

УДК 616.13-002-008.847.9-008.9-089.843

*О.Б.Динник³, С.Є.Мостовий³, Д.Б.Домбровський¹, Р.В.Салютін^{1,2}***СТАН МІКРОЦИРКУЛЯЦІЇ У ХВОРИХ НА ОБЛІТЕРУЮЧІ ЗАХВОРЮВАННЯ СУДИН НИЖНІХ КІНЦІВОК ЗА УМОВ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ МУЛЬТИПОТЕНТНИХ СТРОМАЛЬНИХ КЛІТИН ЖИРОВОЇ ТКАНИНИ**¹Національний інститут хірургії та трансплантології ім. О.О.Шалімова АМН України²Координаційний центр трансплантації органів, тканини і клітин МОЗ України³Медичне науково-практичне об'єднання "Медбуд"

Резюме. Оцінка параметрів мікроциркуляції у хворих на облітеруючі захворювання артерій нижніх кінцівок в до- та післяопераційному періоді є досить важливим чинником оцінки стану кровообігу хворої ноги в процесі лікування. Найбільш інформативним та точним методом у визначенні стану мікроциркуляції є лазерна доплерівська флоуметрія. У роботі проведена оцінка

кровообігу на рівні мікроциркуляторного русла в осіб із хронічною ішемією нижніх кінцівок різного генезу, яким виконана, як метод непрямой ревазуляризації, трансплантація мультипотентних стромальних клітин автологічної жирової тканини в ішемізовану кінцівку.

Ключові слова: ішемія кінцівки, лазерна доплерівська флоуметрія.

Вступ. 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. Серйозною проблемою в застосуванні як прямих, а особливо, ревазуляризуючих оперативних втручань є адекватна оцінка мікроциркуляторного кровотоку в до- та, особливо, післяопераційному періоді. Для контролю ефективності методів оперативного лікування сьогодні застосовують ангиографію, визначення сегментарного тиску та дуплексне сканування артерій. Проте зазначені методи не дають уяви про стан мікроциркуляції в кінцівці і не дозволяють адекватно оцінити ефективність застосованої ревазуляризуючої методики. Відомо, що лазерна доплерівська флоуметрія є методом діагностики, що дозволяє визначити стан мікроциркуляції [1].

Лазерна доплерівська флоуметрія (ЛДФ) базується на оптичному зондуванні тканин монохроматичним сигналом та аналізі частотного спектра сигналу, відбитого від рухомих компонентів крові (еритроцитів), які мають доплерівський зсув частот. Джерелом світла флоуметра служить гелій-неоновий лазер із довжиною хвилі 630 нм (червоний спектр), 115 нм (інфрачервоний спектр). Випромінена хвиля такої довжини та інтенсивності не чинить ушкоджувальної 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 у поверхневих капілярах в об'ємі 1-1,5мм³ [2, 3].

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 визначати ефективність лікування.

Мета дослідження. 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.

Матеріал і методи. Дослідження стану мікроциркуляції в осіб із хронічною ішемією нижніх кінцівок за допомогою лазерної доплерівської флоуметрії (ЛДФ) проводилося на апаратному комплексі ЛАКК-02 ПП «Лазма» (Москва, Росія). Оцінка стану мікроциркуляції виконана за методикою А. Stefanovska et al. [4] в доповненні В.В. Сидорова [5], з обробкою даних за методом А.В. Танканага і Н.К. Чемерис [6]. І група (7 осіб) - хворі на облітеруючі захворювання судин нижніх кінцівок з наявністю хронічної ішемії кінцівок різного ступеня, у комплексному лікуванні яких застосовувалася трансплантація мультипотентних стромальних клітин власної жирової тканини. Мультипотентні стромальні клітини вводили внутрішньом'язово в зону ішемічного ураження кінцівки за власною методикою.

