

## Непрямая реваскуляризация у больных с критической ишемией нижних конечностей на фоне сахарного диабета

Ю. В. Иванова<sup>1</sup>, И. А. Криворучко<sup>1</sup>, В. А. Прасол<sup>1</sup>, К. В. Мясоедов<sup>1</sup>, С. А. Андреещев<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Харьковский национальный медицинский университет,

<sup>2</sup>Национальный университет здравоохранения Украины имени П. Л. Шупика, г. Киев

## Indirect revascularization in patients, suffering critical ischemia of the lower extremities on background of diabetes mellitus

Yu. V. Ivanova<sup>1</sup>, I. A. Kryvoruchko<sup>1</sup>, V. A. Prasol<sup>1</sup>, K. V. Miasoiedov<sup>1</sup>, S. A. Andreieshchev<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kharkov National Medical University,

<sup>2</sup>Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Kyiv

### Реферат

**Цель.** Определение клинической эффективности трансплантации мезенхимальных стволовых клеток в лечении пациентов с критической ишемией нижних конечностей.

**Материалы и методы.** Обследовано 11 пациентов с критической ишемией нижних конечностей на фоне сахарного диабета 2-го типа с гнойно-некротическими процессами на стопе, у которых отсутствовали условия для прямой реваскуляризации конечности. Больным проводили микробиологический мониторинг раневого отделяемого, определение лодыжечно-плечевого индекса, транскутанную оксиметрию.

Разработанная технология лечения включала два этапа. На первом этапе проводили санацию гнойного очага (у всех больных выполнена ампутация дистальных отделов стопы с сохранением артериальной дуги). Второй этап: терапия ран отрицательным давлением, инъекции клеточной суспензии (мезенхимальных стволовых клеток) при помощи длинной тонкой канюли под апоневроз в мышцы вдоль облитерированных сосудов в количестве (10 ± 5) мл с последующим закрытием раневой поверхности фибробластным матриксом.

**Результаты.** Через год после лечения рецидив критической ишемии отмечен у 1 пациента, ишемия III степени – у 3 пациентов, ишемия II степени сохранялась у 7 пациентов.

**Выводы.** Выполнение непрямой реваскуляризации с использованием аутологичных мезенхимальных стволовых клеток является эффективным и безопасным.

**Ключевые слова:** критическая ишемия нижних конечностей; непрямая реваскуляризация; мезенхимальные стволовые клетки; клеточная трансплантация.

### Abstract

**Objective.** Determination of clinical efficacy of the mesenchymal stem cells transplantation in patients, suffering critical ischemia of the lower extremities on background of diabetes mellitus.

**Materials and methods.** There were examined 11 patients, suffering critical ischemia of the lower extremities on background of diabetes mellitus Type II with purulent-necrotic processes of the foot, in whom conditions for the direct revascularization of extremity were absent. Microbiological monitoring for the wound discharge, determination of the ankle brachial index and transcutaneous oximetry was performed. The technology elaborated have consisted of two stages. On the first of them a purulent focus sanitation (in all the patients the distal amputations of the foot, preserving arterial arch) was done. On the second stage the therapy of the wounds was conducted, using negative pressure, injections of cellular suspension (mesenchymal stem cells) while applying long fine cannula under aponeurosis into the muscles along obliterated vessels in the (10 ± 5) ml quantity with subsequent closure of the wound surface, using fibroblastic matrix.

**Results.** In a year after the treatment critical ischemia in 1 patient was noted, the ischemia Grade III – in 3, and in 7 a IIB Grade have persisted.

**Conclusion.** Performance of indirect revascularization, using autologous mesenchymal stem cells, constitutes an effective and secure procedure.

**Keywords:** critical ischemia of the lower extremities; indirect revascularization; mesenchymal stem cells; cellular transplantation.

Оптимальным методом лечения больных с критической ишемией нижних конечностей (КИНК) в настоящее время остается прямая реваскуляризация конечности – шунтирующие операции, хирургическая и эндоваскулярная ангиопластика. Тем не менее, результаты хирургической реваскуляризации нельзя считать удовлетворительными, так как успешными являются 57 – 75% оперативных вмешательств, что обусловлено многоуровневым или «нереконструктабельным» поражением магистральных ар-

терий конечностей. Особенно это касается окклюзионно-стенозированных поражений дистального русла: лишь у 23 – 57% таких пациентов удастся выполнить прямую реваскуляризацию, а у 16% выполняют первичную ампутацию, которая сопровождается высокой (21 – 44%) летальностью [1].

