

КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЙ МЕДИЦИНЕ И МЕДИЦИНСКОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ

КЛЕТОЧНАЯ ТЕРАПИЯ БОЛЕЗНИ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ АРТЕРИЙ

УДК 616.13

Щербак С.Г.^{1,2}, Лисовец Д.Г.², Сарана А.М.^{1,2}, Макаренко С.В.^{1,2}, Камилова Т.А.²,
Богданов А.Н.^{1,2}, Носков А.В.²

¹СПбГУ, кафедра последипломного медицинского образования Медицинского факультета, Санкт-Петербург, Россия

²СПб ГБУЗ «Городская больница №40», Санкт-Петербург, Россия

CELLULAR THERAPY IN THE TREATMENT OF PERIPHERAL ARTERIAL DISEASE

Scherbak S.G.^{1,2}, Lisovets D.G.², Sarana A.M.^{1,2}, Makarenko S.V.^{1,2}, Kamilova T.A.²,
Bogdanov A.N.^{1,2}, Noskov A.V.²

¹St. Petersburg state university, Department of postgraduate medical education, Medical faculty, St. Petersburg, Russia

²St. Petersburg municipal hospital №40, St. Petersburg, Russia

Введение

Болезни периферических артерий (БПА) включают в себя все некоронарогенные сосудистые заболевания, поражающие периферические артерии, чаще всего нижних конечностей. Наиболее распространенными факторами риска БПА являются атеросклероз, сахарный диабет, гипертония и курение. Болезнью поражены ~27 миллионов взрослых в США и Европе [51]. БПА приводит к стенозу или закупорке артерий голени и может вызывать широкий спектр симптомов, в том числе слабость и спазмирование мышц, боль в мышцах ног при ходьбе, в поздних стадиях – критическую ишемию конечностей (КИК), изменение цвета и температуры ткани, боль в покое, хронические раны и язвы, мышечную атрофию и гангрену [9, 20, 34]. БПА диагностируют приблизительно у половины больных диабетом с язвой стопы и часто приводят к ампутации нижних конечностей. Риск ампутации

у больных сахарным диабетом составляет 10–15%, что в 10–30 раз выше, чем в общей популяции. Язва стопы в анамнезе связана с увеличением смертности больных диабетом вдвое [31].

Тяжесть БПА традиционно оценивают по классификации Fontaine в Европе и классификации Резерфорда в США (табл.) [34].

Фармакотерапия, направленная на модификацию факторов риска, а также эндоваскулярное или хирургическое лечение часто недостаточно эффективны для восстановления кровотока и поддержания функции тканей. Лишь около 50% пациентов выживают в течение года без большой ампутации ноги (над лодыжкой) и 25% умирают. Диагноз КИК, следовательно, является сильным негативным прогностическим индикатором потери конечности и смертности [9, 20, 34, 43]. Таким образом, БПА в настоящее время имеет неблагоприятный прогноз [51]. Для тех

Таблица. Классификация БПА по Fontaine и Rutherford [34]

Классификация Fontaine		Классификация Rutherford	
Стадия	Симптомы	Стадия	Симптомы
I	Нет	0	Нет
IIa	Перемежающаяся хромота без боли в покое, но с хромотой на расстоянии > 200 м	1	Легкая хромота
		2	Умеренная хромота
IIб	Перемежающаяся хромота без боли в покое, но с хромотой на расстоянии <200 м	3	Тяжелая хромота
III	Ночная боль и/или боль в покое	4	Боль в покое
IV	Некроз и/или гангрена конечности	5	Ишемические язвы не выше пальцев ноги
		6	Тяжелые ишемические язвы или гангрена

пациентов, у которых традиционное лечение оказалось безуспешным, одним из остающихся вариантов является терапевтический ангиогенез – назначение ангиогенных агентов и/или стволовых клеток (СК) непосредственно в пораженную мышцу [20, 50].

Ангиогенез при БПА – образование новых капилляров в икроножных мышцах дистальнее окклюзии бедренной артерии, которое ослабляет клеточную гипоксию, возникающую вследствие потери тканевой перфузии. Ангиогенный процесс инициируется в ответ на специфические стимулы, такие как гипоксия и воспаление, и строго регулируется во времени и пространстве взаимодействием широкого спектра молекул (протеаз, ростовых факторов, хемокинов, адгезионных молекул и ингибиторов ангиогенеза). В процессе ангиогенеза протеазы деградируют межклеточный матрикс (МКМ) и базальную мембрану сосудистой стенки, перициты отделяются и секретируют проангиогенные ростовые факторы и хемокины, которые связываются с рецепторами эндотелиальных клеток (ЭК), индуцируя формирование сосудистых отростков [9, 12]. Следствием ангиогенеза является увеличение плотности капилляров в паренхиме ткани (скелетной мышцы). В процессе роста кровеносного сосуда происходит усиление межклеточных контактов между ЭК, генерация нового МКМ и привлечение перицитов, которые окружают и поддерживают эндотелий новых капилляров, резко увеличивается экспрессия ангиогенного фактора VEGF (vascular endothelial growth factor) и его рецепторов. VEGF является митогеном для ЭК, вызывает их миграцию и генерирует образование из них трубчатых структур. В этих процессах также участвуют цитокины bFGF (basic fibroblast growth factor), который служит митогеном для ЭК, гладкомышечных и стромальных клеток сосудов, Ang1 (angiopoietin-1), PDGF (platelet derived growth factor), TGF- β 1 (transforming growth factor- β 1) [51]. Баланс между стимуляторами и ингибиторами ангиогенеза в микросреде контролирует скорость образования сосудов [52]. Нарушение ангиогенного баланса может привести к тяжелым и угрожающим жизни патологическим нарушениям [9].

Клетки, участвующие в ангиогенезе и применяемые в клеточной терапии. Мононуклеарные клетки (МНК) костного мозга (КМ) или периферической крови (ПК), используемые для клеточной терапии, представляют собой смешанную популяцию, которая содержит мезенхимальные стволовые/стромальные клетки (МСК), гематопоэтические СК (ГСК), гемангиобласты [50], а также клетки, способные включаться в сосудистую сеть [60]. Т. Asahara и соавт. которые показали, что ангиогенные субпопуляции МНК ПК CD34+ человека и Flk-1/VEGFR2/KDR+ мыши могут дифференцироваться в эндотелиальный фенотип *in vitro* и что свежеизолированные клетки CD34+ ПК человека, введенные внутривенно мышам после иссечения бедренной артерии, определяются в капиллярах поврежденной конечности, назвали эти клетки эндотелиальными клетками-предшественниками (ЭКП) [4]. Это важное открытие показало, что циркулирующие клетки CD34+ человека и мышинные Flk-1+ клетки могут быть предшественниками эндотелиальной линии *in vitro* и *in vivo* и участвовать в постишемической регенерации и росте кровеносных сосудов [51]. Для идентификации ЭКП человека обычно используют поверхностные маркеры CD34, CD133 и VEGFR2/KDR (VEGF receptor 2/kinase insert domain receptor), но эти маркеры не уникальны для ЭКП [48]. В настоящее время лучший способ отличить ранние ЭКП состоит в функциональной идентификации

по способности истинных ЭКП включаться в уже существующую сосудистую сеть [8].

