных стволовых клеток было подтверждено.

Стимуляция неоангиогенеза аутологичным прогениторными клетками костного мозга [2]. В исследование принимали 42 пациента с ОААНК. Всем больным установлен

диагноз ОААНК с ишемией ИБ стадии заболевания (по Фонтейну-Покровскому), невозможность выполнения реконструктивной операции по разным причинам. Все пациенты путем рандомизации распределены в 3 группы по 14 человек. В I группу вошли больные, которым вводились аутологичные прогениторные клетки CD 133+. Во II группу вошли пациенты, которым вводилась лейкоцитарная фракция клеток костного мозга (CD 34+). В III группу (плацебо) включены больные, которым был введен физиологический раствор. Забор костного мозга осуществлялся путем пункции передних и задних остей подвздошных костей. Далее костный мозг подвергали обработке методом двойного центрифугирования с целью получения лейкоцитарной фракции клеток костного мозга (CD 34+). Выделение CD 133+ клеток проводили методом иммуномагнитной сепарации с использованием реагентов Miltenyi Biotec в соответствии с инструкцией производителя. У пациентов III группы выделенную лейкоцитарную фракцию клеток костного мозга подвергали программному замораживанию и хранили для дальнейшего использования. Полученный препарат вводили в мышцы по латеральной и медиальной поверхности голени в 10 точек на каждой конечности, по 1,5 мл в каждую точку. Результаты исследования и их составил 12 месяцев. Оценка эффективности лечения проводилась отдельно для каждой конечности, в которую был введен препарат. В 80% случаев (16 конечностей) достигнуто улучшение клинического статуса. Среди 14 пациентов II группы введение клеточного материала проводилось в 18 конечностей. В 88,2% случаев (15 конечностей) достигнуто улучшение клинического статуса. Среди 14 пациентов II группы введение препарата проводилось в 23 конечности. В 21,8% случаев (5 конечностей) достигнуто улучшение клинического статуса. Через 1, 6 и 12 месяцев дистанция безболевого ходьбы увеличилась во всех группах и составила в I группе 111,1±42,71 м, 132,1±85,59 м, 135,0±86,27 м соответственно, во II группе 66,1±33,64 м, 125,4±87,24 м, 130,0±88,89 м соответственно, в III группе – 61,8±20,90 м, 64,3±41,27 м, 75,0±43,98 м.

Разработанный способ лечения безопасен и эффективен в применении. Его можно рекомендовать для мультицентровых клинических испытаний у пациентов с дистальной формой облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей.

Эффективность применения гена VEGF165 в комплексном лечении пациентов с хронической ишемией нижних конечностей 2А-3 стадии [6]. В статье обобщен опыт лечения 100 пациентов с хронической ишемией нижних конечностей IIА-III степени по Фонтейну-Покровскому (75 пациентов вошли в клиническую группу, 25 – в контрольную), которым было невозможно выполнить хирургическую реваскуляризацию. Пациенты клинической группы помимо стандартной сосудистой терапии получали местно внутримышечно препарат Неоваскулген (плазмидная генетическая конструкция, содержащая ген *vegfl65* человека). Результаты оценены через 1 год.

Показано, что введение геннотерапевтического препарата безопасно, не влечет местных и системных аллергических реакций, неопластических процессов. Эффективность лечения оценивалась путем регистрации длины безболевого ходьбы, транскутанно-определяемого напряжения кислорода, линейной скорости кровотока, лодыжечно-плечевого индекса, ангиографии, использования опросника SF-36.

Установлено, что через 1 год статистическая значимость межгрупповых и внутригрупповых различий достигнута для дистанции безболевого ходьбы (прирост 167,2%), транскутанного определения кислорода (прирост 20,4%). Наибольший клинический ответ по дистанции безболевого ходьбы зафиксирован у пациентов с 3 ст. заболевания (547,5%), а также у больных с многоэтажным поражением сосудов (269,1%). Полученные данные позволяют рассматривать генную терапию препаратом Неоваскулген как эффективный компонент комплексного лечения данной категории пациентов.

