

СТИМУЛЯЦИЯ НЕОВАСКУЛОГЕНЕЗА КАК СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКИХ ОБЛИТЕРИРУЮЩИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ АРТЕРИЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

Институт неотложной и восстановительной хирургии

им. В. К. Гусака, Донецк

Научные исследования последних лет подтверждают высокий потенциал использования клеточных технологий с целью стимуляции ангиогенеза для формирования коллатеральных кровеносных сосудов в ишемизированной конечности. На сегодняшний день достаточно подробно определены клеточные механизмы и источники ангиогенеза, а также выделено множество факторов роста, стимулирующих развитие новых сосудов. Клеточная терапия является безопасным и эффективным дополнительным методом улучшения кровообращения в ишемизированной конечности. Данные, полученные в результате проведения экспериментальных и клинических исследований, позволяют рекомендовать использование клеточных технологий с целью стимуляции неоваскулогенеза у больных с хроническими облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей. Возможен дифференцированный подход к использованию клеточных технологий в зависимости от этиологии заболевания и наличия сопутствующих патологий (сахарный диабет и др.).

Ключевые слова: ангиогенез, неоваскулогенез, ишемия нижних конечностей.

Данная работа является фрагментом научно-исследовательской работы «Исследовать некоторые механизмы неангиогенеза при дистальных хронических нарушениях артериального кровообращения при использовании клеточно-тканевых технологий», № гос. регистрации 0111U00251.

Сердечно-сосудистые заболевания уверенно лидируют в неутешительном рейтинге причин смертности и инвалидности во всем мире. Согласно данным официальной статистики болезни системы кровообращения ежегодно забирают полмиллиона жизней граждан Украины, а удельный вес смертности от этих заболеваний составляет почти 65% – это в 12 раз больше, чем в странах Европы, США, Канаде [17].

Значительное место среди заболеваний сосудов занимают облитерирующие (окклюзирующие) заболевания артерий нижних конечностей. Так, например, в структуре первичной инвалидности в

Российской Федерации они занимают второе место среди лиц моложе 45 лет, уступая лишь последствиям травм. Причинами развития критической ишемии нижних конечностей называют атеросклероз, облитерирующий тромбангиит, эндартериит, а также диабетическое поражение сосудов или диабетическая ангиопатия.

Актуальность проблемы обуславливает широкое ее изучение. В последние несколько десятков лет множество отечественных и зарубежных исследований посвящены изучению способов нормализации кровообращения нижних конечностей путем стимуляции образования сосудов *de novo* – так называемого «терапевтического ангиогенеза» [8, 19 20].

Ангиогенез представляет собой образование капилляров в органе или ткани из ранее существующих путем миграции и пролиферации дифференцированных эндотелиальных клеток. В норме в организме процессы ангиогенеза протекают с умеренной интенсивностью и активизируются только при репарации поврежденных тканей, канализации тромбов, ликвидации очагов воспаления, образовании рубца и тому подобных процессах восстановления, а также при росте и развитии организма.

Одним из перспективных направлений стимуляции неангиогенеза с использованием клеточных технологий является введение в ишемизированные ткани аутологичной плазмы, обогащенной тромбоцитами (БотП) [2, 5, 18].

Известно, что в тромбоцитах в большом количестве содержатся факторы роста, стимулирующие образование новых сосудов: сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), фактор роста фибробластов (FGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), трансформирующий фактор роста (TGF), сосудистый фактор проницаемости (VPF), эпидермальный фактор роста (EDGF). Позитивное воздействие БотП обусловлено нахождением в ее составе вышеуказанных факторов. Механизм действия БотП на неангиогенез представляется следующим образом (рис.).

