

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ  
АЛЛОТРАНСПЛАНТАЦИИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ  
КЛЕТОК ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ КРИТИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ НИЖНИХ  
КОНЕЧНОСТЕЙ**

*Роговой Н.А.<sup>1,2</sup>, Алексеев С.А., Хрыщанович В.Я.<sup>1,2</sup>,  
Климчук И.П.<sup>2</sup>, Дубень Н.С.<sup>2</sup>*

*<sup>1</sup>Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск  
<sup>2</sup>УЗ «4-я ГКБ им.Н.Е.Савченко» г.Минск Республика Беларусь*

**EXPERIMENTAL JUSTIFICATION OF MESENCHYMAL STEM CELL  
ALLOTRANSPLANTATION FOR THE TREATMENT OF CHRONIC  
LIMB – TREATENING ISCHEMIA**

*Rogovoy N<sup>1,2</sup>, Alexeev S.<sup>1</sup>, Khrischanovich V.<sup>1,2</sup>, Klimchuk I. <sup>2</sup>, Duben N.<sup>2</sup>  
Belarusian State Medical University, Minsk, the Republic of Belarus<sup>1</sup>  
<sup>4<sup>th</sup></sup> N.E. Savchenko City Clinical Hospital, Minsk, the Republic of Belarus<sup>2</sup>*

**Актуальность.** Заболевания периферических артерий (ЗПА) являются факторами риска ампутаций нижних конечностей, инвалидизации или летальности от сопутствующих сердечно-сосудистых и цереброваскулярных заболеваний. Наличие ХОЗАНК указывает на высокую вероятность атеросклеротического поражения коронарных и сонных артерий (смертность от сердечно-сосудистой патологии в 5 раз выше, чем при других заболеваниях). Мужчины заболевают ХОЗАНК в среднем в 1,5 раза чаще, чем женщины. во всем мире ХОЗАНК поражены 12-14% популяции, причем заболеваемость возрастает до 20% после 75 лет, которая в 22% случаев приводит к ампутации. Пациенты с СД, в течение 1 года после постановки диагноза КИНК, в 40-50% подвергаются ампутации нижней конечности, а в 20-25% - летальный исход. Около 30% пациентов имеют ограничения для выполнения прямой реваскуляризации конечности, прежде всего по причине поражения дистального русла. У 53,2% пациентов с атеросклерозом наблюдается поражение 2-х и более артерий голени. Ежегодные затраты на лечение пациентов с КИНК составляют более 20 млрд\$ и увеличиваются с каждым годом.

В связи с этим одним из перспективных направлений стимуляции неоангиогенеза является введение в ишемизированные ткани ангиогенов, наиболее изученными из которых – являются трансформирующий фактор роста (TGFβ1) и сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF). Установленное противоатерогенное действие TGFβ1, заключается в подавлении воспалительной реакции, посредством угнетения выработки провоспалительных цитокинов и стимуляции пролиферативных процессов. Отмечена также активация коллатерального кровотока и неоваскуляризация тканей при ХОЗАНК вследствие внутриартериального введения рекомбинантного фактора роста (VEGF-A) – основного стимулятора клеток эндотелия сосудов, входящего в состав нового препарата «Неоваскулген» (РФ). Вместе с тем имеющиеся единичные результаты его использования

носят предварительный характер и не учитывают поздние и отдаленные результаты, а его применение в настоящее время является высокочувствительным, а поэтому не полностью экономически обоснованным.

**Цель:** Целью исследования является изучить процессы восстановления ишемизированных тканей мышц нижних конечностей в экспериментах с использованием лабораторных животных.

**Материалы и методы.** Экспериментальные исследования выполнены на 60 крысах-самках Wistar массой 250-280 г, содержащихся в условиях конвенционального вивария Института физиологии НАН Беларуси.

Моделирование критической ишемии задней конечности (КИНК) осуществляли следующим способом: по внутренней поверхности правого бедра выделяли бедренную артерию и изолировали при помощи тонких щипцов от огибающей подвздошной артерии до подкожной и подколенной бифуркаций. Оба конца артерии были перевязаны шовным материалом 5/0, участок между лигатурами иссекали (~2-2,3 см), разрез ушивали шовным материалом.

