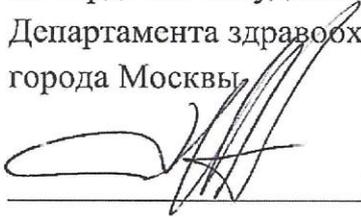


**ПРАВИТЕЛЬСТВО МОСКВЫ**  
**ДЕПАРТАМЕНТ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ГОРОДА МОСКВЫ**

**СОГЛАСОВАНО**

Главный внештатный специалист  
по сердечно-сосудистой хирургии  
Департамента здравоохранения  
города Москвы



М.А. Сагиров

27 июля 2023г.

**РЕКОМЕНДОВАНО**

Экспертным советом по науке  
Департамента здравоохранения  
города Москвы



07 июня 2023г.

**ЛЕЧЕНИЕ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИЕЙ НИЖНИХ  
КОНЕЧНОСТЕЙ ПУТЕМ МЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ  
БЕСПЛАЗМЕННОГО ЛИЗАТА АУТОЛОГИЧНЫХ ТРОМБОЦИТОВ**

Методические рекомендации № 24

Москва – 2023

УДК: 616.13/14-005.4-002.2- 08: 611.018.52

ББК: 54.578.62+53.535

Л-53

**Организация-разработчик:** Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы»

**Составители:**

Н.В. Боровкова, И.П. Михайлов, И.Н. Пономарев, Б.В. Козловский, Н.Е. Кудряшова, О.В. Лещинская

**Рецензенты:**

Заведующий отделением сосудистой хирургии РНЦХ им. акад. Б. В. Петровского, Академик РАН, д-р мед.наук, профессор **А.В. Гавриленко**

Заведующий отделением гнойной хирургии ГБУЗ «Городская клиническая больница №13» ДЗ г. Москвы, к-т мед.наук, **В.Н. Оболенский**

Лечение пациентов с хронической ишемией нижних конечностей путем местного применения бесплазменного лизата аутологичных тромбоцитов. методические рекомендации / сост. Н.В. Боровкова, И.П. Михайлов, И.Н. Пономарев, Б.В. Козловский, Н.Е. Кудряшова, О.В. Лещинская, –М.: ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», 2023. –21с.

**Предназначение:** Методические рекомендации посвящены методу лечения пациентов с хронической ишемией нижних конечностей 2А-4 ст по Фонтену-Покровскому атеросклеротического генеза. Предлагаемый метод ангиогенеза призван улучшить микроциркуляцию поражённых конечностей, повышая эффективность консервативной терапии. Предназначены для врачей сердечно-сосудистых хирургов.

Методические рекомендации разработаны в ходе выполнения научно-исследовательской работы «Совершенствование хирургических методов лечения больных с острой ишемией нижних конечностей» и диссертационной работы «Лечение пациентов с критической ишемией нижних конечностей в стадии трофических нарушений с поражением дистального артериального русла».

*Данный документ является собственностью Департамента здравоохранения город Москвы, не подлежит тиражированию и распространению без соответствующего разрешения*

**ISBN**

© Департамент здравоохранения города Москвы, 2023

© ГБУЗ «НИИ СП им. Н. В. Склифосовского ДЗМ», 2023

© Коллектив авторов, 2023

## СОДЕРЖАНИЕ

Список сокращений	4
Введение	5
1. Обследование пациента и подготовка к процедуре	7
1.1. Определение ключевых параметров планируемой процедуры	8
1.1.1. Характеристика области сниженного тканевого кровотока	8
1.1.2. Определение требуемого количества аутоБЛТ	11
2. Получение бесплазменного лизата аутологичных тромбоцитов	12
3. Применение лизата и ранний послепроцедурный период	14
3.1. Методики введения лизата при инъекции	15
3.2. Процедура введения аутоБЛТ	16
3.3. Послепроцедурный период	16
Заключение	17
Литература	20

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ААГ – аортоартериография

АутоБЛТ – бесплазменный лизат аутологичных тромбоцитов

БоТП – богатая тромбоцитами плазма

ДБХ – дистанция безболевого ходьбы

КИНК – критическая ишемия нижних конечностей

КОН – коэффициент относительного накопления

КТ-АГ – рентгеновская компьютерная ангиография

ЛД – лодыжечное давление

ЛПИ – лодыжечно-плечевой индекс

ОФЭКТ – однофотонная эмиссионная компьютерная томография

ОФЭКТ/КТ-АГ - трёхфазная сцинтиграфия, дополненная однофотонной эмиссионной компьютерной томографией, совмещённой с рентгеновской компьютерной ангиографией