Другая мононуклеарная клетка, которая участвует в ангиогенезе, – МСК. МСК происходят из стромальных элементов КМ, но обнаружены также в стромальных элементах различных тканей. МСК составляют 0,01–0,1% от общего числа клеток КМ, но могут быть размножены в культуре [12]. Комитет по мезенхимальным и тканевым стволовым клеткам Международного общества клеточной терапии разработал минимальные критерии определения МСК человека: прикрепление к пластику *in vitro*, экспрессия антигенов CD73+ CD90+ CD105+ CD34– CD45– CD11b– CD14– CD19– CD79a– HLA-DR–, а также мультипотентный дифференцировочный потенциал в стандартных условиях дифференцировки *in vitro* [14]. Гипоксия способствует пролиферации и миграции МСК *in vitro* [55] и *in vivo* у модельных животных с ишемией задних конечностей (ИЗК) [12]. В гипоксической среде значительно увеличивается продукция МСК ростовых факторов и хемокинов [51].

Уникальные характеристики МСК (мультипотентность, способность мигрировать в участки травмы и обеспечить терапевтический эффект благодаря секреции цитокинов и иммуномодулирующих факторов) делают их привлекательными для использования в клеточной терапии различных заболеваний. Основные механизмы влияния трансплантированных МСК – хоминг в ишемические и гипоксические области, где они оказывают трофическое, иммуномодулирующее и паракринное действие [2, 12]. Местное иммуносупрессивное действие МСК позволяет использовать аллогенные МСК в лечении состояний, при которых невозможна трансплантация аутологичных клеток [9, 11, 31].

Доклинические и клинические исследования продемонстрировали безопасность лечения МСК, хотя долгосрочная биобезопасность требует дальнейшего изучения [9]. В исследовании К. Otsu и соавт. [44] добавление большого числа МСК КМ ингибировало образование эндотелиальной трубки в матригеле за счет продукции цитотоксичных активных форм кислорода. Антиангиогенный эффект может быть вызван избыточным количеством вводимых МСК, так как цитотоксичность для ЭК значительно снизилась, когда количество добавленных МСК уменьшили. Эти результаты свидетельствуют о том, что следует избегать введения высоких концентраций МСК, способных индуцировать апоптоз новообразованных сосудов. Кроме того, при хронических воспалительных состояниях МСК вовлекаются в фиброзный процесс, т.е. их терапевтические эффекты зависят от воспалительной микросреды, что должно быть принято во внимание при использовании в терапевтических целях [28].

В периваскулярной нише почти всех органов *in vivo* присутствует популяция МСК-подобных предшественников, которые участвуют в регенерации ткани. Эти периваскулярные клетки, обычно называемые перицитами, расположены на abluminal стороне кровеносных сосудов. Анатомически перициты тесно окружают ЭК, заполняя интиму сосудов, что позволяет им регулировать пролиферацию и подвижность ЭК, сократимость, стабильность, целостность, локальный тканевой рост и ремоделирование сосудов. Миграция перицитов происходит в ответ на патофизиологические события, такие как заживление ран, воспаление или ангиогенез [9, 12].

Все перициты обладают мигрирующим дифференцировочным потенциалом *in vitro* и *in vivo*, вне зависимости от их тканевого происхождения [11]. В зависимости от типа сосудистого русла наружную поверхность эндо-

теля, выстилающего кровеносные сосуды, покрывают перicyты или клетки гладкой мускулатуры кровеносных сосудов (КГМКС). В отличие от других мышечных клеток, КГМКС не являются терминально дифференцированными клетками. КГМКС с различной (веретенообразной или эпителиоидной) морфологией могут выполнять сократительную или синтетическую функции, соответственно. Во время нормального развития сосудов КГМКС продуцируют компоненты МКМ сосудистой стенки, такие как коллаген, эластин и протеогликаны. Когда этот процесс закончен, КГМКС дифференцируются в сократительный фенотип, но в ответ на повреждение или при патологических состояниях, например при атеросклерозе, сократительные КГМКС могут дедифференцироваться и повторно войти в клеточный цикл [26].

Адипозные СК (АСК) также используются в регенеративной терапии и заживлении ран [37]. Миграционную активность АСК модулируют с помощью набора хемокинов и ростовых факторов, в том числе PDGF, TGF- β 1 и TNF α . АСК стимулируют пролиферацию и миграцию *in vitro* ЭК и сосудистых фибробластов посредством секреции высоких уровней промиграционных и ангиогенных цитокинов [12].

Экспериментальные исследования

В попытках усилить ангиогенез и артериогенез в доклинических моделях БПА после индукции острой ИЗК у мышей путем экстирпации бедренной артерии в мышцу (бедренную, икроножную) вводили факторы VEGF или bFGF. Монотерапия VEGF или bFGF улучшает перфузию задних конечностей, но результат не стоек и сопровождается побочными эффектами. Мышечные капилляры задних конечностей, генерируемые в ответ на инъекцию ангиогенных факторов, перфузированы не эффективно, дисморфны и протекают. Экзогенные VEGF и bFGF вызывают системную гипотензию и, что более важно, инициируют неоваскуляризацию в других местах, помимо предполагаемой мишени (задних конечностей) [15]. Для усиления постишемического ангиогенеза и восстановления функции пораженной конечности у модельных животных чаще всего используют МСК и ЭКП. В мышинной модели ИЗК, вызванной бедренной перевязкой, местная внутримышечная инъекция МСК КМ улучшила перфузию конечности, повысила плотность кровеносных сосудов, снизила частоту аутоампутации, ослабила мышечную атрофию и значительно улучшила функцию конечности. Эти эффекты происходили без включения МСК в кровеносные сосуды и были вызваны паракринным действием МСК, так как уровни VEGF и FGF-2 в леченных мышцах были повышены и VEGF локализовался вместе с МСК [29]. В отличие от результатов исследования на мышах [29], A. Al-Khaldi с соавт. [1] и T. Iwase с соавт. [22] обнаружили в крысиной модели ИЗК, что трансплантированные МСК дифференцировались в ЭК. Терапевтический эффект МСК КМ у крыс превосходит эффект МНК КМ [9, 22].

Внутривенное введение МСК также улучшает кровоснабжение задних конечностей мыши в модели ИЗК. Имплантированные МСК достигают мышечной ткани и дифференцируются в ЭК, однако фактическая степень включения этих клеток в сосудистые структуры реципиента менее 1%, поэтому считается, что терапевтический ангиогенный эффект МСК вызван преимущественно их паракринным действием, а не трансдифференцировкой [18, 41, 59].

C. Kalka и др. [25] впервые продемонстрировали, что человеческие ЭКП, размноженные *in vitro* и трансплан-

тированные иммунодефицитным мышам после индукции ИЗК, улучшают перфузию и капиллярную плотность задних конечностей. ЭКП, предварительно культивированные в условиях гипоксии, экспрессируют больше VEGF, активнее дифференцируются в ЭК и эффективнее восстанавливают перфузию задних конечностей, чем ЭКП, культивированные в условиях нормоксии [23]. Длительное культивирование ЭКП усиливает экспрессию рецептора хемокинов CXCR4, что повышает миграционную способность клеток [49]. Трансплантация таких модифицированных ЭКП мышам с ИЗК привела к значительно более выраженному улучшению гемодинамики задних конечностей, чем трансплантация свежееизолированных ЭКП.