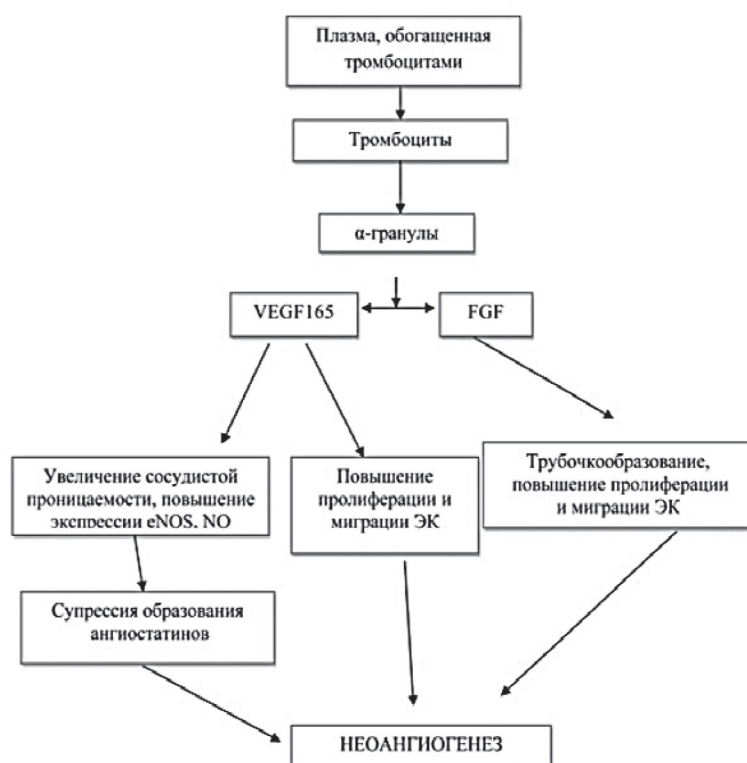


Рис. Механизм действия плазмы, обогащенной тромбоцитами, на ангиогенез (по Суковатых Б. С и Орловой А. Ю).

Ответной реакцией организма на ишемию тканей является образование новых сосудов. Новые сосуды возникают как капилляры, которые ответвляются от уже имеющихся мелких сосудов. После введения аутологичной БоТП в ишемизированные ткани, на эндотелиальные клетки формирующегося капилляра происходит адгезия тромбоцитов и выделение из их альфа-гранул факторов роста. VEGF165 индуцирует разрыхление базальной мембраны, экспрессию молекул адгезии на поверхности эндотелиоцитов, а также увеличение сосудистой проницаемости и продукции синтазы (eNOS), приводящей к образованию оксида азота (NO). Все это способствует миграции макрофагов, гладкомышечных клеток, предшественников эндотелиальных клеток и, в итоге, образованию нового сосуда. Похожие биологические эффекты имеет действующий в синергизме с эндотелиальным фактором роста FGF. Под воздействием факторов роста образуется массивный отросток, отходящий от капилляра, который позже становится полым и превращается в трубку. Этот отросток продолжает удлиняться до тех пор, пока не встретится другой капилляр, с которым он соединяется, создавая путь для циркуляции крови [12].

В настоящее время проводится ряд экспериментальных и клинических исследований по изучению влияния аутологичной БоТП на стимуляцию неоангиогенеза в условиях ишемии тканей [1, 3, 6, 7]. Обобщая данные экспериментальных исследований, следует отметить, что введение БоТП в

ишемизированную конечность живым увеличивает уровень микроциркуляции и снижает площадь некроза мышц [1].

Суковатых Б. С с соавт. приходят к выводу, что у пациентов с хронической ишемией нижних конечностей, рефрактерных к консервативному лечению, целесообразно вводить аутологичную БоТП по ходу глубокой артерии бедра и подколенной артерии. В результате этого происходит увеличение объема кровотока, магистральной микроциркуляции [12]. У всех пациентов отмечается улучшение клинического статуса, повышение физического и психологического компонента здоровья по сравнению с периодом до лечения.

При инъекционном введении БоТП в несколько точек голени происходит стимуляция местного ангиогенеза в точках введения, что не может существенно повлиять на увеличение емкости периферического сосудистого русла и перфузии всего сегмента конечности [3].

Позитивные результаты получены и при туннелировании мышечной ткани в

непосредственной близости и по ходу сосудистых пучков голени под контролем сонографии и заполнения туннеля через катетер активированной аутогенной БоТП [7]. Способ позволяет стимулировать неоангиогенез в мышечной ткани голени и улучшить состояние микроциркуляции в пораженной конечности за счет развития новой сосудистой сети и возможности коллатерального кровотока ниже места окклюзии, избежать образования гематом и активировать тканевую регенерацию по всей длине пораженной конечности. Улучшение достигнуто у 78,5% больных.

В то же время стоит отметить невозможность использования аутологичной БоТП в связи со спецификой ряда сопутствующих ишемии заболеваний, например, сахарного диабета (СД). Имеется большое число работ, свидетельствующих о нарушении функции эндотелия сосудов, тромбоцитов, процессов фибринолиза и свертывания крови при СД. Повышение функциональной активности тромбоцитов и снижение антитромбогенных свойств сосудистой стенки у больных сахарным диабетом может явиться одним из патогенетических механизмов развития и прогрессирования диабетической ангиопатии, создать условия для возникновения внутрисосудистой агрегации тромбоцитов, их адгезии к сосудистой стенке и тромбогенеза [10]. В таком случае целесообразно использовать другие источники клеток для стимуляции образования сосудов.