РФП - радиофармпрепарат

УЗДС – ультразвуковое дуплексное сканирование

EDTA – ЭДТА –этилендиаминтетрауксусная кислота

EGF – *epidermal growth factor* – эпидермальный фактор роста

FGF – *Fibroblast growth factor* – фактор роста фибробластов

PDGF – *Platelet-derived growth factor* – тромбоцитарный фактор роста

VEGF – *Vascular endothelial growth factor* – фактор роста эндотелия сосудов

## ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на развитие сосудистой и эндоваскулярной хирургии лечение пациентов с хронической ишемией нижних конечностей остаётся актуальной проблемой [3, 12]. В связи с этим у специалистов неуклонно растёт интерес к внедрению методов терапевтического неоваскулогенеза – стимуляции образования в тканях новых кровеносных сосудов. Технически клинический результат достигается за счёт развития в зоне поражения микроциркуляторного русла, обеспечивающего увеличение объема коллатерального кровотока и поступления кислорода, нутриентов [4]. Известно, что данному процессу способствует насыщение тканей фактором роста эндотелия сосудов (VEGF), фактором роста фибробластов (FGF), тромбоцитарным фактором роста (PDGF), трансформирующим фактором роста (TGF), эпидермальным фактором роста (EGF) и др [11]. При этом все они содержатся в тромбоцитах самого пациента, выделение которых более простое и менее затратное, чем, например, применение аутологичных прогениторных клеток.

Не секрет, что принцип лечения облитерирующих заболеваний артерий нижних конечностей путём местного применения тромбоцитов уже успешно апробирован и описан в научных публикациях. Однако опыт показывает, что существующие методики имеют недостатки. Так, например, для выполнения способа, описанного в патенте RU 2319492 [6], требуется одномоментный забор 400-600 мл венозной крови, что эквивалентно потере до 10% среднего объема циркулирующей крови. Это, в свою очередь, может потребовать дополнительного восполнения аллогенной кровью, крове- и плазмозаменителями. При этом выявление противопоказаний к донации указанного объема крови вообще исключает возможность лечения описанным способом. Отдельно стоит отметить и низкую эффективность выделения тромбоцитов из забранного объема крови – в итоге после тромбоцитозфереза объем препарата составляет 200-300 мл, а концентрация тромбоцитов возрастает всего в 1,5-2,5 раза. К недостаткам способа относится и использование недегранулированных тромбоцитов. В этом случае реализация

биологического эффекта может быть отложена и менее выраженной как из-за несинхронной активации тромбоцитов, так и из-за сохранения недегранулированными части клеток. В свою очередь веерообразное и диффузное распределение препарата по мягким тканям голени и стопы без учёта локализации и объема поражения, является нерациональным. При этом введение 200-300 мл (объем тромбоконцентрата) подразумевает выполнение либо большого количества инъекций, либо нагнетание значительного количества препарата при каждом уколе. В обоих случаях это сопровождается болевым синдромом, может провоцировать воспалительную реакцию.

С учётом вышеизложенного был разработан оригинальный комплекс мероприятий, направленный на лечение пациентов с хронической ишемией нижних конечностей путем проведения процедуры местного применения бесплазменного лизата аутологичных тромбоцитов (аутоБЛТ) (далее «процедура») [8]. Его совокупной целью является улучшение кровоснабжения в области ишемического повреждения с минимизацией рисков и дискомфорта для пациента. Достижение положительного клинического эффекта складывается из обследования пациента и характеристики зоны ишемии, расчёта количества и изготовления аутоБЛТ, его введения в очаг ишемии и пограничные ткани. Апробация способа, проведенная с разрешения локального этического комитета (Протокол 2-22 от 22.02.2022), показала, что при лечении пациентов на стадиях 1-3 по классификации WifI применение аутоБЛТ в комбинации со стандартной консервативной терапией позволяет добиться улучшения гемодинамики в непосредственно после процедуры в 61,9% наблюдений и в 68,3% случаев в течение последующих 6 месяцев. Это на 26,9% ( $p < 0,00001$ ) лучше результатов лечения пациентов, которым в комплексе консервативной терапии тромбоциты не применяли [5]. Тому, как следует готовить пациентов к процедуре применения аутоБЛТ, какими способом его получать и применять посвящены следующие разделы методических рекомендаций.