Трансдифференцировка МСК в ЭК – очень редкое событие, и более 99% вновь образованных после трансплантации МСК кровеносных сосудов происходят из ЭК хозяина [9]. Прекодиционирование МСК в специфической дифференцировочной эндотелиогенной среде может коммитировать МСК в более «ангиогенный» тип клеток. Например, плацентарные МСК, инкубированные с VEGF, обладают более высокой ангиогенной активностью, чем обычные плацентарные МСК [38]. МСК КМ, которые дифференцировались *in vitro* в ЭК-подобные клетки, индуцируют образование значительно большего количества кровеносных сосудов *in vivo* [58]. МСК адипозного происхождения также успешно используются для усиления ангиогенеза у мышей с ИЗК [33]. МСК присутствуют в избытке в жировой строме и могут быть легко изолированы, более того, эти клетки могут дифференцироваться в фенотипы ЭК и сосудистых гладкомышечных клеток *in vitro* и значительно улучшать постишемический ангиогенез после трансплантации *in vivo* [29].

Клинические исследования

Терапевтический ангиогенез – экспериментальный подход для восстановления перфузии у тех пациентов с БПА, которые не соответствуют требованиям хирургической реваскуляризации или чрескожного вмешательства. Хотя на доклинических моделях показано, что ангиогенные ростовые факторы улучшают перфузию конечностей, но клинические испытания (например, с VEGF) показали минимальный эффект или его отсутствие [47]. Клеточная терапия может обеспечить постоянный источник факторов роста и структурных элементов для терапевтического ангиогенеза. Цель клеточной терапии заключается в образовании сосудов, которые позволят повысить приток крови к ишемической ткани, тем самым облегчить состояние и, в тяжелых случаях, повысить сохранность конечностей. E. Tateishi-Yuuyama и др. [53] первыми сообщили об эффективности трансплантации МНК при БПА. 20 пациентов с сахарным диабетом и симптоматической БПА были рандомизированы для получения аутологичных МНК КМ или ПК, вводимых в икроножную мышцу. Отмечено достоверное улучшение лодыжечно-плечевого индекса ABI (Ankle Brachial Pressure Index) и чрескожного парциального давления кислорода (TcO₂), исчезновение боли при ходьбе и в покое, терапевтический эффект сохранялся на протяжении 24 недель. Терапевтический ангиогенез может быть обусловлен ЭКП и МСК, присутствующими в КМ [5, 56].

Большинство клинических исследований клеточной терапии для БПА выполнены с неконтролируемыми группами пациентов, и лишь несколько плацебо-контролируемых рандомизированных клинических исследований (РКИ) с участием небольших групп пациентов с БПА

различной степени тяжести. Терапевтический продукт почти во всех исследованиях состоял из МНК КМ и/или ПК, собранных с или без мобилизации гранулоцитарным колонистимулирующим фактором (Г-КСФ). Клетки были доставлены прямой внутримышечной инъекцией в несколько участков пораженной конечности или внутриартериально через бедренную артерию. Исследования включали в себя определение индекса ABI, TcO_2 и ангиографию в начале исследования и после клеточной терапии, со средним периодом наблюдения от 6 месяцев до 1 года [8]. Для получения аутологичного клеточного продукта СК КМ выращивают *in vitro*, чтобы ввести обратно пациенту в виде внутриартериальных, внутривенных или внутримышечных инъекций [20, 36, 40]. Через несколько часов после трансплантации СК выявляют во всех тканях организма независимо от режима введения [32, 36, 40]. В некоторых случаях выполняются оба способа применения в сочетании [5]. Пилотные исследования клеточной терапии у пациентов с БПА показали, что клеточная терапия является безопасной [8].

В двойном слепом РКИ по сравнению эффективности МНК КМ и МСК КМ для лечения больных сахарным диабетом с КИК и язвами ног частота заживления язв через 6 недель после инъекции в группе МСК была значительно выше, чем в группе МНК, и составила 100% на четыре недели раньше, чем в группе МНК. Через 24 недели после трансплантации МСК улучшение перфузии конечности было более значительным, чем индуцированное трансплантацией МНК, по критериям безболезненного времени прогулки, величины ABI, TcO_2 и магнитно-резонансной ангиографии. Авторы пришли к выводу, что терапия МСК лучше переносится и эффективнее, чем терапия МНК, улучшает перфузию нижних конечностей [40].

Больные диабетом со стажем болезни более 20 лет, с КИК и язвами стопы были включены в проспективное контролируемое РКИ по трансплантации СК КМ и рандомизированы на группы внутримышечного (в икроножную мышцу) или внутриартериального (в *A. femoralis superficialis*) введения МНК или МСК КМ. Критериями исследования были полное заживление раны, время заживления язвы, число больших ампутаций, число осложнений лечения, улучшение ABI, TcO_2 , местного кровоснабжения (оксигенация, лазер-доплеровское исследование) и ангиографически доказанный терапевтический эффект. Гликемический статус пациентов был скорректирован. После трансплантации у 18 из 22 больных было достигнуто полное заживление язв. Отмечены значительные улучшения TcO_2 , индекса ABI и оксигенации, особенно в группе МСК. Не наблюдалось побочных эффектов, не было случаев развития злокачественной опухоли, неконтролируемой неоваскуляризации или кальцификации в точке инъекции. После применения СК удалось избежать ампутации (в частности, у пациента с тяжелой гангреной передней части стопы) или выполнить малую *minor* ампутацию вместо большой. У 7 из 22 пациентов обнаружены новые мелкие коллатерали. Сравнение путей введения (внутриартериального против внутримышечного) независимо от клеточного продукта не дало статистически значимых различий. Исследователи заключили, что терапия аутологичными МСК и МНК безопасна (существенных различий между ними не выявлено), может улучшить микроциркуляцию, по крайней мере временно, и потенциально поддерживает заживление ран у больных с ДС [31].

В клиническом исследовании фазы I МНК КМ, содержащие ЭКП и МСК, вводили внутримышечно в икронож-

ные мышцы больных диабетом типа II пациентов с КИК. Результатом было повышение толерантности к физической нагрузке у большинства пациентов, нормализация ABI, сохранявшиеся до конца наблюдения (10±2 месяцев), повышение TcO_2 , уменьшение хромоты, улучшение ангиограммы, перфузии и качества жизни [36].

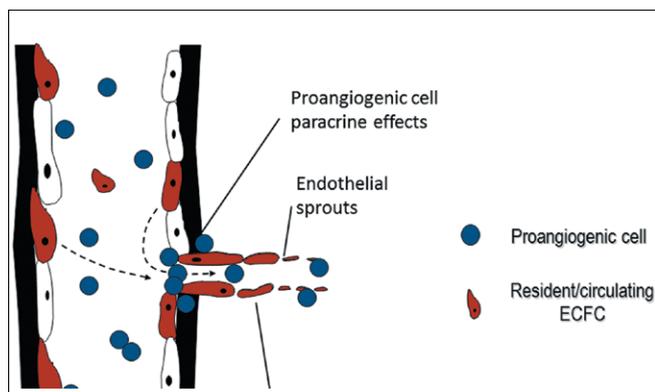
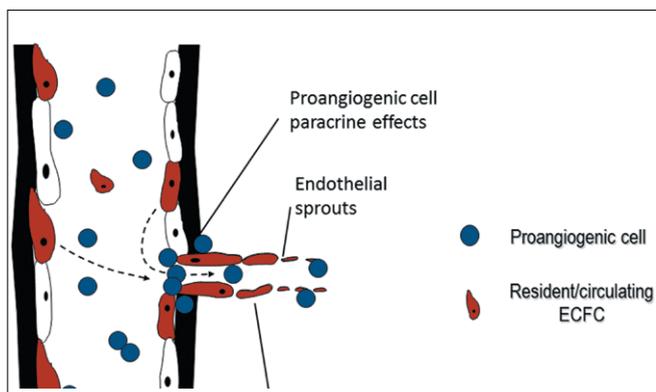
Y. Gu и др. [19] сравнили результаты внутримышечной (нескольких местах вдоль артерий ног) и внутриартериальной инъекции свежеизолированных МНК КМ у больных с ишемией конечностей. Уменьшение боли в покое, исчезновение зябкости, улучшение ABI и TcO_2 после лечения не зависят от пути введения клеток.

