

УДК 617.58+616.13/14-005-089.843+612.35

*Ю.В. Поляченко, Р.В. Салютін, С.С. Паляниця, С.І. Мартиненко,  
М.Ф. Соколов, В.А. Шаблій, М.П. Комаров*

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

*Координаційний центр трансплантації органів, тканин і клітин МОЗ України, м. Київ  
ТОВ «Інститут клітинної терапії», м. Київ*

## **ЕФЕКТИВНІСТЬ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ ПРОГЕНІТОРНИХ КЛІТИН ФЕТАЛЬНОЇ ПЕЧІНКИ ЯК МЕТОДУ НЕПРЯМОЇ РЕВАСКУЛЯРИЗАЦІЇ НИЖНІХ КІНЦІВОК**

Лікування хворих з нереконструктабельним ураженням периферичного артеріального русла є актуальною проблемою сучасної хірургії. Спираючись на позитивні результати доклінічних експериментальних досліджень, що засвідчили активацію регенераторно-відновних процесів та ангиогенезу в ішемізованих тканинах, проведено дослідження з метою визначити клінічну ефективність використання прогеніторних клітин фетальної печінки в лікуванні хворих з «нереконструктабельним» ураженням периферичного артеріального русла нижніх кінцівок. Аналіз результатів клінічного дослідження свідчить про доцільність та ефективність трансплантації прогеніторних клітин фетальної печінки людини як методу «непрямої» реvascularизації в комплексному лікуванні хворих на хронічну ішемію нижніх кінцівок.  
**Ключові слова:** *хронічна ішемія, непряма реvascularизація, прогеніторні клітини, фетальна печінка.*

Досягнуті суттєві успіхи сучасної судинної хірургії, однак проблема лікування хворих з ураженням периферичного (термінального) судинного русла є до кінця невирішеною та актуальною. Особливо це стосується тих клінічних випадків, коли виконати «пряму» реvascularизацію неможливо у зв'язку з відсутністю анатомо-функціональних можливостей [1, 2].

Одним з напрямків лікування даної категорії хворих є застосування методів «непрямої» реvascularизації, зокрема трансплантації стромальних аутологічних стовбурових клітин кісткового мозку, які дозволяють шляхом стимуляції процесів ангиогенезу розвинути колатеральну капілярну мережу в ураженому сегменті [3, 4].

Однак широке клінічне використання клітин кісткового мозку обмежено певними технологічними проблемами та низьким потенціалом трансдиференціювання дорослих (adult) мезенхімальних клітин [5].

Результати проведених експериментів за умов *in vitro* та *in vivo* свідчили про високий потенціал трансдиференціювання про-

геніторних клітин фетальної печінки людини 6–8 тижнів гестації до ангиобластів та ендотеліоцитів — основної складової капіляра, що зумовило активацію регенераторно-відновних процесів та ангиогенезу в ішемізованих тканинах, більш ніж при трансплантації аутоклітин кісткового мозку.

Мета роботи — визначити клінічну ефективність використання прогеніторних клітин фетальної печінки в лікуванні хворих з «нереконструктабельним» ураженням периферичного артеріального русла нижніх кінцівок.

**Матеріал і методи.** Клінічну групу склали 22 пацієнти (всі чоловіки) з проявами хронічної ішемії нижніх кінцівок ІІБ–ІV ступенів, які знаходились на лікуванні у відділі мікросудинної та пластичної хірургії Національного інституту хірургії та трансплантології ім. О.О. Шалімова та клініці ТОВ «Інститут клітинної терапії». Середній вік хворих складав 53,5 року. У 5 хворих діагностовано облітеруючий ендартеріїт, у решти — атеросклеротичне ураження судинного русла.

© Ю.В. Поляченко, Р.В. Салютін, С.С. Паляниця та ін., 2011

На момент госпіталізації хворі обстежувались за алгоритмом, що включав у себе: загальноклінічне обстеження, доплерографію, визначення показників регіонарного кровотоку (сегментарний тиск та ГПП), рентгеноконтрастну ангіографію, визначення стану мікроциркуляторного русла за допомогою лазерної флуометрії та анкетування («Quality of Life Index» і уніфікований опитувальник — Walking Impairment Questionnaire).

У всіх хворих було констатовано неможливість виконання реконструктивно-відновних оперативних втручань на артеріальному руслі нижньої кінцівки.

За локалізацією оклюзійного або облітеруючого ураження (по результатам клініко-інструментальних досліджень) хворі були розподілені таким чином: здухвинно-стегново-підколінно-гомільковий сегмент — 2; стегново-гомільково-стопний сегмент — 3; гомільково-стопний сегмент — 5; стегново-підколінно-гомільково-стопний — 12.