## 1. ОБСЛЕДОВАНИЕ ПАЦИЕНТА И ПОДГОТОВКА К ПРОЦЕДУРЕ

В рамках обследования пациента необходимо определить целесообразность и возможность проведения процедуры, а затем, в случае положительного решения, ключевые параметры для её осуществления.

На этапе обследования следует руководствоваться данными анамнеза, осмотра и результатами лабораторных, рутинных скрининговых аппаратных обследований. В случае отсутствия данных, необходимых для принятия взвешенного решения, целесообразно дополнительно проводить:

- Ультразвуковое дуплексное сканирование (УЗДС) - скрининговый метод, позволяющий верифицировать атеросклеротическое поражение артерий нижних конечностей и их непроходимость. Измерение лодыжечного давления (ЛД) и лодыжечно-плечевого индекса (ЛПИ) производится в процессе УЗДС с применением механической манжеты для лодыжек либо отдельно тонометром для расчёта ЛПИ. Исходя из значений дистанции безболевого ходьбы (ДБХ), а также ЛПИ верифицируют степень ишемии.
- Лучевые методы диагностики, такие как аортоартериография (ААГ) или рентгеновская компьютерная ангиография (КТ-АГ), позволяют объективно визуализировать артериальное русло и признать пациента неоперабельным в случае тотального поражения артерий, несостоятельности дистального артериального русла.

При принятии решения о целесообразности проведения процедуры следует руководствоваться ранее определенными показаниями к терапевтическому ангиогенезу [15-17]:

- Возраст пациента старше 18 лет
- Клинические проявления хронической ишемии нижних конечностей 2А-4 ст. по Fontaine-Покровскому
- Атеросклеротический генез заболевания.

- Невозможность выполнить реконструктивную операцию или рентгенэндоваскулярную интервенцию.

От проведения процедуры следует отказаться в случае выявления у пациента:

- Острого коронарного синдрома давностью менее 1 месяца при отсутствии реваскуляризации миокарда, ХСН IV по NYHA;
- ВИЧ-инфекции, гепатитов В и С, сифилиса;
- Онкологического заболевания с неблагоприятным прогнозом дожития,
- Цитостатической лекарственной или лучевой терапии
- Тяжелой почечной и печеночной недостаточности;
- Тромбоцитопении или тромбоцитопатии.

При принятии положительного решения о целесообразности и возможности проведения процедуры до начала подготовки к ней необходимо получить у пациента документальное подтверждение его информированного добровольного согласия на её прохождение.

### **1.1. Определение ключевых параметров планируемой процедуры**

Помимо клинических данных, свидетельствующих о нарушении кровоснабжения конечности, рекомендуется визуализировать зону нарушенной микроциркуляции, оценить выраженность и распространенность нарушений (снижение тканевого кровотока, аперфузия, формирования мионекроза), например, радионуклидным методом (трехфазная сцинтиграфия/ОФЭКТ).

#### **1.1.1. Характеристика области сниженного тканевого кровотока**

Должна отражать характер зоны поражения (очаговый или диффузный), её объем (см<sup>3</sup>) и локализацию относительно анатомических ориентиров.

Значимость этих данных обусловлена тем, что на их основании в последующем проводят определение требуемого количества аутоБЛТ и точек его введения.

Трёхфазная сцинтиграфия с остеотропным радиофармпрепаратом (РФП)  $^{99m}\text{Tc}$ -пирфотехом является методом объективной оценки микроциркуляции в конечностях [10]. Позволяет визуализировать зоны сниженной микроциркуляции и очаги развивающихся асептических некрозов, произвести расчёты объёмов ишемизированных зон [7]. На данных трёхфазной сцинтиграфии с остеотропным РФП основан расчёт необходимой дозы аутоБЛТ и определение участков для введения данного препарата. Может выполняться как самостоятельно, так и на гибридном аппарате ОФЭКТ/КТ-АГ.