Предотвращению выполнения «высокой» ампутации в значительной степени способствует непрямая реваскуляризация. Данное направление, бурно развивающееся с 80–

х годов XX столетия, получило новый толчок благодаря развитию терапевтического ангиогенеза в XXI веке [2, 3].

Большое внимание в настоящее время уделяется определению места не прямых методов реваскуляризации – поясничной симпатэктомии (ПСЭК), реваскуляризационной остеотрансплантации (РОТ), аутоотрансплантации сальника и др. – в лечении КИНК. Это в первую очередь касается больных с атеросклерозом артерий голени, сосудистое русло которых не отвечает резко увеличенному объему крови, поступающему после реваскуляризации. У пациентов, у которых отсутствует воспринимающее сосудистое русло или есть противопоказания к реконструктивным операциям, единственным возможным выходом остается стимуляция коллатерального кровотока, а методы не прямой реваскуляризации становятся единственным приемлемым вариантом оказания помощи. Неудовлетворительные результаты прямых реконструктивных операций при практически полном отсутствии «путей оттока» на голени привели к поиску путей реваскуляризации конечности, направленных на стимуляцию периферического кровообращения и микроциркуляции. Наряду с ПСЭК, находящейся в арсенале ангиохирургов уже 80 лет, используются и кортикотомия по Г. А. Илизарову, и РОТ. Операция РОТ рассчитана на активизацию костномозгового кровотока, раскрытие и улучшение функции параоссальных, мышечных и кожных коллатералей и показана больным с дистальной формой поражения артерий, когда ни одна реконструктивная операция не может быть выполнена. Наилучшие результаты получены авторами у больных с хронической ишемией IIБ и III стадий. Операция эффективна при дистальных и диффузных формах атеросклероза и воспалительных заболеваниях, если невозможно выполнение реконструкции сосудов [4 – 6].

Еще в начале прошлого века были сделаны попытки артериализировать ишемизированную конечность через венозную систему путем формирования артериовенозного свища на бедре (SanMartin, 1902; Jabonley, 1903). А в 1977 г. А. Г. Шелл применил шунтирование тыльной венозной дуги стопы и добился положительных результатов у 50% больных с КИНК. Подобные операции внедрили Б. Л. Гамбарин (1987), А. В. Покровский, А. Г. Хоровец, А. В. Гавриленко (1988). Выполнение артериализации венозного кровотока при КИНК, обусловленной окклюзией дистального сосудистого русла, позволяет у 63,5% больных сохранить конечность в сроки до 5 лет. В то же время при консервативном лечении сохранность конечности в сроки до 5 лет отмечена у 35 – 40% аналогичных больных [2, 6]. К сожалению, эффект данной операции до сих пор окончательно не изучен.

В настоящее время не существует единой точки зрения на целесообразность выполнения ПСЭК. Однако исследователи едины во мнении, что десимпатизация конечности оказывает патогенетическое влияние на течение облитерирующего заболевания. Существует также мнение, что ПСЭК и формирование артериовенозного соустья, допо-

лняющие бедренно–тибиальное шунтирование, способствуют улучшению функционирования шунтов в отдаленные сроки после операции. После ПСЭК сохранность конечности отмечена у 25 – 87% больных [7, 8].

Одним из новых путей в лечении данной группы пациентов может быть использование генно–инженерных технологий, направленных на обеспечение эффективного неоангиогенеза в пораженных конечностях. Опыт зарубежных коллег и отечественных исследователей показывает возможности терапевтического ангиогенеза как метода, способствующего сохранению конечности, увеличивающего дистанцию безболевого ходьбы и улучшающего показатели качества жизни намного эффективнее, чем стандартная фармакотерапия. Концепция терапевтического ангиогенеза берет свое начало от инновационных работ J. Folkman в 70–х гг. прошлого века, который заметил, что развитие и поддержание достаточного количества микрососудов имеет важное значение для роста тканей. Вскоре после идентификации ангиогенных факторов роста исследователи начали проверять гипотезу улучшения кровоснабжения в ишемизированных тканях независимо от операций на сосудах посредством белковой и генной стимуляции ангиогенеза, в том числе и путем развития коллатеральных сосудов вокруг зоны окклюзии [9 – 11].

