

Р. В. Салютін, Д. Б. Домбровський, Л. А. Панченко, О. В. Буслович, В. М. Сірман, О. В. Закрутько
Координаційний центр трансплантації органів, тканини і клітин МОЗ України
ДУ «Національний інститут хірургії та трансплантології ім. О. О. Шалімова» НАМН України

СТАН МІКРОЦИРКУЛЯЦІЇ У ХВОРИХ НА ОБЛІТЕРУЮЧІ ЗАХВОРЮВАННЯ СУДИН НИЖНІХ КІНЦІВОК ЗА УМОВ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ МУЛЬТИПОТЕНТНИХ СТРОМАЛЬНИХ КЛІТИН ЖИРОВОЇ ТКАНИНИ

Оцінка параметрів мікроциркуляції у хворих на облітеруючі захворювання артерій нижніх кінцівок в до- та післяопераційному періоді є досить важливим фактором оцінки стану кровообігу хворої ноги в процесі лікування. Сьогодні в клінічній практиці застосовуються різні методи діагностики стану кровообігу в кінцівках, проте найбільш інформативним та точним методом в визначенні стану мікроциркуляції є лазерна доплерівська флоуметрія. В роботі проведена оцінка кровообігу на рівні мікроциркуляторного русла у хворих із хронічною ішемією нижніх кінцівок різного генезу, яким була виконана, в якості методу непрямой реваскуляризації, трансплантація мультипотентних стромальних клітин аутологічної жирової тканини в ішемізовану кінцівку.

Ключові слова: ішемія кінцівки, лазерна доплерівська флоуметрія.

Лікування облітеруючих захворювань судин нижніх кінцівок є актуальною і складною проблемою медицини з високим ступенем інвалідизації. Не існує радикальних методів лікування даної категорії хворих, не існує консервативних засобів, що здатні призупинити прогресування розвитку подальшого ураження судин. Операції шунтування і протезування артерій – єдиний можливий засіб відновлення магістрального кровопостачання кінцівки. На сьогоднішній день запропоновано багато методів непрямой реваскуляризації кінцівки у випадку, коли виконання прямої реконструкції судинного русла не можливо із-за відсутності шляхів відтоку. Досить серйозною проблемою у застосуванні як прямих, а, особливо, реваскуляризуючих оперативних втручань є адекватна оцінка мікроциркуляторного кровотоку в до- та, особливо, післяопераційному періоді. Для контролю ефективності застосованих методів оперативного лікування сьогодні застосовують ангиографію, визначення сегментарного тиску та дуплексне сканування артерій. Проте, вищенаведені методи не дають уяви про стан мікроциркуляції в кінцівці і не дозволяють адекватно оцінити ефективність застосованої реваскуляризуючої методики. Відомо, що лазерна доплерівська флоуметрія є методом діагностики, що дозволяє визначити стан мікроциркуляції [1, 2].

Лазерна доплерівська флоуметрія (ЛДФ) є сучасною медичною технологією в області функціональної діагностики периферичного кровообігу, яка дозволяє проводити неінвазивний

контроль стану мікроциркуляції в реальному масштабі часу. ЛДФ базується на оптичному зондуванні тканин монохроматичним сигналом та аналізі частотного спектру сигналу, відбитого від рухомих компонентів крові (еритроцитів), які мають доплерівський зсув частот. Джерелом світла флоуметра служить гелій-неоновий лазер з довжиною хвилі 630 нм (червоний спектр), 115 нм (інфрачервоний спектр). Випромінена хвиля даної довжини та інтенсивності не чинить ушкоджуючої дії на тканини організму. Як датчик ЛДФ застосовується світловодний зонд, що виконаний із трьох моноволокон. Одне волокно використовується для доставки лазерного випромінювання з приладу до досліджуваної тканини, два інші волокна приймають відбите тканиною лазерне випромінювання. Промінь лазера (для червоного випромінювання) проникає в шкіру на глибину 1 мм і дає інформацію про кровотік в поверхневих капілярах в об'ємі 1–1,5мм³.