Характеристику зоны сниженного кровотока следует проводить следующим образом. Вначале на планарных сцинтиграфических изображениях, отражающих вторую фазу (первая фаза характеризует магистральный кровоток) исследования (тканевой кровоток), в мягких тканях необходимо определить визуальные признаки, характерные для областей со сниженным кровотоком – зоны снижения или отсутствия накопления РФП. Затем на планарных сцинтиграфических изображениях, отражающих третью фазу исследования (костную), в мягких тканях следует определить визуальные признаки, характерные для формирующихся некротических изменений – очаговая гиперфиксация РФП с приростом накопления в костной фазе по сравнению с накоплением в тех же зонах в тканевой (второй) фазе [16].

Локализацию выявленных зон следует характеризовать относительно верхней, средней, либо нижней трети голени (условно разделяя голень на три части). При этом за нижнюю границу массива икроножной мышцы наиболее целесообразно принять её переход в ахиллово сухожилие (определяется по сцинтиграфическому изображению контралатеральной нижней конечности). Затем с помощью встроенных в программу измерительных функций (линейки) по планарным сцинтиграфическим изображениям следует установить размеры зон гипоперфузии, в том числе, с признаками инфильтративно-некротических изменений. Кроме этого, по передней и задней проекциям сцинтиграфических

изображений определяют группы мышц, вовлеченных в зону ишемических изменений, которые используют в качестве анатомических ориентиров локализации зоны ишемии при распределении точек инъекций. В случае необходимости исследование дополняют томографическим режимом сканирования (ОФЭКТ), позволяющим более точно локализовать зоны измененного тканевого кровотока.

При этом в случае наличия отграниченной зоны измененного кровотока в пределах участка мышцы, группы мышц, либо фасциального футляра, не распространяющейся на весь сегмент конечности, характер поражения следует считать «очаговым». А в случае вовлечения всего сегмента конечности (от уровня коленного сустава до голеностопного сустава) с захватом всей толщи мягких тканей – «диффузным».

Затем, исходя из характера зоны поражения, выбирают математический метод расчёта объёма зоны.

Так при очаговом поражении целесообразно использовать математическую формулу усечённого конуса:

$$V = 1/3 \times \pi \times h \times (r_1^2 + r_1 \times r_2 + r_2^2)$$

где  $h$  - вертикальный размер,  $r_1$  - половина наименьшего горизонтального размера голени ( $d_c$ ) в зоне сниженного кровотока, а  $r_2$  - половина среднего арифметического значения для наибольшего горизонтального размера голени в зоне ишемии ( $d_a$ ) и горизонтального размера по верхнему краю области ишемических изменений ( $d_b$ ), т.е.  $r_2 = ((d_a + d_b) / 2) / 2$ .

При выявлении очаговых ишемических изменений (как правило, такие изменения характерны для критической ишемии), по планарным сцинтиграммам определяются наибольший ( $D$ ) и наименьший ( $d$ ) размеры каждого из ишемических очагов, в том числе, формирующихся инфильтративно-некротических изменений (в сантиметрах). По полученным размерам определяют объем очагов, используя математическую формулу объема эллипсоида:

$$V = 4/3 \pi R r^2$$

где R - половина наибольшего размера очага (D), r - половина наименьшего размера очага (d).

Полученные результаты следует выражать в кубических сантиметрах (см<sup>3</sup>).

### 1.1.2. **Определение требуемого количества аутоБЛТ**

Необходимо для расчёта объема крови, которое должно быть получено от пациента для его изготовления. Это в свою очередь позволяет избежать забора лишнего биоматериала и тем самым снизить нагрузку на организм пациента.

Расчёт количества аутоБЛТ (V препарата, мл) проводят исходя из предположения, что для его изготовления будет использован эквивалентный объем суспензии тромбоцитов с концентрацией клеток не менее  $1000 \cdot 10^9$  кл/л и долей функционально полноценных клеток не менее 38%. Расчёт проводят по формуле:

$$V_{\text{препарата}} = \text{«объем ишемизированной зоны»} \times 0,05$$

где 0,05 – доза препарата в мл на каждые 1 см<sup>3</sup> объема ишемизированной зоны (данные получены при исследовании на культуре клеток ростостимулирующего эффекта бесплазменного лизата тромбоцитов).

Затем вычисляют количество венозной крови пациента (V<sub>кровь</sub>, мл), необходимое для формирования суспензии, рассчитанного ранее объема, по эмпирической формуле:

$$V_{\text{кровь}} = V_{\text{препарата}} * 10.$$

Отдельно стоит отметить, что описанный алгоритм расчёта определен для использования при планировании процедуры с применением бесплазменного лизата тромбоцитов, так как учитывает более высокие

концентрации в нём целевых ростовых факторов, по сравнению с лизатом тромбоцитов, полученных без удаления плазмы, о чём будет изложено в следующем разделе.