Основными молекулярными факторами, инициирующими и контролируемыми рост сосудов, являются в большей степени различные виды сосудистых эндотелиальных факторов роста (vascular endothelial growth factor), в меньшей степени – иные паракринные факторы регуляции клеточного метаболизма, например факторы роста фибробластов (fibroblast growth factor). Перенос генов данных факторов в клетки ишемизированных тканей вызывает индукцию синтеза закодированных ими ангиогенных молекул и, как следствие, может инициировать рост и развитие сосудов [10].

Одно из направлений современных исследований – использование клеточных технологий с целью активации процессов ангиогенеза на уровне коллатеральной артериальной сети, а именно при помощи введения стромальных аутологичных стволовых клеток костного мозга и жировой ткани сосудов [11, 12].

В работах Р. В. Салютина и соавторов убедительно доказана высокая эффективность трансплантации прогениторных клеток фетальной печени как метода не прямой реваскуляризации нижних конечностей в лечении больных с «нереконструктабельным» поражением периферического артериального русла. Однако критерием исключения пациентов из исследования являлось наличие гнойно–некротических поражений стопы [13, 14].

Цель исследования: определение клинической эффективности трансплантации мезенхимальных стволовых клеток в лечении пациентов с КИНК.

### **Материалы и методы исследования**

Исследуемую группу составили 11 пациентов мужского пола с ишемией IV степени по Покровскому – Фонтейну

на фоне сахарного діабета (СД) 2-го типу, которые находились на лечении в отделении острых заболеваний магистральных сосудов Института общей и неотложной хирургии имени В. Т. Зайцева НАМН Украины в 2019 – 2020 гг.

На момент госпитализации больных обследовали по стандартному алгоритму: общеклиническое обследование, доплерография, рентгенконтрастная ангиография, спиральная компьютерная томографическая ангиография, рентгенография стопы в двух проекциях. Также проводилось анкетирование с использованием опросников «Quality of Life Index» и «Walking Impairment Questionnaire».

**Критерии включения пациентов в исследование:** отсутствие показаний к выполнению прямой реваскуляризации, окклюзия дистального артериального сегмента и/или наличие мультифокального поражения артериального русла, сочетающегося с «нереконструктабельным» поражением периферического русла, хроническая ишемия IV степени с наличием гнойно-некротических процессов на стопе, отсутствие онкопатологии в анамнезе и отрицательные онкомаркеры.

**Критерии исключения пациентов из исследования:** наличие показаний к прямой реваскуляризации, наличие цитомегаловирусной инфекции, поражение пяточной области, онкологический анамнез, повышение уровня онкомаркеров.

У всех исследуемых пациентов констатировали невозможность выполнения реконструктивно-восстановительных операций на артериальном русле нижней конечности. По локализации облитерирующего поражения пациенты были распределены следующим образом: подвздошно-бедренно-берцовый сегмент – 1, бедренно-берцовый – 2, подколенно-берцовый – 3, берцово-стопный – 5.

Микробиологический мониторинг раневого отделяемого проводили по стандартным методикам, возбудителей идентифицировали по морфологическим, тинкторальным, культуральным, биохимическим свойствам и признакам патогенности, придерживаясь положений классификации Берги (2011). Антибиотикочувствительность бактерий оценивали в соответствии с МУК 4.2.1890–04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам». Антибактериальная терапия (АБТ) назначалась с учетом чувствительности идентифицированной микрофлоры.

У пациентов определяли лодыжечно-плечевой индекс (ЛПИ) на аппарате «Dopplex» (Германия), транскутанное напряжение кислорода ( $TCO_2$ ) в тканях при помощи оксимонитора TCM-4 («Radiometer», Дания). Ангиографию по Seldinger выполняли на аппарате «Philips Integris Allura» (Голландия).

Терапия отрицательным давлением (Negative Pressure Wound Therapy – NPWT) проводилась на аппарате «HEACO» (Великобритания) в непрерывном режиме с отрицательным давлением 125 мм рт. ст. Повязки меняли через 48 – 72 ч.

Разработанная технология лечения заключалась в следующем. На первом этапе лечения проводили санацию гнойного очага (у всех больных выполняли ампутацию дистальных отделов стопы, сохраняя артериальную дугу стопы, при этом у большинства больных была выполнена «гильотинная» ампутация). После чего (при достижении тщательного гемостаза) проводили NPWT до появления грануляций. Одновременно выполняли инъекции клеточной суспензии небольшими порциями при помощи длинной тонкой канюли под апоневроз в мышцы вдоль облитерированных сосудов. Вводили ( $10 \pm 5$ ) мл клеточной суспензии. Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) получали из периферической крови пациента методом магнитной сепарации и культивировали их. Обязательными были контроль качества и инфекционный контроль полученного материала. После созревания грануляционной ткани на втором этапе лечения выполняли закрытие раневой поверхности фибробластным матриксом (рис. 1) с целью предотвращения вторичного инфицирования, стимуляции роста соединительной (грануляций) ткани в ране и создания условий для заживления ее путем раневой контракции. Получали МСК и выращивали мембраны в лаборатории Института клеточной биореабилитации МЗ Украины (г. Харьков).