Як контроль – II група, обстежено 30 практично здорових волонтерів без ознак ураження судин нижніх кінцівок. У пацієнтів визначали гемодинамічний тип мікроциркуляції (ГТМ) за допомогою реєстрації фонового запису із зовнішньої поверхні дистальної третини лівого передпліччя (умови дослідження проведено згідно з рекомендаціями групи по стандартизації ЛДФ (European Contact Dermatitis Society, 1994) [6] визначали фоновий показник мікроциркуляції перед початком лікування – Мф, резерв капілярного кровотоку (РККо) при про-

веденні оклюзійної проби, аналогічний ендотелій-залежній вазодилатації за пробою Celermajer D.S. [1], а також при проведенні проби з нітрогліцерином – 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 залежно 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 показники 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 тонусу, виходячи із симпатичних периваскулярних нервових волокон, опосередковується через арте-

ріоли та артеріо-венулярні анастомози. У той же час прекапілярні сфінктери, що передують вхід у нутритивні капіляри, не мають симпатичної іннервації, а регулюються загалом міогенно, тобто внаслідок підвищення м'язового тонусу у відповідь на підвищення внутрішньосудинного тиску (ефект Бейліса) і навпаки. Враховуючи локалізацію нейрогенного (артеріоли та артеріо-венулярні анастомози) і міогенного (прекапілярні сфінктери) компонентів тонусу, можливо неінвазивно оцінити співвідношення шунтового та нутритивного кровотоку в системі мікроциркуляції. Для цього розраховували запропонований показник шунтування (ПШ) тканинного кровотоку, як співвідношення значення амплітуди нейрогенного ритму до амплітуди міогенного ритму мікроциркуляції [7].

У динаміці лікування хворих повторно обстежено з визначенням вищезгаданих показників через місяць та через три місяці після трансплантації.

Результати дослідження та їх обговорення.

У пацієнтів 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 $442,4 \pm 35,1$ у контролі. При цьому значення Мф, АмахЕ, АмахН і ПШ були більші в осіб із хронічною ішемією кінцівок: $7,04 \pm 1,05$; $0,84 \pm 0,12$; $0,90 \pm 0,11$ та $2,53 \pm 0,49$ у.о. проти $4,30 \pm 0,44$; $0,29 \pm 0,04$; $0,37 \pm 0,07$ та $1,13 \pm 0,14$ у.о., відповідно в контролі.

Таблиця

Розподіл показників лазерної доплерівської флоуметрії у динаміці

Параметри ЛДФ	до лікування n=7	1 міс. n=7	3 міс. n=7	Контроль n=33
Мф - показник мікроциркуляції фон. (пф.од.)	$7,0 \pm 1,05$ $p < 0,02$	$3,7 \pm 1,04$ $p_1 < 0,05$	$4,0 \pm 0,86$ $p_1 < 0,05$	$4,3 \pm 0,44$
РККо - резерв капілярного кровотоку оклюзивної проби (%)	$117,0 \pm 16,0$ $p < 0,001$	$146,0 \pm 22,0$ $p < 0,001$	$196,0 \pm 24,0$ $p < 0,002$ $p_1 < 0,02$	$310,6 \pm 15,4$
РККн - резерв капілярного кровотоку нітрогліцеринової проби (%)	$103,0 \pm 45,0$ $p < 0,001$	$229,0 \pm 39,0$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,05$	$291,0 \pm 31,0$ $p_1 < 0,01$	$442,4 \pm 35,1$
ПМ – показник мікроциркуляції 1 пальця стопи (пф.од.)	$9,1 \pm 3,61$	$13,4 \pm 4,72$	$13,9 \pm 6,43$	$14,1 \pm 2,99$
АмахЕ - максимальна амплітуда ендотеліальних флаксмоцій (пф.од.)	$0,8 \pm 0,12$ $p < 0,05$	$0,6 \pm 0,11$ $p < 0,002$	$1,1 \pm 0,16$ $p < 0,001$	$0,2 \pm 0,04$
АмахН - максимальна амплітуда нейрогенних флаксмоцій (пф.од.)	$0,9 \pm 0,11$ $p < 0,002$	$1,2 \pm 0,61$ $p < 0,01$	$0,4 \pm 0,11$	$0,3 \pm 0,07$
АмахМ - максимальна амплітуда міогенних флаксмоцій (пф.од.)	$0,2 \pm 0,03$	$0,3 \pm 0,07$	$0,3 \pm 0,04$	$0,3 \pm 0,03$
АмахД - максимальна амплітуда респіраторних флаксмоцій (пф.од.)	$0,1 \pm 0,04$	$0,2 \pm 0,03$	$0,3 \pm 0,04$ $p_1 < 0,01$	$0,2 \pm 0,02$
АмахС - максимальна амплітуда серцевих флаксмоцій (пф.од.)	$0,2 \pm 0,08$	$0,2 \pm 0,03$	$0,3 \pm 0,09$	$0,4 \pm 0,04$
ПШ - показник шунтування (у.о.)	$2,5 \pm 0,49$ $p < 0,001$	$2,4 \pm 0,34$ $p < 0,001$	$1,8 \pm 0,56$	$1,1 \pm 0,14$