Таким образом, организованное и проведённое обследование и подготовка к процедуре позволяют точно локализовать зоны измененного тканевого кровотока и определить требуемое количество аутоБЛТ для введения пациенту.

## **2. ПОЛУЧЕНИЕ БЕСПЛАЗМЕННОГО ЛИЗАТА АУТОЛОГИЧНЫХ ТРОМБОЦИТОВ**

Как было указано ранее к основным факторам роста, способствующим ангиогенезу, относятся сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), фактор роста фибробластов (FGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), эпидермальный фактор роста (EDGF) [11]. При этом все из них содержатся в гранулах тромбоцитов и могут быть выделены из них. В настоящее время способы, используемые для этого, условно делят на две группы. Относящиеся к первой, подразумевают формирование суспензии из недегранулированных тромбоцитов и требующие последующей активации клеток *in situ* (БоТП, PRP). К их преимуществам относятся относительная простота, а к недостаткам - высокая вероятность не достижение терапевтически значимой концентрации ростовых факторов из-за не одномоментной дегрануляции тромбоцитов. Ко второй группе относятся способы, которые включают не только выделение и концентрацию тромбоцитов, но и их лизис *in vitro* (лизаты). Их выполнение занимает больше времени, однако к моменту применения лизата он уже содержит во внеклеточной форме факторы роста и даже может быть очищен от разрушенных клеток. Однако в этом случае ключевую роль в концентрации ростостимулирующих факторов играет среда, в которой прошла дегрануляция тромбоцитов. Так, при сравнительной характеристике концентраций ростовых факторов в препаратах было установлено, что в лизате, полученном из тромбоцитов в среде не содержащей плазмы крови, концентрация большинства

ростовых факторов была заметно выше, чем в лизате богатой тромбоцитами плазмы: PDGF – в 4,2 раза, FGF – в 2,5 раз, EGF – в 4,9 раз, VEGF – в 2,3 раз ( $p < 0,05$ ). Одновременно с этим, концентрация цитокинов IL1alfa была ниже в 3 раза, IL 6 – в 1,6 раз ( $p < 0,05$ ) [1].

Таким образом, при выборе между богатой тромбоцитами плазмой (PRP, БоТП) и лизатом следует отдавать предпочтение второму. В свою очередь, лизис клеток целесообразно проводить в бесплазменной среде.

Для получения бесплазменного лизата аутологичных тромбоцитов у пациента с сохранением стерильности забирают венозную кровь в стерильные пробирки с ЭДТА в объеме ( $V$  кровь), рассчитанном ранее. Сначала кровь следует разделить на компоненты путем центрифугирования пробирок в течение 5-8 минут с ускорением 300g. Затем из пробирок с кровью всю супернатантную плазму с тромбоцитами, сохраняя её стерильность, необходимо перенести в новые стерильные центрифужные пробирки (тип Falcon). Далее эти пробирки (для осаждения тромбоцитов) необходимо центрифугировать 17-20 минут с ускорением 700g. После формирования осадка тромбоцитов из пробирки необходимо полностью удалить обеднённую плазму и внести стерильный физиологический раствор (0,9% NaCl) в количестве, эквивалентном рассчитанной дозе препарата ( $V_{\text{препарата}}$ ). Далее содержимое пробирки следует тщательно перемешать и обследовать на концентрацию тромбоцитов. В случае концентрации тромбоцитов менее  $1000 \text{ кл} \cdot 10^9 / \text{л}$  – образец дополнительно центрифугируют 17 минут с ускорением 700g после чего удаляется излишек супернатанта. При достижении целевой концентрации тромбоцитов не менее  $1000 \text{ кл} \cdot 10^9 / \text{л}$  суспензию замораживают при температуре  $-20-40^\circ\text{C}$ .

В день использования биоматериал следует разморозить при температуре  $+2-6^\circ\text{C}$  в течение 12 часов. После размораживания пробирку центрифугируют 20 минут с ускорением 3000 g. Бесклеточный супернатант (бесплазменный лизат аутологичных тромбоцитов) отбирается для внутримышечного введения.