Большинство исследований используют аутологичные МНК КМ [17] и Г-КСФ-мобилизованные МНК ПК (М-МНК) [21, 24, 45], ЭКП [35] или клетки CD34+ [27]. Важно отметить, что аутологичные М-МНК больных диабетом могут быть эффективно использованы для аутологичной трансплантации [21]. Тем не менее, одно пилотное исследование с аутологичными М-МНК ПК у пожилых пациентов с КИК было прекращено досрочно в связи с повышенной частотой тяжелых осложнений, в том числе инфаркта миокарда, сердечной недостаточности и массивного брыжеечного тромбоза, как прямого следствия Г-КСФ-мобилизации КМ [24].

Что касается связи между субпопуляциями МНК КМ и терапевтическим эффектом, выявлена значительная разница по числу ЭКП KDR+ между респондентами и нереспондентами, хотя не наблюдается никаких корреляций между общим количеством МНК и изменением ABI. Улучшение перфузии конечности было связано с клетками KDR+, но не субпопуляциями CD34+ или CD133+ [42].

В многоцентровом РКИ фазы II пациенты с КИК получили внутриартериальную инъекцию МНК КМ или плацебо. Через 3 месяца все пациенты получили трансплантацию МНК КМ, то есть все пациенты, получившие плацебо, перешли на активное лечение МНК КМ, а пациенты, получившие трансплантацию МНК КМ изначально, получили ее повторно. Через 6 месяцев со дня первой трансплантации Клеточная терапия улучшила заживление язв и снизила частоту большой ампутации конечностей вдвое за 120 дней наблюдения, однако нормализация ABI, которая являлась целью исследования, не была достигнута, сохранность конечностей и выживаемость без ампутации не отличались между группами [57]. Обычно повторное введение МНК КМ повышает сохранность конечности, а причиной неудачи терапии может быть лимфопения и тромбоцитопения в исходном концентрате КМ, которую следует хотя бы частично корригировать добавлением тромбоцитов [50].

Мета-анализ клинических исследований по клеточной терапии у пациентов с БПА показал, что лечные аутологичными СК эффективно улучшает различные параметры состояния больных [7, 16, 54]. Мета-анализ 37 плацебо-контролируемых и неконтролируемых, рандомизированных и нерандомизированных исследований продемонстрировал, что аутологичные МНК КМ или М-МНК эффективны в плане улучшения суррогатных показателей ишемии, субъективных симптомов и заживления язв и риска ампутации, в то время как монотерапия Г-КСФ не приводит к значительному улучшению этих показателей. Внутримышечный путь трансплантации эффективнее внутриартериального, и использование М-МНК полезнее, чем МНК КМ [16]. Мета-анализ 45 клинических испытаний СК-терапии и 7 контролируемых и неконтролируемых РКИ показал, что клеточная терапия с использованием МНК КМ или М-МНК в одинаковой степени снижает риск ампутации [7]. Мета-анализ 12 РКИ, в том числе 7 исследований



с использованием МНК КМ, 3 исследования с использованием МСК КМ, 2 исследования с использованием М-МНК и 1 исследование с использованием Ixmyelocel-T (МНК КМ, инкубированные для размножения МСК CD90+) [46], сравнил клеточную терапию со стандартной медицинской помощью с или без плацебо у 510 пациентов с КИК [54]. По критерию частоты большой ампутации и выживаемости без ампутации наблюдался выраженный положительный эффект клеточной терапии. Однако когда анализ был ограничен 7 плацебо-контролируемыми РКИ, благотворное влияние на изменение этих параметров не имело существенного значения, что указывает на необходимость плацебо-контроля.

В многоцентровом слепом клиническом исследовании фазы I/IIa Г-КСФ-мобилизованные CD34+ клетки, которые включают в себя фракции ЭКП и ГСК, вводили внутримышечно пациентам с БПА и КИК [27]. Через 12 недель после трансплантации клеток достигнуто значительное улучшение по шкале эффективности ТВРП (toe brachial pressure index), по шкале боли Wong–Baker и расстоянию ходьбы без боли независимо от дозы (10^5 /кг, 5×10^5 /кг, или 10^6 /кг). В течение этого периода не было случаев смерти или большой ампутации. Долгосрочные результаты лечения этих пациентов были оценены через 208 недель после терапии [30]. Показатели функционального восстановления (шкала боли Wong–Baker, размер язвы и толерантность к физической нагрузке) значительно улучшились по сравнению с исходным уровнем. 4 пациента умерли, 1 перенес большую ампутацию, у остальных TcO_2 поддерживалось до 156 недель, индекс ТВРП за 208 недель не изменился.

Двойное слепое плацебо-контролируемое РИК внутримышечных инъекций аутологичных клеток CD34+ у 28 пациентов с КИК [39] выявило лишь тенденцию к снижению частоты ампутации через 6 и 12 месяцев после лечения, без различий по индексам ABI и ТВРП, боли в мышцах ног, дистанции безболезненной ходьбы и заживлению ран.

Эффективность терапии клетками CD133+ ПК изучена у 7 пациентов с атеросклеротической БПА, 1 – с болезнью Бюргера и 1 – с тромбозомболическим расстройством [10]. Клетки CD133+, изолированные из аутологичных М-МНК, вводили внутримышечно. 7 из 9 пациентов прожили год без ампутации ноги, у них отмечена тенденция к увеличению времени безболезненной ходьбы и повышение толерантности к физической нагрузке.

Нормальный обмен эндотелия происходит медленно, скорость эндотелиальной пролиферации увеличивается в ответ на повреждение. При некоторых болезненных состояниях, когда подавление эндотелиальной репарации может представлять собой компонент патофизиологии (например, при атеросклерозе), можно предсказать снижение процентной доли тканевых резидентных колониеобразу-

ющих ЭКП, уменьшение их способности к эндотелиальной пролиферации, уменьшение пула циркулирующих ЭК [6].

Хотя проангиогенные гемопоэтические клетки (ПГК) КМ не являются настоящими эндотелиальными предшественниками, они привлекаются в участки активного посттравматического ангиогенеза [6], облегчают репарацию сосудов без стабильной интеграции в ремоделированный эндотелий [3]. Модель взаимодействия между ПГК и ЭКП во время травмы и/или физиологического ремоделирования сосудов на рисунке [6]. В этой модели ПГК быстро направляются в места повреждения сосудов, чтобы создать проангиогенную микросреду. Секретия паракринных факторов этими клетками привлекает ЭКП с высоким пролиферативным потенциалом из циркуляции или резидентные ЭКП из сосудистой стенки и стимулирует ангиогенез. Это подтверждается тем, трансплантация клеток обоих типов приводит к повышенному *in vivo* неангиогенезу и восстановлению кровотока по сравнению с трансплантацией клеток одного типа. Степень ремоделирования сосудов зависит от пролиферативного потенциала резидентных тканевых ЭКП или количества циркулирующих ЭКП, которые могут быть привлечены в ткани. Авторы предпочитают определять специфическую клеточную популяцию по фенотипу и функции, нежели использовать менее точный термин ЭКП [6].