В настоящее время доказано, что новые сосуды могут образовываться не только из ранее

существовавших, но и de novo из циркулирующих предшественников эндотелиальных клеток (ПЭК или эндотелиальных прогениторных клеток). Данный процесс получил название «васкулогенез». Эндотелиальные прогениторные клетки характеризуются экспрессией ряда гемопоэтических (CD 34, CD133) и эндотелиальных (VEGF-R2, vWF) поверхностных клеточных маркеров [13]. Понятие ПЭК является собирательным, так как многими авторами к ним относятся разные субпопуляции клеток предшественников, имеющих различные сочетания перечисленных ранее маркеров, что объясняется тем, что точный фенотип клеток, способных дифференцироваться в эндотелиоциты, до сих пор не определен. Согласно литературным данным, источниками ПЭК, в основном, является популяция гемопоэтических (CD 34+) стволовых клеток, однако они были также обнаружены и при дифференцировке мезенхимальных (CD 34-) клеток костного мозга [4, 13]. Основными источниками ПЭК являются мононуклеарные клетки костного мозга, пуповинной и периферической крови, а также, в гораздо меньшей степени, печень, селезенка и жировая ткань. Под воздействием цитокинов и факторов роста происходит мобилизация и высвобождение клеток-предшественников из депо, их направленная миграция и встраивание в зону ишемии или повреждения сосуда, после чего происходит их дифференцировка в эндотелиоциты и формирование своего рода сети, служащей своеобразным каркасом для вновь образованных сосудов [19, 20].

Нарушения процесса васкулогенеза придают большое значение в прогрессировании макроангиопатии нижних конечностей и часто связывают их с расстройствами метаболизма. Ярким тому примером являются нарушения кровообращения при сахарном диабете. Так в ряде исследований зафиксировано снижение количества циркулирующих ПЭК у больных сахарным диабетом 1 и 2 типов [10]. Обнаружена взаимосвязь между снижением количества

ПЭК в крови и выраженностью нарушений периферического кровообращения. Наименьшее содержание ПЭК обнаружено у больных сахарным диабетом 2 типа с ишемией нижних конечностей. Известно также, что длительная инкубация в среде с высокой концентрацией глюкозы приводит к зависимому от дозы уменьшению количества и пролиферативной активности этих клеток, ускорению их старения и нарушению миграции [9]. Снижение числа циркулирующих ПЭК при сахарном диабете может быть следствием нарушения их мобилизации или повышения апоптоза [13]. Кроме того, гипергликемия нарушает также и дифференцировку ПЭК в эндотелиоциты а также их способность к миграции и формированию новых сосудов [10, 13].

Выводы. Таким образом, для больных ишемией нижних конечностей показана стимуляция ангиогенеза при помощи местных внутримышечных инъекций аутологичных мононуклеаров костномозгового происхождения [15, 16, 21], или мононуклеаров периферической крови после стимуляции G-CSF (гранулоцитарного колониестимулирующего фактора) [14, 21]. Согласно данным, полученным российскими учеными в результате доклинических исследований, инъекции мононуклеарных клеток костного мозга в поврежденный ишемией участок повышает плотность капилляров по сравнению с контролем в полтора раза [11].

Перспективы дальнейших исследований. Разработка и внедрение новых методик лечения хронической ишемии нижних конечностей позволяют значительно улучшить результаты лечения и качество жизни больных. Успешные шаги в этом направлении позволяют надеяться на перспективность клеточных технологий в лечении хронической ишемии нижних конечностей. Вместе с тем, как всякое новое направление в медицине, неоангиогенез в ишемизированных тканях требует долгосрочных перспективных исследований с полной беспристрастной оценкой положительных и отрицательных результатов.