Бесплазменный лизат тромбоцитов следует использовать немедленно. Допускается его хранение при +4°C не более 4 часов.

### **3. ПРИМЕНЕНИЕ ЛИЗАТА И РАННИЙ ПОСЛЕПРОЦЕДУРНЫЙ ПЕРИОД**

Применение аутоБЛТ при лечении хронической ишемии нижних конечностей заключается в его внутримышечном введении как непосредственно в зону поражения, так и пограничные ткани. При этом в связи с ограниченным количеством лизата при планировании лечебной процедуры следует обратить внимание на следующие аспекты, способные увеличить точность введения препарата:

- Проекция зоны ишемии на кожу. Границы зоны определяют на основании данных аппаратного обследования, проведённого при подготовке пациента к процедуре. Затем их наносят бриллиантовым зелёным или медицинским маркером на кожу конечности со стороны предполагаемого доступа. Далее, исходя из объема препарата, определяют количество инъекций – в среднем 1 мл препарата вводят за два-три приема. Полученное количество точек инъекций равномерно распределяют таким образом, чтобы ввести препарат как в ишемизированные, так и пограничные ткани. При этом точки введения препарата предпочтительно располагать на расстоянии не менее 2 см друг от друга.
- Аппаратная ассистенция, например, УЗ-навигация. За счёт визуализации в реальном времени зоны ишемии и хирургического инструментария позволяют повысить точность введения лизата и снизить вероятность повреждения крупных сосудисто-нервных пучков.
- Шприц для инъекции. Предпочтение стоит отдавать шприцам как можно меньшего объема (до 1 мл), даже в случаях, когда

количество лизата кратно превышает их ёмкость. Обусловлено это тем, что малый диаметр их цилиндра при продвижении поршня, например, на 1 см способствует выходу меньшего количества лизата, чем в случае использования шприцев с большим объемом. В итоге удастся достигнуть более ощутимого контроля над количеством вводимого аутоБЛТ. При этом смена шприца не вызывает затруднения т.к. может быть проведена при смене точки инъекции.

- Игла для инъекции. Предпочтение стоит отдавать иглам для спинальной анестезии. Их длина значительно превышает аналогичный параметр инъекционных игл и тем самым обеспечивает возможность введения лизата в глубокорасположенные ткани. При этом имеется возможность подбора и использования наиболее тонких игл для снижения болезненности процедуры.

### **3.1. Методики введения лизата при инъекции**

Описание методик введения лизата при инъекции специально вынесено в отдельный подраздел в связи с тем, что выбор между ними можно проводить как на этапе планирования процедуры, так и непосредственно при её проведении. В любом случае до начала манипуляций необходимо иметь навык их выполнения.

Методика «опережающего» введения подразумевает нагнетание лизата в ткань перед острием иглы до прохождения через неё. Для этого иглу проводят иглы через кожу, поверхностную фасцию и подкожно-жировую клетчатку и подводят к ишемизированным тканям. Затем начинают непрерывно, но медленно вводить препарат, одновременно быстро продвигая иглу на глубину до 3,0 см.

При «ретроградном» введении наоборот - иглу сначала вводят в зону ишемии на глубину до 3 см и только затем приступают к непрерывному

медленному введению препарата, одновременно извлекая иглу из мышечной ткани.

При комбинировании методик, соответственно, препарат непрерывно медленно вводят как при проведении иглы через пораженные ткани, так и при её извлечении.

Таким образом, обеспечивается относительно равномерное распределение препарата по тканям ишемизированной зоны, а также его доставка к глубокому листку фасции голени, в межфасциальные пространства, где располагаются магистральные сосуды. При этом введение за одну инъекцию не более 0,5 мл препарата позволяет существенно снизить болезненность процедуры.

### **3.2. Процедура введения аутоБЛТ**

Внутримышечное применение аутоБЛТ проводить в стерильной операционной или перевязочной, с соблюдением правил асептики и антисептики, использованием стерильных и одноразовых расходных материалов.

Пациентов укладывают на спину или живот, но при положении пациента на спине ногу следует согнуть в коленном суставе на 120-150° для полного расслабления задней группы мышц голени.

Кожу в область инъекции и широко вокруг обрабатывают по методу Филончикова-Гросиха. Введение проводится шприцем через иглу по методике «опережающего» или «ретроградного» введения», или последовательно комбинируя их. После завершения инъекций кожу укрывают стерильной марлевой повязкой.