Заключение

Таким образом, многочисленные клинические исследования и ряд работ по их мета-анализу показали эффективность клеточной терапии в улучшении тканевой перфузии и снижении частоты ампутации. С помощью клеточной терапии может быть достигнуто улучшение микроциркуляции благодаря образованию коллатералей, хотя остаются некоторые расхождения в результатах отдельных клинических испытаний относительно лучших источников клеток и лучших путей доставки. В большинстве исследований показано, что метод безопасен. Однако в некоторых из них не удалось достичь терапевтической цели. Кроме того, оптимальные пути трансплантации, длительность терапии, дозы, выживаемость клеток и механизмы их действия, долгосрочные последствия терапии требуют уточнения. Основные критические замечания большинства исследований относятся к относительно небольшим размерам выборки, отсутствию рандомизации и надлежащего контроля [8].

Вопросы, требующие изучения:

1) *Источник клеток*: неясно, какой оптимальный процент ЭКП должен содержать клеточный продукт.

2) *Эффект сопутствующих заболеваний сосудов на СК и клетки-предшественники*: БПА наиболее часто развивается у больных диабетом и гиперхолестеринемией. Эти состояния оказывают негативное влияние на коли-

чество аутологичных ЭКП и их пролиферативный потенциал *ex vivo*, а также их эффективность после трансплантации. Гиперхолестеринемия и диабет генерируют системный окислительный стресс и вредные эффекты оксидантов на СК и клетки-предшественники, в том числе МСК и ЭКП [51]. Старение также играет важную роль в эффективности сосудистых СК и клеток-предшественников. Количество циркулирующих ЭКП, способность этих клеток мигрировать и формировать сосудистую трубку

in vitro, участвовать в ангиогенезе *in vivo* снижаются у пожилых животных [13].

3) *Генетическая модификация СК и клеток-предшественников* может быть применена при получении терапевтических клеток для лечения больных БПА. Установлена возможность повысить выживаемость, хоминг и приживание клеток CD34+ с помощью генного трансфера [51]. Вполне вероятно, что эта парадигма может быть применена для лечения БПА.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

- Al-Khalidi, A. Therapeutic angiogenesis using autologous bone marrow stromal cells: improved blood flow in a chronic limb ischemia model / A. Al-Khalidi [et al.] // *Ann. thorac. surg.* – 2003. – Vol. 75, №1. – P. 204–209.
- Amann, B. Autologous bone marrow cell transplantation increases leg perfusion and reduces amputations in patients with advanced critical limb ischaemia due to peripheral artery disease / B. Amann [et al.] // *Cell transplant.* – 2009. – Vol. 18, №3. – P. 371–380.
- Asahara, T. Concise review: Circulating endothelial progenitor cells for vascular medicine / T. Asahara [et al.] // *Stem cells.* – 2011. – Vol. 29, №11. – P. 1650–1655.
- Asahara, T. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis / T. Asahara [et al.] // *Science.* – 1997. – Vol. 275, №5302. – P. 964–967.
- Bartsch, T. Transplantation of autologous mononuclear bone marrow stem cells in patients with peripheral arterial disease (the TAM-PAM study) / T. Bartsch [et al.] // *Clin. res. cardiol.* – 2007. – Vol. 96, №1. – P. 891–899.
- Basile, D.P. Circulating and tissue resident endothelial progenitor cells / D.P. Basile, M.C. Yoder // *J. cell physiol.* – 2014. – Vol. 229, №1. – P. 10–16.
- Benoit, E. Safety and efficacy of autologous cell therapy in critical limb ischemia: a systematic review / E. Benoit [et al.] // *Cell transplant.* – 2013. – Vol. 22, №3. – P. 545–562.
- Botham, C.M. Clinical trials of adult stem cell therapy for peripheral artery disease / C.M. Botham [et al.] // *Method. debakey cardiovasc. j.* – 2013. – Vol. 9, №4. – P. 201–205.
- Bronckaers, A. Mesenchymal stem stromal cells as a pharmacological and therapeutic approach to accelerate angiogenesis / A. Bronckaers [et al.] // *Pharmacol. therapeutics.* – 2014. – Vol. 143, №2. – P. 181–196.
- Burt, R.K. Autologous peripheral blood CD133+ cell implantation for limb salvage in patients with critical limb ischemia / R.K. Burt [et al.] // *Bone marrow transplant.* – 2010. – Vol. 45, №1. – P. 111–116.
- Caplan, A.I. The MSC: an injury drugstore / A.I. Caplan, D. Correa // *Cell stem cell.* – 2011. – Vol. 9, №1. – P. 11–15.
- Chen, W.C.W. Cellular kinetics of perivascular MSC precursors / W.C.W. Chen [et al.] // *Stem cells intern.* – 2013. – №983059. doi: 10.1155/2013/983059.
- Dimmeler, S. Aging and disease as modifiers of efficacy of cell therapy / S. Dimmeler, A. Leri // *Circ. res.* – 2008. – Vol. 102, № 11. – P. 1319–1330.
- Dominici, M. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells: the International Society for Cellular Therapy position statement / M. Dominici [et al.] // *Cytotherapy.* – 2006. – Vol. 8, №4. – P. 315–317.
- Epstein, S.E. Angiogenesis therapy. Amidst the hype, the neglected potential for serious side effects / S.E. Epstein [et al.] // *Circulation.* – 2001. – Vol. 104, №1. – P. 115–119.
- Fadini, G.P. Autologous stem cell therapy for peripheral arterial disease. Meta-analysis and systematic review of the literature / G.P. Fadini [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2010. – Vol. 209, №1. – P. 10–17.
- Gabr, H. Limb salvage using intramuscular injection of unfractionated autologous bone marrow mononuclear cells in critical limb ischemia: a prospective pilot clinical trial / H. Gabr [et al.] // *Exp. clin. transplant.* – 2011. – Vol. 9, №3. – P. 197–202.
- Gnecchi, M. Paracrine mechanisms in adult stem cell signaling and therapy / M. Gnecchi [et al.] // *Circ. res.* – 2008. – Vol. 103, №11. – P. 1204–1219.
- Gu, Y. Transplantation of autologous bone marrow mononuclear cells for patients with lower limb ischemia / Y. Gu [et al.] // *Chin. med. j.* – 2008. – Vol. 121, №11. – P. 963–967.
- Hart, C.A. et al. Stem cells of the lower limb: their role and potential in management of critical limb ischemia / C.A. Hart [et al.] // *Exp. biol. med.* – 2013. – Vol. 238, №10. – P. 1118–1126.
- Huang, P. et al. Autologous transplantation of granulocyte colony-stimulating factor mobilized peripheral blood mononuclear cells improves critical limb ischemia in diabetes / P. Huang [et al.] // *Diabetes care.* – 2005. – Vol. 28, №9. – P. 2155–2160.
- Iwase, T. Comparison of angiogenic potency between mesenchymal stem cells and mononuclear cells in a rat model of hindlimb ischemia / T. Iwase [et al.] // *Cardiovasc. res.* – 2005. – Vol. 66, №3. – P. 543–551.
- Jiang, M. Angiogenesis by transplantation of HIF-1 α modified EPCs into ischemic limbs / M. Jiang [et al.] // *J. cell biochem.* – 2008. – Vol. 103, №1. – P. 321–334.
- Jonsson, T.B. Adverse events during treatment of critical limb ischemia with autologous peripheral blood mononuclear cell implant / T.B. Jonsson [et al.] // *Int. angiolog.* – 2012. – Vol. 31, №1. – P. 77–84.
- Kalka, C. Transplantation of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization / C. Kalka [et al.] // *Proc. natl. acad. sci.* – 2000. – Vol. 97, №7. – P. 3422–3427.
- Kane, N.M. Pluripotent stem cell differentiation into vascular cells: a novel technology with promises for vascular (generation) / N.M. Kane [et al.] // *Pharmacol. ther.* – 2011. – Vol. 129, №1. – P. 29–49.
- Kawamoto, A. Intramuscular transplantation of G-CSF-mobilized CD34+ cells in patients with critical limb ischemia: a phase I/IIa, multicenter, single-blinded, dose-escalation clinical trial / A. Kawamoto [et al.] // *Stem cells.* – 2009. – Vol. 27, № 11. – P. 2857–2864.
- Kim, N. Clinical applications of mesenchymal stem cells / Kim N., Cho S.G. // *Korean j. intern. med.* – 2013. – Vol. 28, №4. – P. 387–402.
- Kinnaird, T. Local delivery of marrow-derived stromal cells augments collateral perfusion through paracrine mechanisms / T. Kinnaird [et al.] // *Circulation.* – 2004. – Vol. 109, №12. – P. 1543–1549.
- Kinoshita, M. Long-term clinical outcome after intramuscular transplantation of granulocyte colony stimulating factor-mobilized CD34 positive cells in patients with critical limb ischemia / M. Kinoshita [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2012. – Vol. 224, №2. – P. 440–445.
- Kirana, S. Autologous stem cell therapy in the treatment of limb ischaemia induced chronic tissue ulcers of diabetic foot patients / S. Kirana [et al.] // *Int. j. clin. pract.* – 2012. – Vol. 66, №4. – P. 384–393.
- Klepanec, A. No difference in intra arterial and intramuscular delivery of autologous bone-marrow cells in patients with advanced critical limb ischemia / A. Klepanec [et al.] // *Cell transplant.* – 2012. – Vol. 21, №9. – P. 1909–1918.
- Kondo, K. Implantation of adipose-derived regenerative cells enhances ischemia-induced angiogenesis / K. Kondo [et al.] // *Arterioscler. thromb. vasc. biol.* – 2009. – Vol. 29, №1. – P. 61–66.
- Lambert, M.A. Medical management of critical limb ischaemia: where do we stand today? / M.A. Lambert, J.J. Belch // *J. intern. med.* – 2013. – Vol. 274, №4. – P. 295–307.
- Lara-Hernandez, R. Safety and efficacy of therapeutic angiogenesis as a novel treatment in patients with critical limb ischemia / R. Lara-Hernandez [et al.] // *Ann. vasc. surg.* – 2010. – Vol. 24, №4. – P. 287–94.
- Lasala, G.P. Combination stem cell therapy for the treatment of severe limb ischemia: safety and efficacy analysis / G.P. Lasala [et al.] // *Angiology.* – 2010. – Vol. 61, №6. – P. 551–556.
- Lee, H.C. Safety and effect of adipose tissue-derived stem cell implantation in patients with critical limb ischemia / H.C. Lee [et al.] // *Circ. j.* – 2012. – Vol. 76, №7. – P. 1750–1760.
- Lee, M.Y. Angiogenesis in differentiated placental multipotent mesenchymal stromal cells is dependent on integrin $\alpha 5 \beta 1$ / M.Y. Lee [et al.] // *PLoS one.* – 2009. – Vol. 4, №10. – P. e6913.
- Losordo, D.W. A randomized, controlled pilot study of autologous CD34+ cell therapy for critical limb ischemia / D.W. Losordo [et al.] // *Circulation.* – 2012. – Vol. 5, №6. – P. 821–830.
- Lu, D. 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 [et al.] // *Diabetes res. clin. pract.* – 2011. – Vol. 92, №1. – P. 26–36.
- Moon, M.H. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells improve postnatal neovascularization in a mouse model of hindlimb ischemia / M.H. Moon [et al.] // *Cell physiol. biochem.* – 2006. – Vol. 17, №5–6. – P. 279–290.