Список литературы

1. Влияние плазмы, обогащенной тромбоцитами, и препарата «Миелопид» на течение острой и хронической ишемии нижних конечностей (экспериментально-клиническое исследование) / Б. С. Суковатых, А. Ю. Орлова, Е. Б. Артюшкова [и др.] // Новости хирургии. – 2012. – Т. 20, № 2. – С. 41 – 48.
2. Драгунов А. Г. Применение внутритканевого введения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами при лечении ишемии нижних конечностей / А. Г. Драгунов, Ю. В. Александров, С. А. Хрипунов // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2008. – Т. 14, № 4. – С. 17 – 19.
3. Драгунов А. Г. Клинико-экспериментальное обоснование стимуляции ангиогенеза методом введения в ткани голени и стопы аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, для лечения хронических облитерирующих заболеваний артерий нижних конечностей : дис. ... канд. мед. наук : спец. 14. 01. 26 «Сердечно-сосудистая хирургия» / Драгунов Андрей Геннадьевич. – Нижний Новгород, 2010. – 103 с.
4. Коненков В. И. Ангиогенез и васкулогенез при сахарном диабете: новые концепции патогенеза и лечения сосудистых осложнений / В. И. Коненков, В. В. Климонтов // Сахарный диабет. – 2012. – № 4. – С. 17 – 27.
5. Никоненко О. С. Ефективність PRP-терапії у хворих з оклюзією стегново-підколінно-гомількового сегменту // Науковий вісник Ужгородського університету, серія «Медицина». – 2012. – Вип. 2 (44). – С. 83 – 85.
6. Никоненко А. С. Характеристика морфологических изменений мышечной ткани голени после PRP-терапии / А. С. Никоненко, А. Н. Волошин, Ю. И. Макаренко // Вісник серцево-судинної хірургії. – 2014. – Вип. 22. – С. 211 – 214.
7. Патент RU 2529410 C1, A61B 17/00, A61M 25/00. Способ хирургического лечения хронического лечения хронической ишемии нижних конечностей, обусловленной дистальным типом поражения сосудов / Коровин А. Я, Базлов С. Б., Породенко Е. Е; заявитель и патентообладатель Государственное Бюджетное Образовательное Учреждение Высшего

- Профессионального Образования «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России. – Заявл. 02. 04. 2013; опубл. 27. 09. 2014, Бюл. 27.
8. Плотников М. В. Лечение заболеваний периферических артерий с использованием прогениторных клеток / М. В. Плотников, А. В. Максимов // Практическая медицина. – 2014. – Т. 2, № 4 (80). – С. 118 – 122.
 9. Предшественники эндотелиальных клеток и дисфункция эндотелия у больных ишемической болезнью сердца и сопутствующим сахарным диабетом / Ю. А. Карпов, Е. В. Парфенова, Т. И. Арефьева [и др.] // Кардиологический вестник. – 2008. – №. 1. – С. 53 – 60.
 10. Солун М. Н. Особенности микроциркуляторного гемостаза при сахарном диабете / М. Н. Солун, В. Ф. Киричук, Н. И. Дихт // Научный журнал «Фундаментальные исследования». – 2008. – № 6. – С. 67 – 69.
 11. Стимуляция ангиогенеза внутримышечной имплантацией клеток моноклеарной фракции аутологичного костного мозга при ишемии конечностей крысы / П. М. Ларионов, А. М. Чернявский, Р. Б. Новрузов [и др.] // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2010. – № 4 – С. 211.
 12. Суковатых Б. С. Стимуляция неоваскулогенеза – новое направление в лечении хронических облитерирующих заболеваний артерий нижних конечностей / Б. С. Суковатых, А. Ю. Орлова // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2011. – Т. IV, № 1. – С. 79 – 84.
 13. Циркулирующие предшественники эндотелиальных клеток при нарушенном углеводном обмене у больных ишемической болезнью сердца / М. М. Руда, Т. И. Арефьева, А. В. Соколова [и др.] // Сахарный диабет. – 2010. – № 1. – С. 13 – 20.
 14. Autologous transplantation of granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood mononuclear cells improves critical limb ischemia in diabetes / P. Huang, S. Li, M. Han [et al.] // Diabetes Care. – 2005. – Vol. 28(9). – P. 2155 – 2160.
 15. Autologous transplantation of CD34+ bone marrow derived mononuclear cells in management of non-reconstructable critical lower limb ischemia / A. M. Ismail, S. M. Abdou, H. A. Aly [et al.] // Cytotechnology. – 2014. – P. 1 – 11.
 16. Comparison of bone marrow mesenchymal stem cells with bone marrow-derived mononuclear cells for treatment of diabetic critical limb ischemia and foot ulcer: a double-blind, randomized, controlled trial / D. Lu, B. Chen, Z. Liang [et al.] // Diabetes Res Clin Pract. – 2011. – Vol. 92, issue 1. – P. 26 – 36.
 17. Hirsch A. T. The global pandemic of peripheral artery disease / A. T. Hirsch // The Lancet. – 2013. – Vol. 382, issue 9901. – P. 1312 – 1314.
 18. Iba O. Angiogenesis is by implication of peripheral blood mononuclear cells and platelets into ischemic limbs / O. Iba // Circ. – 2002. – Vol. 106. – P. 2019 – 2025.
 19. Lawall H. Stem cell and progenitor cell therapy in peripheral artery disease. A critical appraisal / H. Lawall, P. Bramlage, B. Amann // Thromb Haemost. – 2010. – Vol. 103 (4). – P. 696 – 709.
 20. Madeddu P. Therapeutic angiogenesis and vasculogenesis for tissue regeneration / P. Madeddu // Experimental Physiology. – 2005. – Vol. 90 (3). – P. 315 – 326.
 21. Treatment with autologous bone marrow mononuclear cells in patients / Alaa Ismail, Hussein E, Sabbour A [et al.] // J. Transplant. Technol. Res. – 2012. – Vol. 2, issue 2. – S1 – S3.

