

Характеристика морфологических изменений мышечной ткани голени после PRP-терапии

Никоненко А.С., Волошин А.Н., Макарченко Ю.И.

Запорожский государственный медицинский университет (Запорожье)

Количество людей, страдающих хронической ишемией нижних конечностей, с каждым годом растет. Одним из перспективных направлений в лечении пациентов с этой патологией является клеточная терапия для стимуляции ангиогенеза. В ходе исследования всем больным проводили процедуру Platelet Rich Plasma (PRP), используя систему центрифугирования “Harvest Technologies, SmartPReP 2”, США. Применение PRP-терапии у пациентов с окклюзией бедренно-подколенно-берцового сегмента артериального русла приводит к увеличению числа капилляров на одно мышечное волокно на 58,6% и увеличению размера мышечных волокон на 61,1%. PRP-терапия – эффективный и безопасный метод лечения пациентов с хронической ишемией нижних конечностей (ХИНК).

Ключевые слова: *клеточная терапия, бедренно-подколенно-берцовые окклюзии.*

По данным международных исследований, хроническую ишемию нижних конечностей (ХИНК) регистрируют в 5–8% случаев у лиц старше 50 лет, а при наличии факторов риска (курение, сахарный диабет, гиперлипидемия, артериальная гипертензия) – примерно у 30% [1, 2, 3]. Несмотря на большой арсенал хирургических и эндоваскулярных вмешательств, примерно у 20–40% пациентов с ХИНК «прямые» методы реваскуляризации не могут быть применены вследствие анатомических особенностей поражения магистральных артерий, длительности заболевания и сопутствующей патологии [5, 6]. Число «больших» ампутаций нижних конечностей в связи с прогрессирующей ХИНК в Евросоюзе и США превышает 100 тыс. в год [4, 5]. Одним из перспективных направлений является лечение пациентов обогащенной тромбоцитами аутологичной плазмой, в которой содержится большое количество факторов роста и биологически активных белков [7, 8, 9]. Особенности применения PRP-терапии в сосудистой хирургии остаются недостаточно изученными и требуют дальнейшего совершенствования.

Цель исследования – изучить морфологические изменения мышечной ткани голени у больных с «неоперабельными» типами окклюзий бедренно-подколенно-берцового сегмента артериального русла после PRP-терапии.

Материалы и методы. В ходе исследования проведен анализ комплексного лечения 19 пациентов с «неоперабельными» типами окклюзий бедренно-подколенно-берцового сегмента. Средний возраст больных составил $65 \pm 4,9$ года. В зависимости от степени хронической ишемии нижних конечностей (по классификации Фонтейна-Покровского) больные распределены следующим образом: IIБ ст. ишемии верифицирована у 5 больных, III ст. ишемии – у 6 и IV ст. – у 8 больных.

Процедуру PRP-терапии проводили, используя систему центрифугирования “Harvest Technologies, SmartPReP 2”, США. Применяли набор APC+60 для получения аутологичной плазмы, обогащенной тромбоцитами и факторами роста (Autologous Platelet Concentrate+). Полученный PRP-концентрат вводили путем 20 внутримышечных инъекций по ходу окклюзированных артерий в ишемизированные мышцы голени и в зоны трофических изменений. Со 2-го дня лечения все больные выполняли разработанный

комплекс физических упражнений, направленный на укрепление мышц голени и бедра. Стимуляция ангиогенеза у всех больных расценивалась как единственно возможный метод улучшения кровообращения в пораженной конечности. Для определения эффективности PRP-терапии как стимулятора процесса ангиогенеза были проведены гистологические исследования полученных биоптатов мышечной ткани голени больных. Для гистологического исследования осуществляли забор мышц ишемизированной голени пункционной иглой «Spring Cut № 16». Пункцию проводили перед первой процедурой PRP-терапии и через 6 мес. при повторной процедуре. Биоптаты фиксировали в 10% растворе формалина и заливали в парафин. Серийные парафиновые срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. В срезах при обзорной микроскопии изучали состояние мышечных волокон, наличие в них ядер, исчерченность саркоплазмы и особенности распределения соединительной ткани. При помощи окуляр-микрометра на поперечных срезах мышечных волокон измеряли их диаметр в микрометрах (мкм) и подсчитывали количество капилляров, которые кровоснабжают мышечные волокна. Полученные результаты представляли в виде средней (М) и стандартной ошибки среднего (m). Статистически достоверными считали различия между показателями при отклонении нулевой гипотезы и уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. В результате проведенного комплексного лечения у 17 больных удалось сохранить нижнюю конечность. В ходе всего периода динамического наблюдения не было зафиксировано ни одного случая анафилактической реакции, некротических дефектов или гнойно-воспалительных реакций в местах введения PRP-концентрата. У 4 пациентов с исходной 3 ст. ХИНК через 6 месяца после лечения достигнута элиминация болевого синдрома и увеличилась дистанция безболевого ходьбы до 200 м. У пяти пациентов с IV ст. ишемии также были отмечены положительные результаты лечения. Трофические изменения уменьшились, частично зажили, болевой порог снизился до отметки 0.