Примітка. p – достовірність показників при порівнянні з контролем; p_1 – достовірність при порівнянні з даними до лікування

При аналізі показників ЛДФ у пацієнтів із хронічною ішемією кінцівок при трансплантації мультипотентних стромальних клітин власної жирової тканини до початку лікування було достовірно більшим значення Мф – показника мікроциркуляції на фоновому запису з передпліччя лівої руки $7,04 \pm 1,05$ проти $4,30 \pm 0,44$ у контролі ($p < 0,02$). Значення параметрів РККо і РККн достовірно менше у хворих до початку трансплантації клітин $117,0 \pm 16,0$ та $103,0 \pm 45,0$ проти $310,6 \pm 15,4$ та $442,4 \pm 35,1$ у контролі ($p < 0,001$). Це свідчить про переважання в цій групі хворих з гіперемічним гемодинамічним типом мікроциркуляції (2 осіб із застійним типом – 29 % і 5 осіб – 71 %, з гіперемічним типом мікроциркуляції), у контрольній групі достовірно переважав нормоциркуляторний тип мікроциркуляції. Тобто, у всіх 100 % осіб були ознаки ендотеліальної дисфункції. Значення ПМ у пацієнтів мало тенденцію до зниження. За даними вейвлет-аналізу у всіх осіб максимальна амплітуда ендотеліальних флаксмоцій - АmaxE була достовірно більшою $0,84 \pm 0,12$ проти $0,29 \pm 0,04$ у контролі ($p < 0,05$), а також АmaxH $0,90 \pm 0,11$ проти $0,37 \pm 0,07$ у контролі ($p < 0,002$). Це пов'язано із 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 більший у досліджуваній групі і складав $2,53 \pm 0,49$ проти $1,13 \pm 0,14$ у контролі ($p < 0,001$). Проте протягом процесу лікування мало місце зменшення показника шунтування і вже через 3 місяці цей показник перевищував контрольні дані, при цьому вірогідно не відрізняючись від показників групи порівняння.

При порівнянні параметрів ЛДФ у динаміці лікування через місяць після трансплантації мультипотентних стромальних клітин жирової тканини відмічається достовірне зменшення Мф $3,74 \pm 1,04$ проти $7,04 \pm 1,05$ пф.од. до лікування ($p_1 < 0,05$). При цьому значення РККн достовірно збільшувалось. Якщо на початку дослідження воно становило $103,0 \pm 45,0$ %, то через місяць цей показник – $229,0 \pm 39,0$ % ($p_1 < 0,05$). 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 вазоди-

латації, здебільшого, за рахунок зниження міотонусу і нейротонусу прекапілярів.

При порівнянні значень ЛДФ у пацієнтів із ішемією кінцівок до початку трансплантації стромальних клітин і через 3 місяці після лікування можна відмітити нормалізацію Мф з $7,04 \pm 1,05$ до $4,02 \pm 0,86$ пф.од. ($p_1 < 0,05$) порівняно з початковими даними. При цьому значення РККо достовірно збільшувалося з $117,0 \pm 16,0$ % до $196,0 \pm 24,0$ % ($p < 0,02$) порівняно з вихідними даними, можливо за рахунок системи L-аргінін – оксид азоту, яка вивільняє NO-релаксуючий чинник під впливом ацетилхоліну (на M1 і M2 рецептори ендотелію при манжеточній пробі). Стосовно РККн відмічено тенденцію до його збільшення, але його значення залишалось дещо нижчим контрольних показників.

Цікавим фактом виявилася тенденція до зниження показника мікроциркуляції на пальцях нижніх кінцівок. Але за даними вейвлет-аналізу, АmaxД достовірно збільшувалася з $0,18 \pm 0,04$ до $0,39 \pm 0,04$ пф.од. ($p_1 < 0,01$) порівняно з вихідними даними, також мала місце тенденція до збільшення значення максимальної амплітуди ендотеліальних флаксмоцій. Такі зміни гемодинаміки свідчать про поліпшення стану мікрогемодинаміки за рахунок, у першу чергу, пасивних механізмів регуляції системи мікроциркуляції (АmaxД), а також активних – ендотеліального компонента. Збільшення абсолютного значення ПМ слід пояснити загальним покращанням процесів мікроциркуляції в осіб із 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 компенсаторно активуються механізми її регуляції (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 місяць відмічається покращання мікроциркуляції.