42. Murphy, M.P. Autologous bone marrow mononuclear cell therapy is safe and promotes amputation-free survival in patients with critical limb ischemia / M.P. Murphy [et al.] // *J. vasc. surg.* – 2011. – Vol. 53, №6. – P. 1565–1574.
43. Norgren, L. Intersociety consensus for the management of peripheral arterial disease (TASC II) / L. Norgren [et al.] // *Eur. j. vasc. endovasc. surg.* – 2007. – Vol. 33, Suppl. 1. – S. 1–75.
44. Otsu, K. Concentration-dependent inhibition of angiogenesis by mesenchymal stem cells / K. Otsu [et al.] // *Blood.* – 2009. – Vol. 113, №18. – P. 4197–4205.
45. Ozturk, A. Therapeutic potential of autologous peripheral blood mononuclear cell transplantation in patients with type 2 diabetic critical limb ischemia / A. Ozturk [et al.] // *J. diabetes complications.* – 2012. – Vol. 26, №1. – P. 29–33.
46. Powell, R.J. Cellular therapy with Ixmyelocel-T to treat critical limb ischemia: the randomized, double-blind, placebo-controlled RESTORE-CLI trial / R.J. Powell [et al.] // *Mol. ther.* – 2012. – Vol. 20, №6. – P. 1280–1286.
47. Rajagopalan, S. Regional angiogenesis with vascular endothelial growth factor in peripheral arterial disease: a phase II randomized, double-blind, controlled study of adenoviral delivery of vascular endothelial growth factor 121 in patients with disabling intermittent claudication / S. Rajagopalan [et al.] // *Circulation.* – 2003. – Vol. 108, №16. – P. 1933–1938.
48. Raval, Z. Cell therapy of peripheral arterial disease from experimental findings to clinical trials / Z. Raval, D.W. Losordo // *Circ. res.* – 2013. – Vol. 112, №9. – P. 1288–1302.
49. Shiba, Y. Bone marrow CXCR4 induction by cultivation enhances therapeutic angiogenesis / Y. Shiba [et al.] // *Cardiovasc. res.* – 2009. – Vol. 81, №4. – P. 169–177.
50. Shimamura, M. Gene therapy and cell-based therapies for therapeutic angiogenesis in peripheral artery disease / M. Shimamura [et al.] // *Biomed. res. int.* – 2013. – №186215. doi: 10.1155/2013/186215.
51. Snieder, E.B. Regenerative medicine in the treatment of peripheral arterial disease / E.B. Snieder [et al.] // *J. cell biochem.* – 2009. – Vol. 108, №4. – P. 753–761.
52. So, Y.Y. Angiogenesis and its therapeutic opportunities / Y.Y. So, M.K. Sang // 2013. – №127170. doi: 10.1155/2013/127170.
53. Tateishi-Yuyama, E. Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomised controlled trial / E. Tateishi-Yuyama [et al.] // *Lancet.* – 2002. – Vol. 360, №9331. – P. 427–435.
54. Teraa, M. Autologous bone marrow-derived cell therapy in patients with critical limb ischemia: a meta-analysis of randomized controlled clinical trials / M. Teraa [et al.] // *Ann. surgery.* – 2013. – Vol. 258, №6. – P. 922–929.
55. Tottey, S. et al. Extracellular matrix degradation products and low-oxygen conditions enhance the regenerative potential of perivascular stem cells / S. Tottey [et al.] // *Tissue eng. A.* – 2011. – Vol. 17, №1–2. – P. 37–44.
56. Velazquez, O. Angiogenesis and vasculogenesis: inducing the growth of new blood vessels and wound healing by stimulation of bone marrow-derived progenitor cell mobilization and homing / O. Velazquez // *J. vasc. surg.* – 2007. – Vol. 45, Suppl. A. – A39–47.
57. Walter, D.H. Intraarterial administration of bone marrow mononuclear cells in patients with critical limb ischemia: a randomized-start, placebo-controlled pilot trial (PROVASA) / D.H. Walter [et al.] // *Circulation.* – 2011. – Vol. 124, №1. – P. 26–37.
58. Whyte, J.L. Density of human bone marrow stromal cells regulates commitment to vascular lineages / J.L. Whyte [et al.] // *Stem cell res.* – 2011. – Vol. 6, №3. – P. 238–250.
59. Wu, Y. Mesenchymal stem cells enhance wound healing through differentiation and angiogenesis / Y. Wu [et al.] // *Stem cells.* – 2007. – Vol. 25, №10. – P. 2648–2659.
60. Yoder, M.C. Human endothelial progenitor cells / M.C. Yoder // *Cold spring harb. perspect. med.* – 2012. – Vol. 2, № 7. – P. a006692.