На наш взгляд, при отсутствии условий для проведения реконструктивно-восстановительных операции, при наличии высокого риска проведения общей анестезии и нерезультативностью консервативной терапии, применение методов стимуляции неоангиогенеза можно считать оправданным.

С 2010 г. нами было разработана и внедрена в клиническую практику метод стимуляции неоангиогенеза аутологическим костным мозгом. Стимуляции неоангиогенеза аутоплазмой обогащенный аутологическим костным мозгом было выполнено 62 процедуры 23 больным. Из 16 больных, у 9 пациентов была критическая ишемия атеросклеротического генеза, у 7 – синдром диабетической стопы.

Ни в одном случае осложнения связанных с применением методики стимуляции неоангиогенеза не отмечено. В отдаленном периоде удалось сохранить конечность у 15 (65,2%) больных. В 2-х случаях летальные исходы не связанные с проведением методики (умерли через 6 и 8 месяцев после выписки из стационара), в 7 случаях выполнена ампутация нижних конечностей (из них 1 экономная ампутация).

Таким образом, взгляды ученых на проблему лечения ХОЗАНК путем проведения клеточной терапии разные и данная проблема требует его дальнейшего изучения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. А.В.Покровский, А.В. Чупин 2004. Клиническая ангиология: Руководство для врачей.- М.: Медицина,-2004.-Том 2.-184, 188-191.

2. Корымасов Е.А., Казанцев А.В., Аспирантский вестник Поволжья №7-8, 2010, стр 171-173.

3. Алехин Д.И., Ангиология и сосудистая хирургия, 2003, Том 9, №4. Новые возможности ревазуляризации конечностей при хронической ишемии – неоангиогенез, индуцированный действием высокоинтенсивного лазерного излучения (экспериментальное исследование).

4. Драгунов А.Г., Александров Ю.В., Хрипунов С.А., Ангиология и сосудистая хирургия, 2008, Том 14, №4, Применения внутритканевого введения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами (АОТ), при лечении ишемии нижних конечностей.

5. Максимов А.В., Киясов А.П., Плотников М.В., Маянская С.Д., Шамсутдинова И.И., Газизов И.М., Мавликеев М.О., Ангиология и сосудистая хирургия, 2011, Том 17, №2, Результаты применения аутологичных стволовых клеток периферической крови у пациентов с хронической артериальной недостаточностью нижних конечностей.

6. Деев Р.В., Бозо Мжавандзе Н.Д., Нерсесян Е.Г., Чухраля О.В., Швальб П.Г., Червяков Ю.В., Староверов И.Н., Калинин Р.Е., Воронов Д.А., Гавриленко А.В., Исаев А.А., Ангиология и сосудистая хирургия, 2014, Том 20, №2. Эффективность применения гена VEGF65 в комплексном лечении пациентов с хронической ишемией нижних конечностей 2А-3 стадии.

## ТҮЙІН

Бұл мақалада, аяқтың артерияларының созылмалы облитерирлеуші ауруларының клеткалық емшаралардың, яғни неоангиогенездің стимуляциясының заманауи әдебиет жинақтары көрсетілген. Қан-тамыр хирургиясының жетістіктеріне қарамастан, аяқтың артерияларының созылмалы облитерирлеуші ауруының дистальді зақымдануымен сырқаттанатың науқастардың емін жүргізу қиындық туғызады, өйткені реконструктивті-қалпына келтіруші оталарды жүргізу қазіргі күнге дейін үлкен мәселе ретінде қаралады, және де көптеген жағдайда консервативті ем нәтижесіз болады.

**Түйін сөздер:** атеросклероз, ангиогенез, аяқтың артерияларының созылмалы облитерирлеуші ауруының дистальді зақымдануы.

## SUMMARY

The article provides an overview of the modern literary data on the use of stem cell therapy, i.e. Angiogenesis stimulation in patients with Chronic obliterating diseases of the lower limb arteries. Despite the fact that we have seen progress in vascular surgery nowadays, Treatment of patients with chronic obliterating diseases of the lower limb arteries is difficult, so as reconstructive surgery is actual problem now and in many cases Conservative treatment is exhausted.

**Keywords:** atherosclerosis, angiogenesis, distal lesion of chronic obliterating arterial disease of the lower extremities