- Все животные были разделены на следующие группы:
- Группа 1. Интактные (n=6);
- Группа 2. Модель критической ишемии задней конечности (КИНК) (n=13);
- Группа 3. Модель критической ишемии задней конечности с введением МСК ЖТ в дозе 1 млн/кг периартериально на 14-е сутки (КИНК+МСК периартериально) (n=6);
- Группа 4. Модель критической ишемии задней конечности с введением МСК ЖТ в дозе 1 млн/кг внутримышечно на 14-е сутки (КИНК+МСК в/м) (n=6);
- Группа 5. Модель критической ишемии задней конечности с введением МСК ЖТ в дозе 1 млн/кг с комбинированным введением на 14-е сутки (КИНК+МСК комбинированно) (n=6);
- Группа 6. Модель критической ишемии задней конечности с введением пентоксифиллина (ПТФ) в/в в дозе 24 мг/кг на 14-е сутки (КИНК+ПТФ) (n=12);
- Группа 7. Модель критической ишемии задней конечности с введением Алпростадил в/в в дозе 2,4 мкг/кг на 14-е сутки (КИНК+алпростадил) (n=12).

Результат и их обсуждение. Экспериментальная КИНК сопровождалась развитием механической гипералгезии на 14-е и усугубилась на 28-е сутки исследования, что выражалось в снижении порога ноцицептивной реакции (ПНР) ипсилатеральной конечности на 18,9% (с 139,8±1,4 г до 113,3±1,0 г,  $p<0,005$ ) и на 36,9% (с 139,8±1,4 г до 88,2±1,7 г,  $p<0,005$ ) соответственно относительно исходных значений (Рисунок 2), а также ниже на 13,9% на 14-е сутки и на 32,4% на 28-е сутки относительно интактных животных.

Вместе с тем ПНР здоровой левой задней конечности у животных группы КИНК, как и данный показатель для правой конечности интактных животных, не изменялись в данных временных точках ( $p>0,05$ ).

В экспериментальных группах животных КИНК+МСК на 14-е сутки до введения МСК значения ПНР снизились в среднем на 32,0% относительно исходных значений и в среднем на 30,0% относительно интактных животных.

В экспериментальных группах животных КИНК+МСК на 14-е сутки до введения МСК значения ПНР снизились в среднем на 32,0% относительно исходных значений и в среднем на 30,0% относительно интактных животных (табл. 1). После измерений на 14-е сутки осуществляли аллогенную трансплантацию МСК ЖТ разными способами. Антиноцицептивное действие МСК ЖТ, вне зависимости от способа их введения, регистрировали не сразу, а через 2 недели после трансплантации (на 28-е сутки после операции по моделированию КИНК). При этом значения ПНР крыс на 28-е сутки возрастали по отношению к таковым на 14-е сутки на 22,0% при периартериальном введении, на 28,3% при внутримышечном введении и на 31,1% при комбинированном введении. К окончанию мониторинга на 60-е сутки зарегистрированы следующие значения ПНР: увеличение значений исследуемого показателя на 14,9% при периартериальном введении, на 15,1% при внутримышечном введении и до на 25,8% при комбинированном введении по отношению к таковым значениям на 14-е сутки до введения МСК ЖТ. Статистически значимых различий между значениями ПНР в группах крыс, получивших МСК ЖТ периартериально, внутримышечно и комбинировано установлено не было. При этом, на 60-е сутки у группы животных с комбинированным введением МСК ЖТ отмечены статистически значимые изменения значений ( $p < 0,005$ ) относительно таковых у животных группы КИНК (без лечения).

При оценке *площади и интенсивности отпечатка* оперированной конечности подопытных животных в те же самые сроки выявляются изменения, аналогичные изменениям ноцицептивных реакций. При этом статистически значимое снижение данных параметров у всех групп животных в среднем на 30-35% зафиксировано на 14-е сутки. На 28-е сутки (14-е сутки после введения исследуемых субстанций) отмечали увеличение площади и интенсивности отпечатка травмированной конечности в сравнении с 7-ми сутками, однако полученные данные не были статистически значимыми. На 60-е сутки в экспериментальных группах КИНК МСК (п/а), КИНК МСК (комбин), КИНК ПТФ зарегистрировано восстановление исследуемых показателей до исходных значений.

### **Выводы.**

Согласно полученным лабораторным и гистологическим данным, внутримышечная трансплантация МСК является оптимальной для коррекции ангиопатии, поскольку сопровождается антиноцицептивным, нормализующим походку и репаративным эффектами.