REFERENCES

1. Al-Khalidi, A. Therapeutic angiogenesis using autologous bone marrow stromal cells: improved blood flow in a chronic limb ischemia model / A. Al-Khalidi [et al.] // *Ann. thorac. surg.* – 2003. – Vol. 75, №1. – P. 204–209.
2. Amann, B. Autologous bone marrow cell transplantation increases leg perfusion and reduces amputations in patients with advanced critical limb ischaemia due to peripheral artery disease / B. Amann [et al.] // *Cell transplant.* – 2009. – Vol. 18, №3. – P. 371–380.
3. Asahara, T. Concise review: Circulating endothelial progenitor cells for vascular medicine / T. Asahara [et al.] // *Stem cells.* – 2011. – Vol. 29, №11. – P. 1650–1655.
4. Asahara, T. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis / T. Asahara [et al.] // *Science.* – 1997. – Vol. 275, №5302. – P. 964–967.
5. Bartsch, T. Transplantation of autologous mononuclear bone marrow stem cells in patients with peripheral arterial disease (the TAM-PAM study) / T. Bartsch [et al.] // *Clin. res. cardiol.* – 2007. – Vol. 96, №1. – P. 891–899.
6. Basile, D.P. Circulating and tissue resident endothelial progenitor cells / D.P. Basile, M.C. Yoder // *J. cell physiol.* – 2014. – Vol. 229, №1. – P. 10–16.
7. Benoit, E. Safety and efficacy of autologous cell therapy in critical limb ischemia: a systematic review / E. Benoit [et al.] // *Cell transplant.* – 2013. – Vol. 22, №3. – P. 545–562.
8. Botham, C.M. Clinical trials of adult stem cell therapy for peripheral artery disease / C.M. Botham [et al.] // *Method. debakey cardiovasc. j.* – 2013. – Vol. 9, №4. – P. 201–205.
9. Bronckaers, A. Mesenchymal stem stromal cells as a pharmacological and therapeutic approach to accelerate angiogenesis / A. Bronckaers [et al.] // *Pharmacol. therapeutics.* – 2014. – Vol. 143, №2. – P. 181–196.
10. Burt, R.K. Autologous peripheral blood CD133+ cell implantation for limb salvage in patients with critical limb ischemia / R.K. Burt [et al.] // *Bone marrow transplant.* – 2010. – Vol. 45, №1. – P. 111–116.
11. Caplan, A.I. The MSC: an injury drugstore / A.I. Caplan, D. Correa // *Cell stem cell.* – 2011. – Vol. 9, №1. – P. 11–15.
12. Chen, W.C.W. Cellular kinetics of perivascular MSC precursors / W.C.W. Chen [et al.] // *Stem cells intern.* – 2013. – №983059. doi: 10.1155/2013/983059.
13. Dimmeler, S. Aging and disease as modifiers of efficacy of cell therapy / S. Dimmeler, A. Leri // *Circ. res.* – 2008. – Vol. 102, № 11. – P. 1319–1330.
14. Dominici, M. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells: the International Society for Cellular Therapy position statement / M. Dominici [et al.] // *Cytotherapy.* – 2006. – Vol. 8, №4. – P. 315–317.
15. Epstein, S.E. Angiogenesis therapy. Amidst the hype, the neglected potential for serious side effects / S.E. Epstein [et al.] // *Circulation.* – 2001. – Vol. 104, №1. – P. 115–119.
16. Fadini, G.P. Autologous stem cell therapy for peripheral arterial disease. Meta-analysis and systematic review of the literature / G.P. Fadini [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2010. – Vol. 209, №1. – P. 10–17.
17. Gabr, H. Limb salvage using intramuscular injection of unfractionated autologous bone marrow mononuclear cells in critical limb ischemia: a prospective pilot clinical trial / H. Gabr [et al.] // *Exp. clin. transplant.* – 2011. – Vol. 9, №3. – P. 197–202.
18. Gnechchi, M. Paracrine mechanisms in adult stem cell signaling and therapy / M. Gnechchi [et al.] // *Circ. res.* – 2008. – Vol. 103, №11. – P. 1204–1219.
19. Gu, Y. Transplantation of autologous bone marrow mononuclear cells for patients with lower limb ischemia / Y. Gu [et al.] // *Chin. med. j.* – 2008. – Vol. 121, №11. – P. 963–967.
20. Hart, C.A. et al. Stem cells of the lower limb: their role and potential in management of critical limb ischemia / C.A. Hart [et al.] // *Exp. biol. med.* – 2013. – Vol. 238, №10. – P. 1118–1126.
21. Huang, P. et al. Autologous transplantation of granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood mononuclear cells improves critical limb ischemia in diabetes / P. Huang [et al.] // *Diabetes care.* – 2005. – Vol. 28, №9. – P. 2155–2160.
22. Iwase, T. Comparison of angiogenic potency between mesenchymal stem cells and mononuclear cells in a rat model of hindlimb ischemia / T. Iwase [et al.] // *Cardiovasc. res.* – 2005. – Vol. 66, №3. – P. 543–551.
23. Jiang, M. Angiogenesis by transplantation of HIF-1 α modified EPCs into ischemic limbs / M. Jiang [et al.] // *J. cell biochem.* – 2008. – Vol. 103, №1. – P. 321–334.
24. Jonsson, T.B. Adverse events during treatment of critical limb ischemia with autologous peripheral blood mononuclear cell implant / T.B. Jonsson [et al.] // *Int. angiolog.* – 2012. – Vol. 31, №1. – P. 77–84.
25. Kalka, C. Transplantation of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization / C. Kalka [et al.] // *Proc. natl. acad. sci.* – 2000. – Vol. 97, №7. – P. 3422–3427.
26. Kane, N.M. Pluripotent stem cell differentiation into vascular cells: a novel technology with promises for vascular regeneration (generation) / N.M. Kane [et al.] // *Pharmacol. ther.* – 2011. – Vol. 129, №1. – P. 29–49.
27. Kawamoto, A. Intramuscular transplantation of G-CSF-mobilized CD34+ cells in patients with critical limb ischemia: a phase I/IIa, multicenter, single-blinded, dose-escalation clinical trial / A. Kawamoto [et al.] // *Stem cells.* – 2009. – Vol. 27, № 11. – P. 2857–2864.
28. Kim, N. Clinical applications of mesenchymal stem cells / Kim N., Cho S.G. // *Korean j. intern. med.* – 2013. – Vol. 28, №4. – P. 387–402.
29. Kinnaird, T. Local delivery of marrow-derived stromal cells augments collateral perfusion through paracrine mechanisms / T. Kinnaird [et al.] // *Circulation.* – 2004. – Vol. 109, №12. – P. 1543–1549.