Мембрана для закрытия раневых поверхностей состоит из двух основных частей: эпителия и мезодермы, разделенных базальной мембраной. Мезодерма состоит из фибробластов и ретикулярного слоя, содержащих hMCs. Суммируется потенциал дифференцировки hECs и hMCs в три зародышевых слоя, в частности, эктодерму, мезодерму и энтодерму. МСК выделяли из периферической крови методом магнитной сепарации в используемой автоматической системе AutoMACS, высевая 50 000 моно-

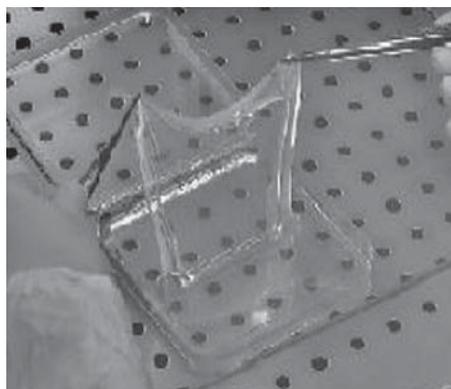


Рис. 1.  
 Фибробластный матрикс.

нуклеарных клеток на см<sup>2</sup> в среде RPMI (1x) + GlutaMAX (Gibco Life Technologies, Канада), с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки (Thermo Fisher Scientific) в CELL-disc™ – поверхности клеточных культур от 1000 см<sup>2</sup> до 1 м<sup>2</sup>. Культуры инкубировали при температуре 37 °С, концентрации O<sub>2</sub> 20%, CO<sub>2</sub> 5% с использованием автоматической системы Fibra Stage (New Brunswick Scientific, США). Средние измерения выполняли два раза в неделю. Через 2 нед после первоначального посева первичные колонии МСК отделяли с помощью 10–минутной инкубации при температуре 37 °С с 0,05% раствором трипсина–ЭДТА (Gibco Life Technologies, Канада) и повторно высевали с плотностью 4200 клеток на см<sup>2</sup> в той же среде. Во всех экспериментах использовали МСК шестого пассажа.

Характеристика и стандартизация МСК заключались в том, что клетки «прилипают» к пластику и имеют форму веретена, экспрессию антигенных маркеров (CD73+, CD90+, CD105+ и CD45–, CD34–, CD14–, CD79–) на их поверхности и потенциал дифференцировки.

Все больные, помимо коррекции гликемического профиля, получали стандартный курс сосудистой терапии в условиях стационара, который включал: пентоксифиллин 200 мг (10 внутривенных введений), никотиновую кислоту 20 мг (2 раза в сутки внутримышечно), трентал 400 мг (3 раза в сутки per os), аспирин (100 мг в сутки per os), статины. Из немедикаментозных средств рекомендовали нагрузочную ходьбу (3–5 км в день). На амбулаторном этапе пациентам назначали пентоксифиллин (в суточной дозе 1000–1200 мг) или клопидогрель (75 мг в сутки), статины, антиатеросклеротическую диету, дозированную нагрузочную ходьбу. Рекомендовался категорический отказ от курения.

Главным критерием эффективности выбрано изменение дистанции безболевого ходьбы, что является основополагающим элементом классификации хронических облитерирующих заболеваний конечностей, критерием оценки качества жизни пациентов. Этот показатель определялся при проведении тредмил–теста: ходьба по ровной дорожке (угол наклона 0°) со скоростью движения дорожки 3 км/ч.

Через 1, 3, 6, 12 мес после клеточной трансплантации больные проходили контрольное обследование, идентичное первичному (за исключением ангиографии, которая проводилась через 6 и 12 мес).

Всеми пациентами было подписано соглашение об участии в исследовании.

Накопление, систематизация исходной информации и визуализация полученных результатов осуществлялись в электронных таблицах Microsoft Office Excel 2010. Данные приведены в виде абсолютных чисел, средних арифметических величин, стандартной ошибки средней величины. Для сравнения изменений в ходе лечения применяли критерий Уилкоксона (p<0,05) с помощью программы Statistica 10.0.