ЛДФ дозволяє визначити внесок окремих механізмів регуляції, які модулюють кровотік, оцінити рівень мікроциркуляції, виявити дисфункцію ендотелію, дає змогу прогнозувати характер порушень мікроциркуляції у досліджуваних хворих, здійснювати динамічний моніторинг за ефективністю призначеної терапії та визначити ефективність проводимого лікування.

Мета роботи – визначити стан мікроциркуляції і ендотеліальної функції у хворих на облітеруючі захворювання судин нижніх кінцівок з наявністю хронічної ішемії кінцівок за допомогою лазерної доплерівської флоуметрії за умов

трансплантації мультипотентних стромальних клітин жирової тканини.

Матеріали та методи

Дослідження стану мікроциркуляції у хворих з хронічною ішемією нижніх кінцівок за допомогою лазерної доплерівської флоуметрії (ЛДФ) проводилось на апаратному комплексі «ЛАКК-02» ПП «Лазма» (Москва, Росія). Оцінка стану мікроциркуляції проводилась за методикою А. Stefanovska [3] і співавт. в доповненні В.В. Сидорова [4], з обробкою даних за методом А.В. Танканаг і Н. К. Чемерис [5]. І група (7 чоловік) – хворі на облітеруючі захворювання судин нижніх кінцівок з наявністю хронічної ішемії кінцівок різного ступеню в комплексному лікуванні яких застосовувалась трансплантація мультипотентних стромальних клітин власної жирової тканини. Мультипотентні стромальні клітини вводили внутрішньом'язово в зону ішемічного ураження кінцівки за власною розробленою методикою.

В якості контролю – II група, було обстежено 30 практично здорових волонтера, без ознак ураження судин нижніх кінцівок. У пацієнтів визначали гемодинамічний тип мікроциркуляції (ГТМ) за допомогою реєстрації фонового запису з зовнішньої поверхні дистальної третини лівого передпліччя (умови дослідження проведено згідно рекомендацій групи по стандартизації ЛДФ (European Contact Dermatitis Society, 1994) [6] визначали фоновий показник мікроциркуляції перед початком лікування – Мф, резерв капілярного кровотоку (РККо) при проведенні окклюзійної проби, аналогічний ендотелій-залежній вазодилатації за пробою Celermajer D.S. [7], а також при проведенні проби з нітроглицерином – резерв капілярного кровотоку (РККн), аналогічний ендотелій-незалежній вазодилатації за пробою Целермаєра. Реєстрацію показника мікроциркуляції з внутрішньої поверхні дистальної фаланги 1 пальця стопи – ПМ (лівої чи правої в залежності від ступеня ішемічного ураження). Амплітудно-частотний аналіз ЛДФ-грами використовували для оцінки впливу активних і пасивних механізмів регуляції мікроциркуляції, шляхом застосування математичного вейвлет-аналізу. Визначали активні механізми регуляції мікроциркуляції: АмахЕ – максимальну амплітуду ендотеліальних флаксмоцій, АмахН – максимальну амплітуду нейрогенних коливань до лікування, АмахМ – максимальну амплітуду міогенних коливань до лікування; пасивні механізми регуляції мікроциркуляції: АмахД – максимальну амплітуду дихальних коливань, АмахС – максимальну амплітуду серцевих коливань.

Перші три показника відносяться до активних тонус-формуєчих регуляторних впливів на мікроциркуляторне русло, їх виникнення пов'язано з роботою самих мікросудин. Останні

два показники виникають за межами даної ділянки і є пасивними. Нейрогенний компонент судинного тону, виходячи із симпатичних периваскулярних нервових волокон, опосередковується через артеріоли та артеріо-венулярні анастомози. В той же час прекапілярні сфінктери, що передують вхід у нутритивні капіляри, не мають симпатичної інервації, а регулюються загалом міогенно, тобто внаслідок підвищення м'язового тону у відповідь а підвищення внутрішньосудинного тиску (ефект Бейліса) і відповідно навпаки. Враховуючи локалізацію нейрогенного (артеріоли та артеріо-венулярні анастомози) і міогенного (прекапілярні сфінктери) компонентів тону, можливо неінвазивно оцінити співвідношення шунтового та нутритивного кровотоку в системі мікроциркуляції. Для цього був розрахований запропонований показник шунтування (ПШ) тканинного кровотоку, що представляє собою співвідношення значення амплітуди нейрогенного ритму до амплітуди міогенного ритму мікроциркуляції [8].