### **3.3. Послепроцедурный период**

Внутримышечное введение аутоБЛТ может оказаться болезненной процедурой. Дозированное его введение снижает болевые ощущения. Пациенту после выполнения инъекций следует походить 10-15 минут: таким образом, за

счёт работы мышц голени препарат равномерно распределяется в мышечном массиве, болевые ощущения уменьшаются.

Пациента следует максимально активизировать, рекомендовать дозированную ходьбу, а также антикоагулянтную и дезагрегантную терапию в соответствии с последними Национальными рекомендациями [17]. Параллельно с введением аутоБЛТ следует провести курс инфузионной терапии доступными вазотропными препаратами.

Периодичность повторных осмотров с целью оценки локального статуса определяется лечащим врачом с учётом распространённости и тяжести ишемического поражения нижней конечности. Однако, с учётом сроков неоваскулогенеза, повторное инструментальное исследование (трёхфазная сцинтиграфия, измерение ЛД, определение ЛПИ) проводится через 3 и 6 месяцев. При этом возможно проведение курса вазотропной терапии.

Удовлетворительными критериями считаются:

- Уменьшение или исчезновение зон сниженной микроциркуляции, визуальное равномерное распределение РФП (по данным трёхфазной сцинтиграфии);
- Отсутствие прироста КОН РФП в костную фазу относительно тканевой (по данным трёхфазной сцинтиграфии), что свидетельствует об обратимости некротических очагов;
- Увеличение ЛПИ.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Целесообразность проведения терапевтического ангиогенеза при консервативном лечении пациентов с хронической ишемией нижних конечностей уже неоднократно показана в работах отечественных и зарубежных специалистов [2, 13]. В связи с этим врачи всё чаще прибегают к данной процедуре, особенно в случаях, когда хирургическая реваскуляризация невозможна или противопоказана [9]. Однако для наиболее известных методов

её осуществления (с помощью геннотерапевтического препарата или аутологичных прогениторных клеток) характерна высокая стоимость и/или трудоемкость, которые могут ограничивать широкое внедрение. На их фоне применение тромбоцитов и факторов роста, выделенных из них, для способствования развитию коллатерального кровоснабжения в ишемизированных тканях представляется оптимальным компромиссом. К преимуществам такого подхода относят аутологичность препарата и простоту его получения. А в случае применения бесплазменного лизата аутологичных тромбоцитов дополнительно: высокое содержание VEGF и других проангиогенных факторов [1]. При этом его изготовление по оригинальной методике, изложенной в рекомендациях, обеспечивает низкую себестоимость за счёт использования стандартного лабораторного пластика и оборудования.

Отдельное внимание в представленных рекомендациях уделено аппаратным методам исследования или ассистенции. Обусловлено это тем, что они позволяют существенно повысить эффективность лечения путем решения двух задач: дополнительной характеристики области поражения и обеспечения точной доставки в неё лекарственного препарата. Решение первой задачи, как правило, проходит без спешки и, в связи с этим, доминирующим требованием к используемым методам является наибольшая информативность. А поскольку у пациентов с КИНК целесообразно оценивать не только магистральные артерии, но и характеризовать тканевой кровоток (с определением зон гипоперфузии и инфилтративно-некротических изменений), то наиболее предпочтительным методом их обследования становится гибридная технология ОФЭКТ/КТ-АГ. При этом визуализация микроциркуляции в динамике в совокупности с изменением КОН позволяет давать объективную оценку эффективности лечения при повторных исследованиях в отдалённые сроки.

В свою очередь при введении препарат целесообразно использовать относительно простые и мобильные методы, способные визуализировать ткани в реальном времени.