На основі даних науково-інформаційного пошуку і результатів клініко-лабораторного аналізу та інструментальних досліджень були встановлені показання та протипоказання до клітинної трансплантації.

Показаннями до клітинної трансплантації були: відсутність показань до прямої реваскуляризації, а саме: оклюзія дистального (термінального) артеріального сегмента та/або наявність мультифокального ураження артеріального судинного русла, яке поєднується з «нереконструктабельним» ураженням периферичного сегмента; хронічна ішемія кінцівок ІІБ–ІІІ ступенів; хронічна ішемія кінцівок ІV ступеня без гострих гнійно-запальних процесів та мікотичної інфекції стопи; відсутність онкопатології в анамнезі та негативний тест на онкомаркери.

Протипоказаннями до клітинної трансплантації були: наявність показань до «прямої» реваскуляризації; наявність міотичного ураження стоп; наявність гострого гнійно-запального процесу стопи; наявність цитомегаловірусної інфекції; перевищення вмісту онкомаркерів та позитивний онкоанамнез.

Розроблена технологія клітинної трансплантації включала в себе локальне введення прогеніторних клітин фетальної печінки (отримані з біотехнологічної лабораторії ТОВ «Інститут клітинної терапії») в фізіологічному розчині (20–30 мл) під місцевою анестезією (2 % розчин лідокаїну) за допо-

могою короткої закругленої канюлі під апоневроз в м'язи, розповсюджуючи клітини невеликими порціями в ішемізовані ділянки, вздовж облітерованих судин, де кровопостачання страждає найбільше. В деяких випадках (з метою системної дії) частину клітинного трансплантата вводили внутрішньовенно.

Через 1–3–6–12 міс після клітинної трансплантації хворі проходили контрольне обстеження, яке було ідентичним алгоритму первинного обстеження, за виключенням ангіографічного дослідження, яке виконували лише на 6–12-й місяць.

**Результати та їх обговорення.** Починаючи з 2–3-го тижнів після введення трансплантата у хворих спостерігали позитивну клінічну симптоматику, що проявлялось у вигляді покращання загального самопочуття, зменшення, а потім і повної відсутності больового синдрому (в тому числі болю спокою), загоєння трофічних розладів на пальцях та стопі.

Окрім того, починаючи з 3-го тижня після трансплантації поступово (у 2,5–3,2 разу) збільшувалась дистанція без больової ходи. У 88,2 % пацієнтів через 1–3 міс після клітинної трансплантації було відмічено зменшення ступеня ішемії за Покровським–Фонтейном. Аналіз результатів дослідження свідчив про те, що у 4 пацієнтів ІV ступінь ішемії зменшився до ІІІ ступеня, а у 11 пацієнтів (зі ступенем ішемії ІІІ–ІV) характер клінічних проявів через 3 міс після трансплантації відповідав ІА ступеню ішемії.

Водночас у 2 хворих з ІV ступенем ішемії з гнійно-запальним процесом на стопі (гангрена пальців з переходом на тильну поверхню стопи) позитивної клінічної динаміки не спостерігали. Навпаки, введення клітинного трансплантата призводило до стимуляції гнійно-запального процесу, поживлення некротичного процесу та активації латентної мікотичної інфекції, що в кінцевому підсумку змусило виконати ампутацію кінцівки (на рівні гомілки та стегна).

Окрім того, 1 хворому з відсутністю магістрального судинного русла сегмента «гомілка–стопа» ампутація кінцівки була виконана через 4 міс після клітинної трансплантації. На тлі повного благополуччя та переходу ступеня ішемії з ІІІ до ІА зафіксували гострий артеріальний тромбоз підколінної артерії з переходом до Гунтерова каналу.

Оперативне втручання визнано неефективним, а призначена консервативна терапія мала короткочасний ефект, у зв'язку з

погіршенням самопочуття, появою вираженого больового синдрому та некротичного процесу уражена кінцівка була ампутована.

Проаналізувавши літературу та суб'єктивний статус хворих у післятрансплантаційному періоді (вже на 7-му–10-ту добу), а саме: покращання загального самопочуття та психоемоційного статусу, прилив фізичної сили, ми дійшли висновку, що найбільш оптимальним шляхом введення клітинного трансплантата є локальна трансплантація в ішемізовану кінцівку (під місцевою анестезією шприцом з короткою канюлею), поєднана з системним (внутрішньовенним) введенням клітин фетальної печінки.

Окрім того, даний метод не потребує особливих умов та операційного блоку або рентген-операційної на відміну від внутрішньоартеріального шляху введення, який окрім залучення додаткового медичного персоналу (рентген-операційного блоку) може призвести до тромботичних ускладнень.

До того ж відомо, що при внутрішньоартеріальному шляху введення клітинного трансплантата близько 70–90 % клітин гине, не досягнувши патологічної зони, а в судині, яка використовується для трансплантації, відмічається гіпертрофія ендотеліального шару [6].

За період динамічного спостереження за пацієнтами, яким була виконана клітинна трансплантація, ускладнень у вигляді некротичних дефектів у зоні введення клітинного трансплантата, анафілактичної реакції або гнійно-запального чи іншого процесу (в тому числі й онкологічного) не було зафіксовано.

Крім того, протягом усього періоду спостереження пацієнти відмічали покращений психоемоційний статус (індекс якості життя), покращання сну та апетиту, збільшену працездатність та потенцію, збільшення дистанції (в середньому до 400–500 м) та швидкості безбольової ходи, а також зменшення частоти прийому та дозування гіпотензивних препаратів (у разі супутньої гіпертонічної хвороби).

Перші ознаки клінічного «завмирання» стану пацієнти відмічали вже починаючи з 12–15-го місяців після клітинної трансплантації, що проявлялось у тенденції до поступового «завмирання» дистанції та швидкості безбольової ходи (за даними опитувальника).

Результати загальноклінічного обстеження та тестування корелювали з даними інструментальних досліджень.

Однак необхідно зауважити, що показники регіонарної гемодинаміки (показники сегментарного тиску та ГПІ) в процесі лікування вірогідно не збільшувались. Даний факт пояснюється тим, що покращання кровопостачання ішемізованої кінцівки відбувається за рахунок новоутвореного капілярного (мікроциркуляторного) русла, а не за рахунок відновлення магістрального кровотоку.

Отже, використання методу визначення регіонарної гемодинаміки за показниками сегментарного тиску та ГПІ у хворих після клітинної трансплантації недоцільно, оскільки не відображає реальної картини стану кровопостачання ішемізованої кінцівки.

З метою об'єктивного моніторингу змін у мікроциркуляторному руслі після клітинної трансплантації застосовували метод лазерної доплерівської флуометрії. На момент госпіталізації у хворих з хронічною ішемією кінцівок спостерігали зниження рівня мікроциркуляторних процесів та ознаки компенсаторної відповіді — активація механізмів регуляції мікроциркуляції (ендотеліальних, нейрогенних, міогенних), посилення артеріовенозного шунтування, зниження ендотелійзалежного і ендотелійнезалежного резерву капілярного кровотоку.

В післятрансплантаційному періоді, вже наприкінці першого місяця після клітинної трансплантації, відмічається покращання мікроциркуляторних показників за рахунок функціонування новоутвореного капілярного русла, дилатації прекапілярних сфінктерів (за рахунок зниження нейротонусу), посилення артеріовенозного шунтування та збільшення резерву капілярного кровотоку (за рахунок поліпшення ендотелійнезалежної вазодилатації).

На подальших етапах спостереження (через 3–6 міс) відмічена стійка тенденція до подальшої нормалізації стану мікроциркуляторного русла за рахунок покращання веноулярного відтоку та поліпшення ендотелійзалежної вазодилатації (через активацію активних і пасивних механізмів регуляції процесів капілярного кровотоку).

Необхідно зауважити, що в подальшому (на 12-й місяць після клітинної трансплантації) показники процесів мікроциркуляції мають тенденцію до «завмирання» та формування стійкого позитивного рівня капілярного кровотоку.

Результати контрольної (6–12-й місяць після трансплантації) рентгеноконтрастної

артеріографії свідчили про значний розвиток колатерального кровотоку вздовж облітерованих магістральних судин, тобто в зоні клітинної трансплантації.

Таким чином, результати дослідження свідчать про безумовний позитивний ефект застосування прогеніторних клітин фетальної печінки в лікуванні хворих з хронічною ішемією нижніх кінцівок, яка зумовлена «нереконструктабельним» ураженням судинного русла.

Зменшення ступеня ішемічного ураження та позитивна клінічна динаміка, на наш погляд, відбуваються як за рахунок активації процесів ангиогенезу власне трансплантованими клітинами, так і опосередковано через стимуляцію власного тканинного ангиогенезу.

Доцільним є використання методу лазерної доплерівської флуометрії для визначення мікроциркуляторних процесів, що відбуваються в тканинах кінцівок після виконання методів «непрямої» реваскуляризації кінцівки. Впровадження даного методу в клінічну практику дозволить суттєво зменшити відсоток розвитку ішемії кінці-

вок тяжкого ступеня з подальшою втратою хворим цієї кінцівки, відповідно, зменшить відсоток пацієнтів, що отримають інвалідність і стануть тягарем для суспільства.