Результати та обговорення

У хворих із хронічною ішемією нижніх кінцівок при порівнянні з контролем відмічається зниження РККо%, РККн%: $117,0 \pm 16,0$ і $103,0 \pm 45,0$, проти $310,6 \pm 15,4$ і $442,4 \pm 35,1$ в контролі. При цьому значення Мф, АмахЕ, АмахН і ПШ були більші у хворих із хронічною ішемією кінцівок: $7,04 \pm 1,05$ пф. од; $0,84 \pm 0,12$ пф. од; $0,90 \pm 0,11$ пф. од; та $2,53 \pm 0,49$ у. о. проти $4,30 \pm 0,44$ пф. од; $0,29 \pm 0,04$ пф. од; $0,37 \pm 0,07$ пф. од та $1,13 \pm 0,14$ у. о., відповідно в контролі.

При аналізі показників ЛДФ у хворих із хронічною ішемією кінцівок при трансплантації мультипотентних стромальних клітин власної жирової тканини до початку лікування було достовірно більшим значення Мф – показника мікроциркуляції на фонному запису з передпліччя лівої руки $7,04 \pm 1,05$ проти $4,30 \pm 0,44$ в контролі ($p < 0,02$). Значення параметрів РККо і РККн було достовірно меншим у хворих до початку трансплантації клітин $117,0 \pm 16,0$ та $103,0 \pm 45,0$ проти $310,6 \pm 15,4$ та $442,4 \pm 35,1$ в контролі ($p < 0,001$). Це свідчить про переважання в цій групі хворих з гіперемічним гемодинамічним типом мікроциркуляції (2 хворих з застійним типом – 29% і 5 хворих – 71%, з гіперемічним типом мікроциркуляції), в контрольній групі достовірно переважав нормоциркуляторний тип мікроциркуляції. Тобто у всіх 100% хворих були ознаки ендотеліальної дисфункції. Значення ПМ у хворих мало тенденцію до зниження. За даними вейвлет-аналізу у всіх хворих максимальна амплітуда ендотеліальних флаксмоцій – АмахЕ була достовірно більшою $0,84 \pm 0,12$ проти $0,29 \pm 0,04$ в контролі ($p < 0,05$), а також АмахН

0,90±0,11 проти 0,37±0,07 в контролі ($p<0,002$). Це пов'язано з субмаксимальним напруженням системи L-аргінін – оксид азоту у зв'язку з переключенням регуляції системи мікроциркуляції на активні механізми: ендотеліальний і нейрогенний при прогресуючій ішемії, внаслідок ураження магістральних артеріальних судин при облітеруючих захворюваннях артерій кінцівок. Тобто відмічається компенсаторна дилатація прекапілярних сфінктерів за рахунок зменшення нейротонусу і збільшення викиду оксиду азоту. При цьому також зростає артеріоло-венулярне шунтування, як компенсаторний перерозподільний механізм, що підтверджується отриманими нами даними показника шунтування, який був більшим у досліджуваній групі і складав 2,53±0,49 проти 1,13±0,14 в контролі ($p<0,001$). Проте протягом процесу лікування мало місце зменшення показника шунтування і вже через 3 місяці цей показник був дещо більшим за контрольні дані, при цьому вірогідно не відрізняючись від показників групи порівняння.