3. Через ти місяці відмічається тенденція до подальшої нормалізації показників мікроциркуляції за рахунок покращання веноулярного відтоку, а також поліпшення ендотелійзалежної вазодилатації, що відбувається за рахунок посилення впливу на мікрогемодинаміку активних і пасивних механізмів регуляції процесів капілярного кровотоку.

Перспективи подальших досліджень. Проведення подальших досліджень мікроциркуляції у хворих на облітеруючі захворювання артерій кінцівок дозволить глибше зрозуміти патогенетичні процеси, що відбуваються на рівні мікроциркуляторного русла при застосуванні різних методів лікування.

Література

1. Celermajer D.S. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis / D.S.Celermajer // Lancet. – 1992. – Vol. 340. – P. 1111-1115.
2. Микроциркуляция в кардиологии / Под ред. чл.-кор. РАМН проф. В.И.Маколкина. – М.: Визарт, 2004. – 135 с.
3. Guidelines for measurement of cutaneous blood flow by laser Doppler flowmetry / A.J.Bircher, E.M.de Boer, T.Agner [et al.] // A report from the Standardization Group of the European Society of Contact Dermatitis. Cont. Derm. – 1994. – № 30. – P. 65-72.
4. Stefanovsca A. Oscilations in the human cutaneous blood perfusion signal modified by endothelium-independent vasodilators / A.Stefanovsca, H.D.Klernmno, K.A.Kirkeboen // Microvasc. Res. – 1999. – Vol. 57, № 3. – P. 298-311.
5. Лазерная доплеровская флуометрия микроциркуляции крови / Под ред. А.И.Крупаткина, В.В.Сидорова. – М.: Медицина, 2005. – 254 с.
6. Танканаг А.В. Применение вейвлет-преобразования для анализа ЛДФ-грамм / А.В.Танканаг, Н.К.Чемерис // Матер. 4 Всероссий. симпозиума 14-16 мая 2002 года. Применение ЛДФ в медицинской практике. – Пушкино, 2002. – С. 28-38.
7. Состояние микроциркуляции при IV стадии хронической артериальной недостаточности нижних конечностей атеросклеротического генеза / С.В.Лисин, А.П.Чадаев, А.И.Крупаткин [и др.] // Ангиология и сос. хирургия. – 2008. – Т. 14, № 1. – С. 21-28.

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

О.Б.Дынник, С.Е.Мостовой, Д.Б.Домбровский, Р.В.Салютин

Резюме. 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. Наиболее информативным и точным методом в определении состояния микроциркуляции является лазерная доплеровская флуометрия. 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 непрямої реваскуляризації, трансплантация мультипотентных стромальных клеток аутологической жировой ткани в ишемизированную конечность.

Ключевые слова: ишемия конечности, лазерная доплеровская флуометрия.

**THE STATE OF MICROCIRCULATION IN PATIENTS WITH OBLITERANS DISEASES
OF THE VESSELS OF THE LOWER EXTREMITIES WHILE TRANSPLANTATING
MULTIPOTENTIAL STROMAL CELLS OF THE FATTY TISSUE**

O.B.Dynnyk, S.E.Mostovyi, D.B.Dombrovskiy, R.V.Saliutin

Abstract. An estimation of the microcirculation parameters in patients with obliterating diseases of the arteries of the lower extremities during the pre- and postoperative period is a very important factor of evaluating the state of the blood circulation of the affected extremity in the process of treatment. The most informative and exact method of determining the state of the microcirculation is laser Doppler fluometry. The paper deals with an evaluation of the blood circulation condition at the level of the microcirculatory blood stream in patients with chronic ischemia of the lower extremities of diverse genesis who underwent, as a method of indirect revascularization, a transplantation of multipotential stromal cells of the autologous fatty tissue into an ischemized extremity.

Key words: ischemia of extremity, laser Doppler fluometry.

National institute of Surgery and Transplantology named after O.O.Shalimov of Ukraine's AMS
Co-ordinating Center of Transplantation of Organs, Tissues and Cells of Ukraine's MHP
Medical Scientific-Practical Association "Medbud"

Рецензент – д. мед.н. В.В.Білоокий

Buk. Med. Herald. – 2010. – Vol. 14, № 2 (54). – P. 41-44

Надійшла до редакції 9.03.2010 року