## Результаты

Средний возраст пациентов – (65,5±3,6) года, длительность СД – (11 ± 1,6) года. Показатели ЛПИ у пациентов исходно составляли 0,34 ± 0,91, TCO<sub>2</sub> – (16,91 ± 1,43) мм рт. ст. Видовой состав микрофлоры ран был следующим: S. aureus – 66,7% наблюдений; St. epidermicus – 23,3%; Ps. aeruginosa – 6,6%; микробные ассоциации – 0,4% со средней колонизацией 7,42 × 10<sup>7</sup> колониеобразующих единиц (КОЕ)/мл.

Начиная с 2–3-х суток лечения пациенты отмечали положительную клиническую динамику: улучшалось общее состояние, нормализовались температура тела и лабораторные показатели, уменьшился, а в последующем полностью исчез болевой синдром. ЛПИ через 1 мес повысился с 0,34 ± 0,11 до 0,51 ± 0,12 (z = –2,9341, p=0,00169), то есть повышение этого показателя было несущественным, в последующие сроки наблюдения сохранялась та же тенденция. При этом уже через 1 мес после клеточной трансплантации показатель TCO<sub>2</sub> повысился до (21,3 ± 0,66) мм рт. ст. (p=0,00338).

После демонтажа вакуумной системы степень контаминации снизилась и была ниже критических значений (<10<sup>3</sup> КОЕ/мл), что позволило закрыть раневую поверхность фибробластным матриксом. В дальнейшем проводились перевязки с порошковыми сорбентами. Следует отметить, что ни у одного больного не потребовалось смены режима АБТ или назначения повторных курсов.

Начиная с 3–й недели после клеточной трансплантации постепенно увеличивалась дистанция безболевого ходьбы (в 2,5 раза). У всех исследуемых пациентов через 1–3 мес после начала лечения отмечалось изменение степени ишемии (см. таблицу).

Анализ результатов лечения показал, что через 1 мес наблюдения IV степень ишемии снизилась до III, а наилучшие клинические результаты нами были отмечены через 6 мес после клеточной трансплантации. Через год после клеточной трансплантации рецидив критической ише-

**Динамика степени ишемии конечности в посттрансплантационном периоде у исследуемых пациентов (n = 11)**

Степень ишемии (по Покровскому – Фонтейну)	Исходный показатель	Сроки исследования, мес			
		1	3	6	12
II А	-	-	2	5	-
II Б	-	-	6	5	7
III	-	11	3	1	3
IV	11	-	-	-	1

мии был у 1 пациента, ишемия III степени отмечена у 3 пациентов, что потребовало проведения повторных курсов лечения, ишемия II Б степени сохранялась у 7 пациентов.

Результаты контрольной ангиографии (через 6 и 12 мес наблюдения) свидетельствовали о развитии коллатерального кровотока вдоль облитерированных артерий, то есть в зоне клеточной трансплантации.

Анализ субъективного статуса пациентов показал, что в течение всего периода наблюдения (начиная с ранних сроков) пациенты отмечали улучшение общего самочувствия и психоэмоционального состояния, повышение физической активности. Такая тенденция сохранялась в течение 12 мес, после чего указанные параметры начинали постепенно снижаться. Индекс качества жизни до начала лечения составлял  $(4,11 \pm 0,15)$  балла, к 3-му месяцу наблюдения повышался в 1,15 раза, составляя  $(4,73 \pm 0,05)$  балла, а через 12 мес – в 1,5 раза, составляя  $(6,12 \pm 0,11)$  балла ( $p < 0,05$ ).

За период динамического наблюдения ни у одного пациента осложнений в виде некроза в зоне введения клеточных трансплантатов, аллергических реакций, а также гнойно-воспалительных осложнений нами не отмечено. Приводим клиническое наблюдение.

Пациент Г, 46 лет, поступил через 6 мес после начала заболевания с явлениями облитерирующего атеросклероза, хронической ишемии IV степени на фоне СД 2-го типа (рис. 2).

По месту жительства выявлено двухуровневое поражение магистральных артерий, выполнено бедренно-подколенное шунтирование синтетическим протезом, вскрытие флегмоны стопы, ампутация V пальца. Проводимое лечение без эффекта.