Таким образом, описанный оригинальный комплекс мероприятий за счёт обследования пациента и характеристики зоны ишемии, расчёта количества и изготовления бесплазменного лизата аутологичных тромбоцитов, его введения в очаг ишемии и пограничные ткани позволяет достигнуть стойкого положительного клинического эффекта с минимизацией рисков и дискомфорта для пациента.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Оценка цитокинового состава сыворотки крови и препаратов на основе тромбоцитов человека [Текст] / Н.В. Боровкова, М.С. Макаров, Ю.В. Андреев [и др.] // Молекулярная медицина.- 2021.- Т.19, №3.- С.51-57.
2. Возможности применения гемопоэтических клеток моноцитарного ряда в лечении больных критической ишемией нижних конечностей [Электронный ресурс] / Е.С. Зубова, В.Н. Вавилов, Б.С. Артюшин [и др.] // Современные проблемы науки и образования.- 2019.- №3.- URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=28990> (Дата обращения 28.02.2023).
3. Комплексное лечение больных с критической ишемией нижних конечностей в сочетании с сахарным диабетом [Текст] / А.В. Гавриленко, Д.А. Воронов, А.Э. Котов, Д.А. Лоиков // Анналы хирургии.- 2014.- №3.- С.41-46.
4. Клеточная терапия критической ишемии нижних конечностей (проблемы и перспективы) [Текст] / С.В. Лебедев, А.В. Карасев, В.В. Кунгурцев [и др.] // Вестник Российской академии медицинских наук.- 2013.- Т. 68, № 3.- С.33-44.
5. Комплексное лечение пациентов с хронической критической ишемией нижних конечностей в стадии трофических осложнений [Текст] / И.П. Михайлов, Б.В. Козловский, Н.Е. Кудряшова [и др.] // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия.- 2021.- Т.14, №6.- С.505-511.
6. Патент N 2319492 Российская Федерация, МПК А61К 35/14 (2006.01), А61Р 9/14 (2006.01). Способ лечения облитерирующих заболеваний артерий нижних конечностей [Текст] : N 2005139194 : заявл. 13.12.2005 : опубликовано 20.03.2008 / Драгунов А.Г., Катанов Е.С. ; заявитель Драгунов А.Г.- 7 с.
7. Патент N 2504331 Российская Федерация, МПК А61В 6/00 (2006.01), А61К 51/00 (2006.01). Способ радионуклидной оценки степени ишемии при остром тромбозе магистральных артерий нижних конечностей у больных с двусторонним атеросклеротическим поражением артерий [Текст] : N

- 2013102557 : заявл. 21.01.2013 : опубликовано 20.01.2014 / Кудряшова Н.Е., Михайлов И.П., Чернышева О.А., Синякова О.Г., Сидорова Ю.Е. ; заявитель ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ».- 10 с.
8. Патент N 2759478 Российская Федерация, МПК А61М 5/00 (2006.01), А61К 35/16 (2015.01), А61Р 9/14 (2006.01). Способ лечения пациентов с хронической ишемией нижних конечностей [Текст] : N 2021117763 : заявл. 18.06.2021 : опубликовано 15.11.2021 / Боровкова Н.В., Михайлов И.П., Пономарев И.Н., Козловский Б.В., Кудряшова Н.Е., Лещинская О.В. ; заявитель ГБУЗ «НИИ СП им.Н.В. Склифосовского ДЗМ».- 21 с.
9. Применение метода генно-клеточной терапии в лечении больных с хронической ишемией нижних конечностей: методические рекомендации [Электронный ресурс] / В.Д. Каргин, В.Е. Солдатенков, А.В. Чететкин [и др.].- Санкт-Петербург, 2015.- 16 с.- URL : <https://www.books-up.ru/ru/book/primenenie-metoda-genno-kletochnoj-terapii-v-lechenii-bolnyh-s-hronicheskoy-ishemiej-nizhnih-konechnostej-10748746/> (Дата обращения: 28.02.2023). - Режим доступа : по подписке.
- 10.Радионуклидная диагностика для практических врачей [Текст] / под ред. Ю.Б. Лишманова, В.И. Чернова. - Томск: STT, 2004. - 394 с.
- 11.Martínez, С.Е. The influence of platelet-derived products on angiogenesis and tissue repair: a concise update [Text] / С.Е. Martínez, Р.С. Smith, V.A. Palma Alvarado // Front Physiol.- 2015.- N6.- P. 290.
- 12.Fowkes, F. Comparison of global estimates of prevalence and risk factors for peripheral artery disease in 2000 and 2010: a systematic review and analysis [Text] / F. Fowkes, D. Rudan, I. Rudan [et al.] // The Lancet.- 2013.- Vol. 382, N11.- P.1329-1340.
- 13.Therapeutic angiogenesis for patient with limb ischemia by autologous transplantation of bone marrow cells: a pilot study and randomized controlled trial [Text] / E. Tateishi-Yuyama, H. Matsubara, T. Murohara [et al.] // Lancet.- 2002.- Vol. 360, N9331.- P. 427- 435.