В биоптатах, забранных из трехглавой мышцы голени у пациентов с ХИНК перед проведением PRP-терапии, выявлены ишемические изменения скелетной мускулатуры. Большинство мышечных волокон были незначительного диаметра ($39,3 \pm 1,4$ мкм), с гиперхромными, вытянутой формы и расположенными по периферии мышечных волокон ядрами. В большинстве из них ядрышки не обнаруживались. В части мышечных клеток отсутствовала исчерченность саркоплазмы. В препаратах встречалось незначительное количество одиночных гипертрофированных мышечных волокон диаметром более 80 мкм. Соединительная ткань эндомизия разрыхлена. Артериолы были спазмированы, с суженным просветом и утолщенными стенками (рис. 1А). Практически у всех больных в биоптатах, полученных из трехглавой мышцы голени, выявлено увеличение количества соединительной ткани, а также спавшихся без просвета капилляров. Большинство капилляров без просвета. Количество капилляров на одно мышечное волокно составляет $3,58 \pm 0,15$.

Через шесть месяцев после проведенной PRP-терапии и регулярных физических упражнений все пациенты отмечали улучшение качества жизни. С согласия пациентов была проведена повторная биопсия скелетной ткани трехглавой мышцы голени во время проведения повторного сеанса PRP-терапии. Гистологическое изучение биоптатов показало значительное улучшение морфологической картины состояния ткани трехглавой мышцы голени (рис. 1Б). В препаратах симпластов всех пациентов выявляется резкое увеличение поперечных размеров мышечных волокон. Преимущественно они имеют диаметр $63,3 \pm 1,4$ мкм ($p < 0,05$). В них увеличивается количество ядер (рис. 1Б). Саркоплазма мы-

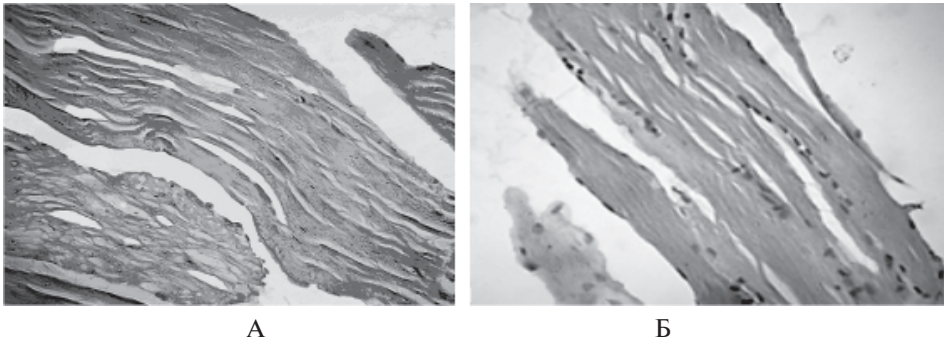


Рис. 1. Состояние скелетной мускулатуры до (А) и после (Б) проведенной PRP-терапии больного 67 лет. С ХИНК 4 ст. ШИК-реакция с прокрашиванием ядер гематоксилином. Об.40; ок 10.

шечных клеток окрашивается более интенсивно при постановке ШИК-реакции. На продольных срезах мышечных волокон четко визуализируется поперечная исчерченность саркоплазмы. Отчетливо проявляются капилляры, просветы которых преимущественно раскрыты. Число капилляров на одно мышечное волокно статистически достоверно увеличивается до $5,6 \pm 0,2$. В препаратах всех пациентов выявляется резкое увеличение количества гипертрофированных мышечных волокон. Преимущественно они имеют диаметр больше 80 мкм. В соединительной ткани обнаруживаются лимфоциты. При этом не отмечено увеличение соединительной ткани эндомизия. Таким образом, через шесть месяцев после проведения PRP-терапии в препаратах биоптатов у всех пациентов достоверно увеличивается число капилляров на одно мышечное волокно, что является основой улучшения кровоснабжения мышечной ткани, в которой наблюдаются явления гипертрофии мышечных волокон.