На момент поступления в отделение состояние больного ближе к тяжелому, беспокоит выраженная боль в покое в левой стопе и голени, усиливающаяся в ночное время. В ургентном порядке выполнена дистальная «гильотинная» ампутация левой стопы. Смонтирована вакуумная система. По данным ангиографии выявлена окклюзия передней и задней берцовых артерий, попытка реваскуляризации успехом не увенчалась (рис. 3).

Выполнена трансплантация МСК (5 000 000 мл) в мышцы голени в проекции облитерированных передней и задней берцовых артерий. На 9-е сутки выполнен демонтаж вакуумной системы – костные опилы выполнены грануляциями. Контрольный бактериальный посев раневого отделяемого роста не дал. Раневая поверхность закрыта фибробластным матриксом, выращенным из аутологических МСК, конгруэнтно поверхности раны (рис. 4).

Пациент выписан для прохождения дальнейшего амбулаторного лечения на 30-е сутки. Рана эпителизовалась полностью к 75-м суткам лечения. Пациент социально адаптирован, вернулся к привычному труду.



Рис. 2.  
 Флегмона стопы у пациента Г, 46 лет.

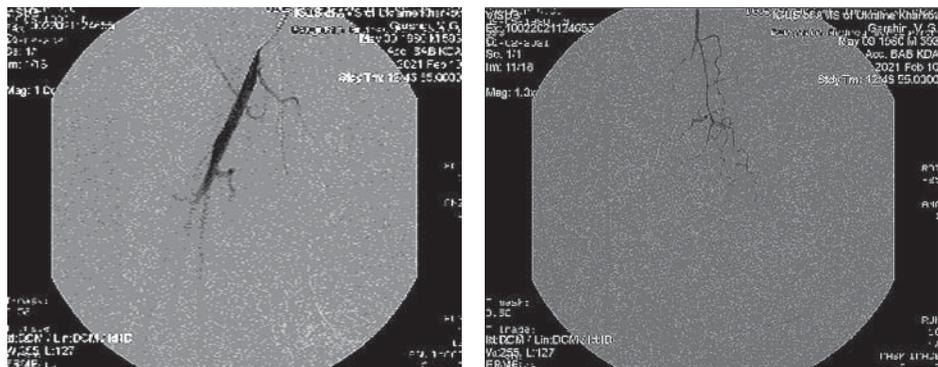
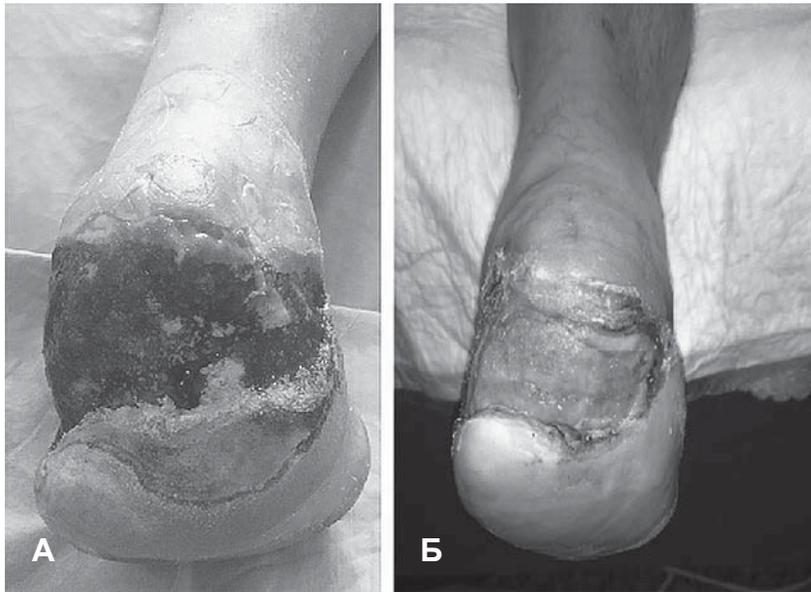


Рис. 3.  
 Результаты ангиографического исследования.