УДК 616. 13-002. 28-031. 58-085:616-003. 93

СТИМУЛЯЦІЯ НЕОВАСКУЛОГЕНЕЗУ ЯК СПОСІБ ЛІКУВАННЯ ХРОНІЧНИХ ОБЛІТЕРУЮЧИХ ЗАХВО- РЮВАНЬ АРТЕРІЙ НИЖНІХ КІНЦІВОК

Попандопуло А. Г., Савчук М. В., Буше В. В., Кавеліна Г. С., Попивненко Ф. С.

Резюме. Наукові дослідження останніх років підтверджують високий потенціал використання клітинних технологій з метою стимуляції ангиогенезу для формування колатеральних кровоносних судин в ішемізованій кінцівці. На сьогоднішній день достатньо детально визначені клітинні механізми та джерела ангиогенезу, а також виділено багато факторів росту, що стимулюють розвиток нових судин. Клітинна терапія є безпечним та ефективним додатковим методом покращення кровообігу в ішемізованій кінцівці. Данні, що отримані у результаті проведення експериментальних і клінічних досліджень, дозволяють рекомендувати використання клітинних технологій для стимуляції неоваскулогенезу у хворих із хронічними облітеруючими захворюваннями артерій нижніх кінцівок. Є можливість диференційованого підходу використання клітинних технологій у залежності від етіології захворювання та наявності супутніх патологій (цукровий діабет та ін.).

Ключові слова: ангиогенез, неоваскулогенез, ішемія нижніх кінцівок.

UDC 616. 13-002. 28-031. 58-085:616-003. 93

Stimulation of Neovasculation as a Treatment of Chronic Obliterating Diseases of Arteries of Lower Extremities

Popandopulo A., Savchuk M., Bushe V., Kavelina A., Popivnenko F.

Abstract. Recent scientific studies have confirmed a high potential of application of cellular technologies for formation of collateral blood vessels in ischemic limbs by stimulating angiogenesis. Currently, cellular mechanisms and sources of angiogenesis mainly identified, and there are a variety of growth factors that stimulate the development of new blood vessels. Cell therapy is a safe and effective complementary method that improves blood circulation in the limb ischemia. The data obtained from experimental and clinical studies, allow us to recommend the application of cellular technologies to stimulate neovasculation in treatment of the chronic obliterating diseases of lower limb arteries.

A differential approach of using cellular technology is possible, depending on the etiology of the disease and the presence of comorbidities (diabetes, etc.). It should be noted that if comorbidities are present, platelet rich plasma therapy is impossible. There are a lot of studies which postulate of vascular endothelium, platelet, fibrinolysis and hematopexis malfunctions in case of diabetes. The most important factors causing diabetic angiopathy are increased platelet activity and decreased antitrombogenic properties of vessel wall. That factors result in intravascular platelet clumping, adhesion of platelets to vessel wall and, as a result, thrombogenesis. In this case it makes sense to use another cell types for angiogenesis stimulation. The angiogenesis by local intramuscular injections of bone marrow-derived autologous peripheral blood mononuclear cells or granulocyte macrophage colony stimulating factor-mobilized peripheral blood mononuclear cells is indicated for treatment of limb ischemia patients. According to the data of the pre-clinical studies, bone marrow-derived autologous peripheral blood mononuclear cells injections in ischemia affected area lead to the measurable increase of the capillary density in comparison with control.

Development and application of modern therapy methods for treatment of chronic limb ischemia allows significantly improve of treatment outcome and life quality. Success in this regard admits to rely on perspectivity of cell technologies in chronic limb ischemia treatment. However, the application of neoangiogenesis in the ischemic tissues as new an original direction demand on long-term and prospective studies with unbiased estimate of positive and negative results.

Keywords: angiogenesis, neovaskulogenesis, lower limb ischemia.

Стаття надійшла 29. 11. 2015 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування