

МІСЦЕ ТЕРАПЕВТИЧНОГО НЕОАНГІОГЕНЕЗУ В ЛІКУВАННІ КРИТИЧНОЇ ІШЕМІЇ НИЖНІХ КІНЦІВОК

Гоцинський В.Б., П'ятничка О.З., Мігенько Б.О.

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України,

м. Тернопіль, Україна,

ORCIDID: <https://orcid.org/0000-0003-2867-0543>,

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7120-8445>,

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2192-7238>,

e-mail: vgoshchynsky@gmail.com

Резюме. Проаналізовані результати застосування PRF – терапії за технологією PRGF®-ENDORET® у 25 хворих із критичною ішемією нижніх кінцівок. Із них 16 пацієнтів були з II ст., категорія 4 та 9 з III ст., категорія 5 (за класифікацією Rutherford et al.). Контроль ефективності PRF – терапії здійснювався за інтенсивністю больового синдрому, тредміл-тестом, дослідженням парціального тиску кисню у поверхневих м'яких тканинах нижньої кінцівки (транскутанна оксиметрія), за змінами у клінічному статусі, що оцінювався за шкалою Рутерфорда (1997). Аналіз результатів досліджень застосування PRF – терапії за технологією PRGF®-ENDORET® свідчить про те, що це є перспективним напрямком терапевтичного неоангіогенезу в лікуванні критичної ішемії нижніх кінцівок при неможливості виконати реконструктивну операцію. Так, згідно отриманих результатів наших досліджень, у період 2-6 місяців, настає покращення кровопостачання кінцівки, про що свідчить відсутність больового синдрому, значне збільшення дистанції ходьби, покращення стану мікроциркуляції у дистальній частині кінцівки за даними транскутанної оксиметрії.

Ключові слова: критична ішемія кінцівки, терапевтичний неоангіогенез.

Вступ. За останній час збільшилась кількість хворих на облітеруючий атеросклероз нижніх кінцівок із багаторівневим ураженням в стегно-підколінно-дистальному сегменті. Вибір хірургічної тактики у таких хворих є найбільшою проблемою у сучасній ангіохірургії, особливо при розвитку критичної ішемії [5,12,15,16]. У цієї категорії хворих виконання методів прямої ревазуляризації кінцівок можливо лише у 30-40% [1,7,12]. Тому для лікування пацієнтів з критичною ішемією нижніх кінцівок (КІНК) хірург вибирає один з двох варіантів: ампутацію ураженої кінцівки або спробу відновлення кровотоку в ній. У даний час від 70 до 80 % ампутацій у світі виконують з приводу КІНК. Однак, після ампутації кінцівки різко знижується якість життя хворого та зменшується його довготривалість [11,13]. Виходячи з цього, важливим завданням для збереження кінцівки є відновлення кровообігу в ній, хоча би на мінімально необхідному рівні, завдяки застосуванням методів непрямой ревазуляризації: хірургічні - денервуючі втручання, стимуляція неоангіогенезу (перфорууючі остеотрепанія), пересадка великого сальника на кінцівку та терапевтичного ангіогенезу – введення мононуклеїв кісткового мозку, генних препаратів, тромбоцитарної суміші тощо [6,8,10,11,14].

Методи терапевтичного неоангіогенезу (біологічне шунтування) поступово входять в практику лікування хворих із хронічною ішемією нижніх кінцівок. Його мета – забезпечення ревазуляризації ішемізованих тканин за рахунок стимуляції природних процесів утворення та росту судин. Стратегія ангіогенної терапії включає в себе забезпечення ішемізованих тканин екзогенними факторами росту у

вигляді рекомбінантних білків або генетичних конструкцій, стовбуровими або прогенитивними клітинами із кісткового мозку або тжаневого депо, а також сполучення цих методів [2,3,4,6,9,14].

Обґрунтування дослідження. У даний час ревазуляризація кінцівки при її атеросклеротичній оклюзії за рахунок використання шунтуючих операцій та ендоваскулярної вазобалонної ділятатції є домінуючими в реконструктивній ангіохірургії. Однак виконання цих операцій при дистальних формах оклюзії артерій, із зрозумілих причин, є проблематичним, особливо при розвитку критичної ішемії кінцівки. У зв'язку з цим виникає актуальна проблема - пошук альтернативних методів ревазуляризації кінцівки з метою її збереження. У цьому плані одним із перспективних напрямків може бути стимуляція ангіогенезу в ішемізованій кінцівці за допомогою збагаченої тромбоцитами ауто плазми за технологією PRGF®-ENDORET® (Platelet-rich Plasma-терапія). Ця технологія дає можливість отримати плазму з більш значною кількістю біологічно активних факторів, а саме EGF (епідермальний фактор росту), PDGF (тромбоцитарний фактор росту), VEGF (фактор росту судинного ендотелію).

Мета дослідження. Дати клінічне обґрунтування до застосування аутоплазми, збагаченої факторами росту (PRGF®-ENDORET®) для лікування хворих із критичної ішемії нижніх кінцівок.

Матеріали і методи. Проаналізовані результати застосування технології PRGF®-ENDORET® у 25 хворих з ішемією нижніх кінцівок. Із них 16 пацієнтів були з II ст., категорія 4, та 9 з III ст., категорія 5 (за класифікацією Rutherford et al., 1997). Середній вік пацієнтів складав 56,7±9,3 років, всі чоловіки. Ультразвукове обстеження артеріальних судин виконували на установці Vivid 3 ("Дженерал Електрик", США) із датчиком частотою 5–10 МГц та відповідним стандартним пакетом програмного забезпечення вказаної фірми для обстеження артеріальної системи. За допомогою дуплексного сканування у В-режимі артерій аорто-стегново-підколінно-гомількового сегмента отримували дані про товщину, форму, структуру, діаметр просвіту артерій на рівні стенотичної та післястенотичної ділянки, протяжність атеросклеротичного ураження. Для визначення місця локалізації атеросклеротичної оклюзії та її протяжності застосовували спіральну комп'ютерну ангіографію у 3D зображенні або виконували аорто-артеріографію на ангіографічному комплексі фірми "Siemens". Виходячи з даних УЗД та ангіографії за класифікацією TASCII, тип С виявлено у 11 пацієнтів, тип D- у 14 хворих. Серед них 4 пацієнти перенесли стегно-підколінне шунтування, 8 хворих - ендоваскулярну балонну ангіопластику. У прооперованих хворих відмічено наростання ішемії кінцівки у віддаленому післяопераційному періоді як наслідок прогресування атеросклеротичного процесу у дистальних відділах кінцівки.

Для терапевтичного неоангіогенезу плазму, збагачену факторами росту, приготувували згідно з протоколом

Інституту біотехнологій ВТІ (Іспанія). Отриману плазму розділяли на фракцію F1 та фракцію F2. Для ін'єкції забирали фракцію F2 по 2 мл із кожної пробірки. Потім в асептичних умовах маніпуляційної, під УЗД-навігацією, для визначення місця розташування уражених атеросклеротичним процесом магістральних судин гомілки (a.tibialis posterior та a.tibialis anterior), паравазально вводили по 2 мл плазми, збагаченої факторами росту (PRGF®-ENDORET®). Через 10-14 днів маніпуляцію повторювали.

Ефективність PRF-терапії оцінювали за інтенсивністю больового синдрому за цифровою рейтинговою шкалою -VerbalDescriptorScale (Gaston-Johansson F., Albert M., Fagan E. et al., 1990). Вербальна рейтингова шкала дозволяє оцінити інтенсивність болю шляхом якісної словесної оцінки. Відповідно до цієї шкали, можливі шість варіантів оцінки болю: 0 - немає болю; 2 - слабкий біль; 4 - помірний біль; 6 - сильний біль; 8 - дуже сильний біль; 10 - нестерпний біль.

Для оцінки ефективності PRF – терапії також використовували тредміл-тест (протокол Garduer-Skinner), який виконували на біговій доріжці із нульовим нахилом, із швидкістю 3,2 км/год, до виникнення у пацієнта болю у нижніх кінцівках.

З метою оцінки стану мікроциркуляторного русла після PRF-терапії виконувалось дослідження парціального тиску кисню у поверхневих м'яких тканинах нижньої кінцівки (транскутанна оксиметрія). Для вимірювання $tcPO_2$ використовувється транскутанний оксиметр компанії RADIMETER (Данія). Для отримання $tcPO_2$ датчик Кларка встановлювали на стопі в ділянці першого міжпальцевого проміжку та в ділянці п'ятки. Нами використані наступні критерії, що дозволяють оцінити ступінь збереження мікроциркуляції: I ступінь розладів мікроциркуляції (компенсований тканевий метаболізм) - $tcPO_2 > 30$ мм.рт.ст.; II ступінь розладів мікроциркуляції (субкомпенсований тканевий метаболізм) - $tcPO_2 = 20-30$ мм.рт.ст.; III ступінь розладів мікроциркуляції (некомпенсований тканевий метаболізм) $tcPO_2 < 20$ мм.рт.ст. Зміни у клінічному статусі оцінювали за шкалою Рутерфорда (1997) [17]: 0 – без змін (немає змін у ступені ішемії та немає збільшення КПП); +1 – мінімальне покращення (збільшення КПП більше ніж на 0,1, але немає клінічного покращення, або, навпаки, клінічне покращення без приросту КПП більше, ніж на 0,1); +2 – помірне покращення (покращення як мінімум на 1 ступінь ішемії, КПП не нормалізувався, але збільшився більше, ніж на 0,1); +3 – значне покращення; 1 – незначне погіршення; 2 – помірне погіршення; 3 – значне погіршення. Оцінка ефективності PRF – терапії проводилась через 30 днів, 2 місяці, 6 місяців.

Результати дослідження. Після оцінки інтенсивності больового синдрому у хворих із критичною ішемією кінцівки нами встановлено, що помірний біль був у 17 (68 %) пацієнтів, сильний біль - у 5 (20%) випадках, а в 3 (12%) хворих дуже сильний біль. Після проведення PRF – терапії інтенсивність болю поступово зменшувалася і через 2 місяці більшість хворих (14 – 56%) на біль у кінцівці не скаржилася, інші хворі (11 – 44%) відчували у кінцівці слабкий біль. Через 6 місяців біль у кінцівці не турбував переважну більшість хворих, лише 3 пацієнти скаржаться на слабку біль.

Аналіз тредміл-тесту показав, що у хворих на критичну ішемію нижніх кінцівок дистанція безбольової ходьби складала в середньому $64,3 \pm 11,5$ метрів ($p < 0,05$). Після проведення PRF – терапії через 2 місяці ця дистанція збільшилася до $92,4 \pm 8,1$ метрів, а через 6 місяців пацієнти проходили дистанцію $115,6 \pm 7,9$ метрів ($p < 0,05$).

Після виконання терапевтичного ангиогенезу на 30 добу клінічне покращення у стані кінцівки відмічено у 19 (76 %) пацієнтів з приростом КПП 0,1, у 4 (16 %) хворих наступило помірне покращення у стані кінцівки (КПП з приростом 0,2), у 2 (8 %) випадках покращення не наступило.

Через 60 днів нами відмічено збільшення кількості хворих, у яких наступило помірне покращення – 10 (40 %), а також кількості хворих із клінічним покращенням – 15 (60 %). Через 6 місяців відмічено позитивний клінічний ефект у всіх хворих. Про ефективність PRF – терапії також свідчать дані траскутанної оксиметрії (табл.1).

Таблиця 1
Результати вимірювання транскутанної оксиметрії до застосування PRF – терапії, на 30 добу, на 60 добу та через 6 місяців

Показники $tcPO_2$	Кількість хворих (n=25)			
	До PRF – терапії	30 доба	60 доба	6 місяців
I ступінь - ($tcPO_2 > 30$ мм.рт.ст.)	-	-	-	9
II ступінь - ($tcPO_2 20-30$ мм.рт.ст.)	4	12	19	16
III ступінь - ($tcPO_2 < 20$ мм.рт.ст.)	21	13	6	-

Так, до застосування стимуляції неоангіогенезу некомпенсований тканевий метаболізм (III ст.) був у переважній більшості хворих (21 -84 %). З часом кількість хворих, у яких відмічається покращення стану мікроциркуляції у дистальній частині кінцівки, збільшилася, і через 6 місяців вона становить: з компенсованим тканевим метаболізмом – 9 (36 %), з субкомпенсованим тканевим метаболізмом – 16 (64 %) пацієнтів.

Обговорення результатів. Згідно отриманих даних результатів досліджень, у період 2-6 місяців настає поступове покращення кровопостачання кінцівки, про що свідчить відсутність больового синдрому, значне збільшення дистанції ходьби, покращення стану мікроциркуляції у дистальній частині кінцівки за даними транскутанної оксиметрії. Позитивний ефект PRF – терапії також підтверджують позитивні зміни у клінічному стані кінцівки.