Выводы

1. Применение PRP-терапии у пациентов с окклюзией бедренно-подколенно-берцового сегмента приводит к увеличению числа капилляров на одно мышечное волокно.
2. Через шесть месяцев после PRP-терапии при регулярных физических нагрузках поперечный размер мышечных волокон трехглавой мышцы голени увеличивается на 61,1%.
3. PRP-терапия – эффективный и безопасный метод лечения пациентов с окклюзией бедренно-подколенно-берцового сегмента.

Литература

1. Hirsch A. T. The global pandemic of peripheral artery disease // The Lancet. – 19 October 2013. – Vol. 382. – Issue 9901. – P. 1312–1314.
2. Самодай, В. Г. Нестандартная хирургия критической ишемии нижних конечностей / В. Г. Самодай, Ю. А. Пархисенко, А. А. Иванов. – М. : МИА, 2009. – 240 с.
3. Аутологичные стволовые клетки: экспериментальные исследования и перспективы клинического применения: руководство для врачей / Ткачук Всеволод Арсеньевич. – М. : Литтерра, 2009. – 44 с.

4. Second European Consensus Document on chronic critical leg ischemia // *Circulation*. – 1991. – Vol. 84 (4). – P. 16–26.
5. Lawall H., Bramlage P., Amann B. Stem cell and progenitor cell therapy in peripheral artery disease. A critical appraisal // *Thromb. Haemost.* – 2010. – Vol. 103. – P. 696–709.
6. Norgren L., Hiatt W.R., et al. Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASC II) // *Eur J Vasc Endovasc Surg.* – 2007. – Vol. 33. – S1eS75.
7. D. J. Collinson and R. Donnelly Therapeutic Angiogenesis in Peripheral Arterial Disease: Can Biotechnology Produce an Effective Collateral Circulation // *Eur J Vasc Endovasc Surg.* – 2004. – Vol. 28. – P. 9–23.
8. Foster T. E., Puskas B. L. Platelet-rich plasma: from basic science to clinical applications. *Am J Sports Med.* – 2009 Nov. – Vol. 37 (11). – P. 2259–72.
9. Iba O., et al. Angiogenesis is by implantation of peripheral blood mononuclear cells and platelets into ischemic limbs // *Circ.* – 2002. – Vol. 106. – P. 2019–2025.

Характеристика морфологічних змін м'язової тканини гомілки після PRP-терапії

Никоненко О.С., Волошин О.М., Макарченко Ю.І.

Кількість людей, що страждають на хронічну ішемію нижніх кінцівок (ХІНК), з кожним роком зростає. Одним з перспективних напрямів у лікуванні пацієнтів цієї групи є клітинна терапія для стимуляції ангиогенезу. В ході дослідження всім хворим проводили процедуру PRP-терапії, використовуючи систему центрифугування “Harvest Technologies, SmartPReP 2”, США. Застосування PRP-терапії у пацієнтів з оклюзією стегново-підколінно-гомількового сегмента призводить до зростання числа капілярів на 58,6% на одне м'язове волокно та збільшення розміру м'язових волокон на 61,1%. PRP-терапія – ефективний і безпечний метод лікування пацієнтів із ХІНК.

Ключові слова: *клітинна терапія, стегново-підколінно-гомількові оклюзії.*

Characteristics of Leg Muscle Tissue Morphological Changes after PRP-Therapy

Nikonenko A.S., Voloshyn A.N., Makarchenko Y.I.

The number of people suffering from chronic lower limb ischemia is growing every year. One of the promising treatment directions of this patients is a cell therapy to stimulate angiogenesis. In the study, PRP therapy procedure was carried out using a system of centrifugation “Harvest Technologies, Smart PReP 2”, USA. As a result, the 6-month follow-up after PRP-therapy in patients with femoral-popliteal-tibial occlusion is an increase by 58.6% capillaries per muscle fiber and increase the size of the muscle fibers by 61.1%. PRP - therapy is effective and safe method of treating patients with CLI.

Key words: *cell therapy, femoral-popliteal-tibial occlusion.*