*Рис. 4.*  
*Культя левой стопы:*  
*А – после демонтажа ВАК-системы;*  
*Б – на 15-е сутки после трансплантации*  
*фибробластного матрикса.*

### **Обсуждение**

Положительный эффект разработанной методики лечения хронической критической ишемии конечностей у пациентов с СД и «нереконструктабельным» поражением дистального артериального русла с использованием NPWT, трансплантации МСК по ходу облитерированных сосудов и закрытия раневой поверхности фибробластным матриксом сохранялся на протяжении года. В течение всего периода наблюдения пациенты отмечали улучшение качества жизни, повышение трудоспособности, увеличение дистанции безболевого ходьбы. Первые признаки «замирания» клинического состояния у пациентов отмечены через 12 мес после лечения. При этом результаты общеклинического обследования коррелировали с данными инструментальных исследований. Однако необходимо отметить, что показатели регионарной гемодинамики в течение всего периода наблюдения достоверно не повышались, что объясняется процессами новообразования микроциркуляторного русла, а не восстановления магистрального кровотока, о чем может свидетельствовать достоверное повышение показателей ТСО<sub>2</sub>. Степень ишемии уменьшилась, на наш взгляд, благодаря не только активации процессов ангиогенеза, но и опосредованно стимуляции собственного тканевого ангиогенеза. На момент госпитализации у исследованных пациентов с хронической критической ишемией отмечали снижение уровня микроциркуляции и признаки компенсаторного ответа (активация эндотелиальных, нейрогенных, миогенных механизмов регуляции микроциркуляции), усиление артериовенозного шунта, снижение эндотелийзависимого и эндотелийнезависимого резервов капиллярного кровотока [15, 16]. Улучшение состояния больных в раннем (через 1 мес) посттрансплантационном периоде можно объяснить улучшением микроциркуляторных показателей за счет функционирования новообразованного микроциркуляторного русла, дилатации прекапиллярных сфинктеров (за счет снижения нейрото-

нуса), усиления артериовенозного шунтирования и увеличения резерва капиллярного кровотока (за счет улучшения эндотелийзависимой вазодилатации). Через 3 – 6 мес отмечается стойкая тенденция к дальнейшей нормализации состояния микроциркуляторного русла за счет улучшения веноулярного оттока и повышения эндотелийзависимой вазодилатации (через активацию активных и пассивных механизмов регуляции процессов капиллярного кровотока). К 12 мес наблюдения показатели процессов микроциркуляции имеют тенденцию к «замиранию» и формированию стойкого позитивного уровня капиллярного кровотока [17 – 19].

Внедрение разработанной методики позволило существенно снизить развитие тяжелой ишемии и сохранить опорную функцию конечностей, что способствовало повышению социальной реабилитации пациентов. Данная технология не требует особых условий и рентгеноперационной в отличие от внутриартериального пути введения, который, кроме того, может вызвать развитие тромботических осложнений. Известно также, что при использовании этого пути введения клеточного трансплантата около 70 – 90% клеток погибает, не достигая патологического очага, а в принимающем сосуде отмечается гипертрофия эндотелиального слоя [19].

### **Выводы**

Использование в послеоперационном периоде метода NPWT с закрытием ран фибробластным матриксом позволило дистализировать уровень высокой ампутации стопы и сократить сроки лечения ран. Выполнение непрямой реваскуляризации с использованием аутологичных МСК эффективно и безопасно, а наиболее оптимальным путем введения МСК является локальная трансплантация в ишемизированную конечность.

**Финансирование.** Данное исследование является фрагментом научно-исследовательской работы

«Разработка хирургических технологий диагностики и лечения заболеваний и повреждений органов пищеварения с использованием гибридных (открытых и малоинвазивных) операций». Номер государственной регистрации 0119U002909 (2019-2023 гг.). Финансирование из государственного бюджета.

**Вклад авторов.** Все авторы внесли одинаковый вклад в эту работу.

**Конфликт интересов.** Авторы, участвовавшие в этом исследовании, заявили об отсутствии конфликта интересов в отношении этой рукописи.

**Согласие на публикацию.** Все авторы прочитали и одобрили окончательную рукопись. Все авторы дали согласие на публикацию этой рукописи.

## References

- Gavrilenko AV, Skrilev SI. Arterialization of the venous blood flow of the leg and foot is an alternative method for saving the limb. In: Materials of the 16th International Conference "New in Angiology and Vascular Surgery". Moscow, November 21–3, 2005. Angiology and vascular surgery. 2005; 2 (suppl):86. Russian.
- Gavrilenko AV, Skrylev SI, Kuzubova EA. Quality of life assessment in patients with critical lower limb ischemia. Angiology and Vascular Surgery. 2001;7(3):8–14. Russian.
- Varaksin VA. Surgical treatment of patients with obliterating lesions of the arteries of the distal parts of the lower extremities. PhD(Med) [thesis]. Yaroslavl;1994. 20 p. Russian.
- Egorov AA. Clinical and pathogenetic aspects of revascularizing osteotherapy operation in patients with obliterating atherosclerosis of the arteries of the lower limbs. PhD(Med) [thesis]. Ryazan: RGMU;2007.21 p. Russian.
- Zusmanovich FN, Dmitriev VM. Indications and contraindications for revascularizing osteotripanation (ROT) in the treatment of chronic arterial insufficiency of the extremities. Angiology and Vascular Surgery. 1995;1(2):11. Russian.
- Bel'kov IuA, Kyshtymov SA, Bogdanova MG, Dudnik AV. Revascularizing osteotripanation in combined surgical treatment of chronic lower limb ischemia. Khirurgiia (Mosk). 2004;(9):14–6. Russian. PMID: 15477805.
- Kislov EE, Panfilov CD, Zoloev GK, Dedikova TN, Koval OA. Comparative assessment of methods used for predicting efficiency of lumbar sympathectomy in patients with lower-limb critical ischaemia. Angiology and Vascular Surgery. 2009;15(1):138–41. Russian.
- Egorova NN, Guillerme S, Gelijns A, Morrissey N, Dayal R, McKinsey JF, et al. An analysis of the outcomes of a decade of experience with lower extremity revascularization including limb salvage, lengths of stay, and safety. J Vasc Surg. 2010 Apr;51(4):878–85, 885.e1. doi: 10.1016/j.jvs.2009.10.102. Epub 2010 Jan 4. PMID: 20045618.
- Wong G, Li JM, Hendricks G, Eslami MH, Rohrer MJ, Cutler BS. Inhibition of experimental neointimal hyperplasia by recombinant human thrombomodulin coated ePTFE stent grafts. J Vasc Surg. 2008 Mar;47(3):608–15. doi: 10.1016/j.jvs.2007.11.025. PMID: 18295112.
- Powell RJ, Simons M, Mendelsohn FO, Daniel G, Henry TD, Koga M, et al. Results of a double-blind, placebo-controlled study to assess the safety of intramuscular injection of hepatocyte growth factor plasmid to improve limb perfusion in patients with critical limb ischemia. Circulation. 2008 Jul 1;118(1):58–65. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.727347. Epub 2008 Jun 16. PMID: 18559703.
- Kosenkov AN, Cherepanin AI, Udovichenko SV. Hronicheskaya kriticheskaya ishemiya nizhnih konechnostey i saharniy diabet u lits pozhilogo i starcheskogo vozrasta. Klin. gerontol. 2007;5:34–8.[In Russian].
- Lachmann N, Nikol S. Therapeutic angiogenesis for peripheral artery disease: stem cell therapy. Vasa. 2007 Nov;36(4):241–51. doi: 10.1024/0301-1526.36.4.241. PMID: 18357916.
- Salyutin RV. Using cell indirect revascularization for chronic limb ischemia. Bukovinian Medical Herald. 2014;18(1):95–8. Ukrainian. doi: 10.24061/91610.
- Poliachenko YuV, Salutin RV, Palianitsa SS, Martynenko SI, Sokolov NF, Shablyi VA, et al. Efficiency of transplantation of progenitory cells of fetal liver as method of indirect revascularization of inferior limbs. Medicine today and tomorrow. 2011;(1–2):237–41. Ukrainian.
- Grigorian AS, Shevchenko KG. Some possible molecular mechanisms of vegf encoding plasmids functioning. Cell transplantation and tissue engineering. 2011;6(3):24–8. Russian.
- Voronov DA, Gavrilenko AV, Bochkov NP. Stimulation of angiogenesis in improving the results of surgical treatment of patients with chronic lower limb ischemia: experimental substantiation and clinical efficacy. Diseases of the aorta and its branches. 2009;(3):45–8. Russian.
- Hrin VK, Popandopulo AH, Stutin OA. Ways to stimulate indirect revascularization in the treatment of chronic ischemia of the lower extremities. Practical medicine. 2008;14(5):35–8. Ukrainian.
- Kuharchuk AL, Radchenko VV, Sirman VM. Stem cells: experiment, theory, clinic. Embryonic, mesenchymal, neural and hematopoietic stem. Kyiv: Medical technologies; 2004. 504 p. Russian. ISBN 966–8029–76–3.
- Delp MD, Collieran PN, Wilkerson MK, McCurdy MR, Muller-Delp J. Structural and functional remodeling of skeletal muscle microvasculature is induced by simulated microgravity. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2000 Jun;278(6):H1866–73. doi: 10.1152/ajpheart.2000.278.6.H1866. PMID: 10843883.

Надійшла 28.12.2020