При порівнянні параметрів ЛДФ в динаміці лікування через 1 місяць після трансплантації мультипотентних стромальних клітин жирової тканини відмічається достовірне зменшення Мф 3,74±1,04 пф. од. проти 7,04±1,05 пф. од. до лікування ($p_1<0,05$). При цьому значення РККн достовірно збільшувалось. Якщо на початку дослідження воно складало 103,0±45,0%, то через місяць цей показник був 229,0±39,0% ($p_1<0,05$). Щодо ПМ відмічена тенденція до збільшення значень показника мікроциркуляції за рахунок, розширення існуючих капілярів і, можливо, утворення нових капілярних судин внаслідок залучення в кровотік не функціонуючих капілярів, а також за рахунок активації процесів новоутворення капілярного русла. Також має місце вплив трансплантованих клітин на ендотелій-незалежний механізм вазодилатації, здебільшого, за рахунок зниження міотонусу і нейротонусу прекапілярів.

При порівнянні значень ЛДФ у хворих на ішемію кінцівок до початку трансплантації стромальних клітин і через 3 місяці після лікування можна відмітити нормалізацію Мф з 7,04±1,05 пф. од. до 4,02±0,86 пф. од. ($p_1<0,05$) у порівнянні з початковими даними. При цьому значення РККн достовірно збільшувалось з 117,0±16,0% до 196,0±24,0% ($p<0,02$) у порівнянні з вихідними даними, можливо за рахунок системи L-аргінін – оксид азоту, яка вивільняє NO-релаксуючий фактор під впливом ацетилхоліну

(на M1 і M2 рецептори ендотелію при манжеточній пробі). Стосовно РККн відмічено тенденцію до його збільшення, але його значення все одно лишалось дещо нижче контрольних показників.

Цікавим фактом виявилась тенденція до зниження показника мікроциркуляції на пальцях нижніх кінцівок. Але за даними вейвлет-аналізу АmaxД достовірно збільшувалась з 0,18±0,04 пф. од. до 0,39±0,04 пф. од. ($p_1<0,01$) у порівнянні з вихідними даними, також мала місце тенденція до збільшення значення максимальної амплітуди ендотеліальних флаксмоцій. Такі зміни гемодинаміки свідчать про поліпшення стану мікрогемодинаміки за рахунок, в першу чергу, пасивних механізмів регуляції системи мікроциркуляції (АmaxД), а також активних – ендотеліального компоненту. Збільшення абсолютного значення ПМ слід пояснити загальним покращенням процесів мікроциркуляції у хворих з хронічною ішемією кінцівок після трансплантації мультипотентних стромальних клітин жирової тканини.

Висновки

1. У хворих на облітеруючі захворювання артерій нижніх кінцівок з наявністю хронічної ішемії кінцівок на тлі зниження рівня мікроциркуляції на відміну від показників здорових людей компенсаторно активізуються механізми регуляції мікроциркуляції (ендотеліальних, нейрогенний, міогенний), посилюється артеріо-венозне шунтування, знижуються ендотелій-залежний і ендотелій-незалежний резерви капілярного кровотоку.

2. При застосуванні трансплантації мультипотентних стромальних клітин жирової тканини через 1 місяць відмічається покращення мікроциркуляції за рахунок новоутворення капілярного русла, дилатації прекапілярних сфінктерів за рахунок зниження нейротонусу, посилення артеріо-венозного шунтування, покращення резерву капілярного кровотоку за рахунок поліпшення ендотелій-незалежної вазодилатації.

3. При подальшому спостереженні цих хворих через 3 місяці відмічається тенденція до подальшої нормалізації показників мікроциркуляції за рахунок покращення венулярного відтоку, а також поліпшення ендотелійзалежної вазодилатації, що відбувається за рахунок посилення впливу на мікрогемодинаміку активних і пасивних механізмів регуляції процесів капілярного кровотоку.

Список літератури

- Петренко Ю. О., Домбровський Д. Б., Салютін Р. В., Петренко О. Ю. Формування капілярноподібних структур стромальними клітинами жирової тканини і фетальної печінки людини в процесі культивування // Acta Medica Leopoliensia. – 2010. – Т. 16, № 1. – С. 39–45.
- Lee H C. Safety and Effect of Adipose Tissue-Derived Stem Cell Implantation in Patients With Critical Limb