Висновки. Аналіз результатів досліджень застосування PRF – терапії за технологією PRGF®-ENDORET® свідчить про те, що цей напрям є перспективним в лікування критичної ішемії нижніх кінцівок і може бути використаний у комплексному лікуванні критичної ішемії або у підготовці хворих для виконання реваскуляризуючих операцій.

References:

1. Belov Y.V., Vinokurov I.A. The concept approach to surgical treatment of lower extremities critical ischemia. *Cardiology and cardiovascular surgery*. 2015; 8 (5): 9-13. (in Russian)
2. Bulgin D.V., Andreeva O.V. The therapeutic angiogenesis with the use of growth factors and bone marrow cells: biological basis and clinical applications perspectives. *Herald of transplantology and artificial organs*. 2015; 17 (3): 89-111. (in Russian).
3. Dynamics of gemoreologii in patients with chronicis chemia of lower limbs as a result of stimulation of angiogenesis [Bokeri-aL.A. et al.]. *Creative cardiology*. 2013; 1: 66-73. (in Russian).
4. Remote results of the use of stimulants angiogenesis in the treatment of patients with chronic lower extremity ischemia [Demidov O.A. et al.]. *Bulletin of cardiovascular disease by Bakulev A.N.* 2013; 14 (6): 248-251. (in Russian).
5. Aihara H., etal. Comparison of long-term outcome after endovascular therapy versus by passur geryincludicati on patients with Trans-Atlantic Inter-Society Consensus-II C and D femoropopliteal disease. *Circ J*. 2014; 78 (2): 457-64.

6. Deveza L., Choi J., Fan Y. Therapeutic angiogenesis for treating cardiovascular diseases. *Theranostics*. 2012; 8 (2): 801–14.
7. Final Results of the BASIL Trial (Bypass Versus Angioplasty in Severe Ischaemia of the Leg) Edited by Andrew W Bradbury. *Journal of Vascular Surgery*. 2010; 51 (5): 5-17.
8. Hartranft C.A., Noland A., Kulwicki S. Cryopreserved Saphenous Vein Graft Infringuinal by pass. *J Vasc Surg*. 2014; 60 (5): 1291-96.
9. Iba O, Matsubara H, Nozawa Y. Angiogenesis by implantation of peripheral blood mononuclear cells and platelets into ischemic limbs. *Circulation*. 2002; 106 (15): 2019-25.
10. Kalka C., Masuda H., Takahashi T. Transplantation of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2000; 97 (7): 3422-427.
11. Kobayashi N., Hirano K., Nakano M. Prognosis of critical limb ischemia patients with tissue loss after achievement of complete wound healing by endovascular therapy. *J Vasc Surg*. 2015; 61(4): 951-59.
12. Lambert A., Belch J. F. The treatment of critical limb ischemia. Where we are now. *Practical angiologia*. 2014; 1 (64): 22-31. (in Ukrainian).
13. Lida O., Nakamura M., Yamauchi Y. Endovascular treatment for infringuinal vessels in patients with critical limb ischemia: OLIVE Registry, a Prospective, Multicenter Study in Japan with 12-month follow-up. *Circulation Cardiovascular Intervention*. 2013; 6 (1): 68-72.
14. Muona K. Safety of VEGF gene therapy in cardiovascular diseases. [Dissertations in Health Sciences]. Publications of the University of Eastern Finland (Department of Biotechnology and Molecular Medicine) 2013; 95 p.
15. Norgen L., Hiatt W.R., Dormandy J.A., et al. The conciliation document on management of patients with peripheral arterial disease (TASC II). *Practical angiologia*. 2014; 3: 50-63. (in Ukrainian).
16. Rigatelli G., Palena M., Cardaioli P., et al. Prolonged high-pressure balloon on angioplasty. *J Geriatr Cardiol*. 2014; 11: 126-30.

УДК 616. 147. 3 - 005. 4 - 089. 844

МЕСТО ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО НЕОАНГИОГЕНЕЗА В ЛЕЧЕНИИ КРИТИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

Гоцинский В.Б., Пятничка О.З., Мигенько Б.О.

Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского МЗ Украины, г. Тернополь, Украина.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2867-0543>,
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7120-8445>,
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2192-7238>,
 e-mail: vgoshchynsky@gmail.com

Резюме. Проанализированы результаты применения PRF – терапии за технологию PRGF®-ENDORET® у 25 больных с критической ишемией нижних конечностей. Из них 16 пациентов были с II ст., категория 4 и 9 с III ст., категория 5 (классификация Rutherford et al.). Контроль за эффективностью PRF – терапии осуществлялся за интенсивностью болевого синдрома, тредмил-тестом, определением парциального давления в поверхностных мягких тканях нижних конечностей (транскутанная оксиметрия), за изменениями в клиническом статусе, который оценивался шкалой Рутерфорда (1997). Анализ результатов исследования применения PRF – терапии за технологию PRGF®-ENDORET® свидетельствует о том, что он является пер-

спективным направлением терапевтического ангиогенеза в лечении критической ишемии нижних конечностей при невозможности выполнить реконструктивную операцию. Так, согласно полученным данным, в период 2-6 месяцев наступает улучшение кровоснабжения конечности, о чем свидетельствует отсутствие болевого синдрома, значительное удлинение дистанции ходьбы, улучшение состояния микроциркуляции в дистальном сегменте конечности за данными транскутанной оксиметрии.

Ключевые слова: критическая ишемия, терапевтический неангиогенез.

UDC 616. 147. 3 - 005. 4 - 089. 844

PLACE OF THE THERAPEUTIC NEOANGIOGENESIS IN CRITICAL ISCHEMIA TREATMENT OF LOWER LIMBS

V.B.Goshchynsky, O.Z.Pyatnychka, B.O.Migenko

¹Ternopil State Medical University by I.Ya. Horbachevsky, Ternopil, Ukraine,

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2867-0543>,
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7120-8445>,
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2192-7238>,
 e-mail: vgoshchynsky@gmail.com

Abstract. The choice of treatment method in patients with critical ischemia is one of topical issues of angio-surgery, since the possibility of the limb preservation arises. In this group of patients, performance of the direct vascularization of the extremities or endovascular angioplasty are limited due to the lack of blood flow in the trunk arteries. There is a reduction of blood circulation, at least at the minimum necessary level, is an important task for the preservation of the limb. The following methods of indirect vascularization are used: surgical – denervation interventions, stimulation of neoangiogenesis (perforating osteotomy), transplantation of the large omentum on the limb and therapeutic neoangiogenesis – introduction of bone marrow mononuclear agents, gene drugs, platelet mix, and the like. In this regard, stimulation of angiogenesis in an ischemic limb by injection of platelet-rich autoplasm using PRGF®-ENDORET® technology (Platelet-rich Plasma-therapy) may be one of the promising directions of the study.

Purpose. The aim is to give clinical justification for the use of auto-plasma enriched with growth factors (PRGF®-ENDORET®) for treatment of patients with critical ischemia of the lower limbs.

Methods. The results of the application of PRGF®-ENDORET® technology in 25 patients with lower limb ischemia have been analyzed. Among them there were 16 patients of the degree II of morbidity, groups four and 9 of the degree III of morbidity, the 5th group (according to Rutherford's classification et al., 1997). The average age of patients was 56.7 ± 9.3 years, all men. The average age of patients was 56.7 ± 9.3 years, all men. Taking into account the ultrasound data and angiography classification of TASC II type C was found in 11 patients, and type D in 14 patients. Among them, four patients had hip-popliteal bypass surgery, and eight patients - endovascular balloon angioplasty. In operated patients, increasing limb ischemia was observed in the remote postoperative period because of the atherosclerotic process progression in the distal limb parts. For therapeutic neoangiogenesis, plasma enriched with growth factors was prepared according to the protocol of the Institute of Biotechnology BTI (Spain). Under the control of the ultrasound, every 2 ml of plasma enriched with growth factors (PRGF®-ENDORET®), was injected into the projection of the vessels of the shin. The manipulation was repeated in 10-14 days.

Results. According to the results of the research data, within the period of 2-6 months, gradual improvement of the blood supply to the limb comes. Absence of any pain syndrome, significant increase in walking for long distances, and improvement of the microcirculation in the distal part of the limb according to the transcutaneous oximetry data indicate better health state of the patients. The positive effect of PRP therapy is also confirmed by positive changes in the clinical condition of the limb.

Conclusion. The analysis of the results of PRP-therapy studies using PRGF®-ENDORET® technology shows

that this method is a promising one in treatment of critical lower limb ischemia and can be used in complex treatment of critical ischemia or in preparation of patients for revascularization operations.

Keywords: critical ischemia, therapeutic neoangiogenesis.

Стаття надійшла в редакцію 20.06. 2018 р.