#### Висновки

1. Трансплантація прогеніторних клітин фетальної печінки людини в комплексному лікуванні хворих на хронічну ішемію кінцівок приводить до стійкого зростання індексу якості життя, відстані безболісної ходьби, покращання загального самопочуття, переведення хворого до групи пацієнтів з нижчим ступенем ішемії, сприяє більш швидкій соціальній реабілітації пацієнтів та зменшує прогноз щодо інвалідизуючих операцій.

2. Розроблена методика трансплантації прогеніторних клітин фетальної печінки людини є ефективним і доступним методом непрямої реваскуляризації у хворих із хронічною ішемією кінцівок. Цей метод показаний до використання у пацієнтів, яким не можна виконати реконструкцію судинного русла, хворих похилого віку та з вираженою супутньою патологією.

#### Список літератури

1. *Покровский А. В.* Клиническая ангиология : руководство для врачей : в 2 т. / [под ред. А. В. Покровского]. — М. : Медицина, 2004. — Т. 1. — 2004. — 808 с.
2. *Dormandy J.* Chronic critical ischemia of the legs / J. Dormandy, F. Becker // *Ann. Cardiol. Angiol.* — 2007. — V. 56, № 2. — P. 61–64.
3. *Воронов Д. А.* Стимуляция ангиогенеза в улучшении результатов хирургического лечения пациентов с хронической ишемией нижних конечностей: экспериментальное обоснование и эффективность клинического применения / Д. А. Воронов, А. В. Гавриленко, Н. П. Бочков // *Болезни аорты и ее ветвей.* — 2009. — № 3. — С. 45–48.
4. Шляхи стимуляції непрямої реваскуляризації в лікуванні хронічної ішемії нижніх кінцівок / В. К. Гринь, А. Г. Попандопуло, О. А. Штутін [та ін.] // *Практ. медицина.* — 2008. — Т. XIV, № 5. — С. 35–38.
5. *Кухарчук А. Л.* Стволовые клетки: эксперимент, теория, клиника. Эмбриональные, мезенхимальные, нейральные и гемопоэтические стволовые клетки / А. Л. Кухарчук, В. В. Радченко, В. М. Сирман. — Черновцы : Золоті литаври, 2004. — 505 с.
6. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium / D. Orlic, J. Kajstura, D. Chimenti [et al.] // *Nature.* — 2001. — V. 410. — P. 701–705.

*Ю.В. Поляченко, Р.В. Салютин, С.С. Паляница, С.И. Мартыненко, Н.Ф. Соколов, В.А. Шаблій, М.П. Комаров*

#### ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК ФЕТАЛЬНОЙ ПЕЧЕНИ КАК МЕТОДА НЕПРЯМОЙ РЕВАСКУЛЯРИЗАЦИИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

Лечение больных с «нереконструктабельным» поражением периферического артериального русла является актуальной проблемой современной хирургии. Основываясь на положительных результатах доклинических экспериментальных исследований, свидетельствовавших о стимуляции регенеративно-восстановительных процессов и ангиогенеза в ишемизированных тканях, проведено исследование в целях определения клинической эффективности использования прогеніторных клеток фетальной печени человека в лечении пациентов с «нереконструктабельным» поражением периферического артериального русла. Анализ результатов клинического исследования свидетельствует о целесообразности и эффективности трансплантации прогеніторных клеток фетальной печени человека как метода «непрямої» реваскуляризації в комплексном лечении больных с хронической ишемией нижних конечностей.

---

*Ключевые слова:* хроническая ишемия, непрямая реваскуляризация, прогениторные клетки, фетальная печень.

*Yu.V. Poljachenko, R.V. Salutin, S.S. Paljanitsa, S.I. Martynenko, N.F. Sokolov, V.A. Shablij, M.P. Komarov*

**EFFICIENCY OF TRANSPLANTATION OF PROGENITORY CELLS OF FETAL LIVER AS METHOD OF INDIRECT REVASCULARIZATION OF INFERIOR LIMBS**

Treatment of patients with «non reconstructive» injury of artery vessel is an acute problem of modern surgery. Taking in to account the positive results of before clinical experimental researches which showed the stimulation of regenerative restoring processes and angiogenesis in ischemic tissues, the research has been carried out with the aim of defining of clinical efficiency of usage of progenitory cells of fetal liver of a human being at treatment of patients with «non reconstructive» injury of peripheral artery vessel. The analysis of the results of clinical research shows the expediency and efficiency of transplantation of progenitory cell of fetal liver of human beings as the method of «indirect» revascularization in complex treatment of patients with chronical ischemia of inferior limbs.

*Key words:* chronical ischemia, indirect revascularization, progenitory cells, fetal liver.