- Ischemia / H C Lee, S G An, H W Lee, J S Park, K S Cha. // *Circulation Journal*. 2012 Apr 12. – p. 1–11.
3. Stefanovska A., Klermnno H. D., Kirkeboen K. A. Oscillations in the human cutaneous blood perfusion signal modified by endothelium-independent vasodilators // *Microvasc. Res.* – 1999. – Vol. 57, № 3. P. 298–311.
 4. Лазерная доплеровская флуориметрия микроциркуляции крови / Под ред. А. И. Крупаткина, В. В. Сидорова. – М.: Медицина. – 2005. – 254 с.
 5. Танканга А. В., Чемерис Н. К. Применение вейвлет-преобразования для анализа ЛДФ-грамм // Материалы 4 всероссийского симпозиума 14–16 мая 2002 года. Применение ЛДФ в медицинской практике. – Пущино. – 2002. – С. 28–38.
 6. Микроциркуляция в кардиологии. Под ред. членкор. РАМН проф. В. И. Маколкина // М.: «Визарт». – 2004. – 135 с.
 7. Лисин С. В., Чадаев А. П., Крупаткин А. И. и др. Состояние микроциркуляции при IV стадии хронической артериальной недостаточности нижних конечностей атеросклеротического генеза // *Ангиология и сосудистая хирургия* – 2008. – Т. 14, № 1. – С. 21–28.
 8. Bircher A. J., de Boer E. M., Agner T. et al. Guidelines for measurement of cutaneous blood flow by laser Doppler flowmetry // A report from the Standardization Group of the European Society of Contact Dermatitis. *Cont. Derm.* – 1994. – № 30. – P. 65–72.

Стаття надійшла до редакції 30.03.2014 р.

Р. В. Салютин, Д. Б. Домбровский, Л. А. Панченко, Е. В. Буслевич, В. М. Сірман, А. В. Закрутько
 Координаційний центр трансплантації органів, тканин і кліток МЗ України
 ГУ «Національний інститут хірургії і трансплантології ім. О. О. Шалимова НАМН України».

СОСТОЯНИЕ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ У БОЛЬНЫХ ОБЛИТЕРИРУЮЩИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ СОСУДОВ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ

Оценка параметров микроциркуляции у больных облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей в до- и послеоперационном периоде является достаточно важным фактором оценки состояния кровообращения больной конечности в процессе лечения. Сегодня в клинической практике применяются разные методы диагностики состояния кровообращения в конечностях, однако наиболее информативным и точным методом в определении состояния микроциркуляции является лазерная доплеровская флуориметрия. В работе проведена оценка состояния кровообращения на уровне микроциркуляторного русла у больных с хронической ишемией нижних конечностей различного генеза, которым была выполнена, в качестве метода непрямого реваскуляризации, трансплантация мультипотентных стромальных клеток аутологической жировой ткани в ишемизированную конечность.

Ключевые слова: ишемия конечности, лазерная доплеровская флуориметрия.

R. V. Salyutin, D. B. Dombrovsky, L. A. Panchenko, O. V. Buslovich, V. M. Sirman, O. V. Zakrutko
 Coordinating center of transplantation of organs, tissue and cells of MOH of Ukraine
 A. A. Shalimov National Institute of Surgery and Transplantology, National Academy of Medical Science of Ukraine

STATE OF MICROCIRCULATION FOR PATIENTS WITH THE OBLITERANS DISEASES OF VESSELS OF LOWER EXTREMITIES AT THE TERMS OF TRANSPLANTATION OF MULTIPOTENTIAL STROMAL CELLS OF FATTY TISSUE

Estimation of microcirculation parameters in patients with obliterating diseases of lower limb arteries in pre- and postoperative period is quite an important factor in assessing the state of blood circulation in the affected limb during treatment. Today in clinical practice use different methods of diagnosing the state of blood circulation in the limbs, but the most informative and accurate method for determining the state of the microcirculation in Laser Doppler Flowmetry is. In this paper we assess the state of circulation at the microvasculature in patients with chronic lower limb ischemia of various origins, which was performed as a method of indirect revascularization, transplantation of autologous multipotent stromal cells of adipose tissue in the ischemic limb.

Keywords: limb ischemia, Laser Doppler Flowmetry.