30. Kinoshita, M. Long-term clinical outcome after intramuscular transplantation of granulocyte colony stimulating factor-mobilized CD34 positive cells in patients with critical limb ischemia / M. Kinoshita [et al.] // *Atherosclerosis*. – 2012. – Vol. 224, №2. – P. 440–445.
31. Kirana, S. Autologous stem cell therapy in the treatment of limb ischaemia induced chronic tissue ulcers of diabetic foot patients / S. Kirana [et al.] // *Int. j. clin. pract.* – 2012. – Vol. 66, №4. – P. 384–393.
32. Klepanec, A. No difference in intra arterial and intramuscular delivery of autologous bone-marrow cells in patients with advanced critical limb ischemia / A. Klepanec [et al.] // *Cell transplant.* – 2012. – Vol. 21, №9. – P. 1909–1918.
33. Kondo, K. Implantation of adipose-derived regenerative cells enhances ischemia-induced angiogenesis / K. Kondo [et al.] // *Arterioscler. thromb. vasc. biol.* – 2009. – Vol. 29, №1. – P. 61–66.
34. Lambert, M.A. Medical management of critical limb ischaemia: where do we stand today? / M.A. Lambert, J.J. Belch // *J. intern. med.* – 2013. – Vol. 274, №4. – P. 295–307.
35. Lara-Hernandez, R. Safety and efficacy of therapeutic angiogenesis as a novel treatment in patients with critical limb ischemia / R. Lara-Hernandez [et al.] // *Ann. vasc. surg.* – 2010. – Vol. 24, №4. – P. 287–94.
36. Lasala, G.P. Combination stem cell therapy for the treatment of severe limb ischemia: safety and efficacy analysis / G.P. Lasala [et al.] // *Angiology*. – 2010. – Vol. 61, №6. – P. 551–556.
37. Lee, H.C. Safety and effect of adipose tissue-derived stem cell implantation in patients with critical limb ischemia / H.C. Lee [et al.] // *Circ. j.* – 2012. – Vol. 76, №7. – P. 1750–1760.
38. Lee, M.Y. Angiogenesis in differentiated placental multipotent mesenchymal stromal cells is dependent on integrin alpha5beta1 / M.Y. Lee [et al.] // *PLoS one*. – 2009. – Vol. 4, №10. – P. e6913.
39. Losordo, D.W. A randomized, controlled pilot study of autologous CD34+ cell therapy for critical limb ischemia / D.W. Losordo [et al.] // *Circulation*. – 2012. – Vol. 5, №6. – P. 821–830.
40. Lu, D. 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 [et al.] // *Diabetes res. clin. pract.* – 2011. – Vol. 92, №1. – P. 26–36.
41. Moon, M.H. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells improve postnatal neovascularization in a mouse model of hindlimb ischemia / M.H. Moon [et al.] // *Cell physiol. biochem.* – 2006. – Vol. 17, №5–6. – P. 279–290.
42. Murphy, M.P. Autologous bone marrow mononuclear cell therapy is safe and promotes amputation-free survival in patients with critical limb ischemia / M.P. Murphy [et al.] // *J. vasc. surg.* – 2011. – Vol. 53, №6. – P. 1565–1574.
43. Norgren, L. Intersociety consensus for the management of peripheral arterial disease (TASC II) / L. Norgren [et al.] // *Eur. j. vasc. endovasc. surg.* – 2007. – Vol. 33, Suppl. 1. – S. 1–75.
44. Otsu, K. Concentration-dependent inhibition of angiogenesis by mesenchymal stem cells / K. Otsu [et al.] // *Blood*. – 2009. – Vol. 113, №18. – P. 4197–4205.
45. Ozturk, A. Therapeutic potential of autologous peripheral blood mononuclear cell transplantation in patients with type 2 diabetic critical limb ischemia / A. Ozturk [et al.] // *J. diabetes complications*. – 2012. – Vol. 26, №1. – P. 29–33.
46. Powell, R.J. Cellular therapy with Ixmyelocel-T to treat critical limb ischemia: the randomized, double-blind, placebo-controlled RESTORE-CLI trial / R.J. Powell [et al.] // *Mol. ther.* – 2012. – Vol. 20, №6. – P. 1280–1286.
47. Rajagopalan, S. Regional angiogenesis with vascular endothelial growth factor in peripheral arterial disease: a phase II randomized, double-blind, controlled study of adenoviral delivery of vascular endothelial growth factor 121 in patients with disabling intermittent claudication / S. Rajagopalan [et al.] // *Circulation*. – 2003. – Vol. 108, №16. – P. 1933–1938.
48. Raval, Z. Cell therapy of peripheral arterial disease from experimental findings to clinical trials / Z. Raval, D.W. Losordo // *Circ. res.* – 2013. – Vol. 112, №9. – P. 1288–1302.
49. Shiba, Y. Bone marrow CXCR4 induction by cultivation enhances therapeutic angiogenesis / Y. Shiba [et al.] // *Cardiovasc. res.* – 2009. – Vol. 81, №4. – P. 169–177.
50. Shimamura, M. Gene therapy and cell-based therapies for therapeutic angiogenesis in peripheral artery disease / M. Shimamura [et al.] // *Biomed. res. int.* – 2013. – №186215. doi: 10.1155/2013/186215.
51. Sneider, E.B. Regenerative medicine in the treatment of peripheral arterial disease / E.B. Sneider [et al.] // *J. cell biochem.* – 2009. – Vol. 108, №4. – P. 753–761.
52. So, Y.Y. Angiogenesis and its therapeutic opportunities / Y.Y. So, M.K. Sang // 2013. – №127170. doi: 10.1155/2013/127170.
53. Tateishi-Yuyama, E. Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomised controlled trial / E. Tateishi-Yuyama [et al.] // *Lancet*. – 2002. – Vol. 360, №9331. – P. 427–435.
54. Teraa, M. Autologous bone marrow-derived cell therapy in patients with critical limb ischemia: a meta-analysis of randomized controlled clinical trials / M. Teraa [et al.] // *Ann. surgery*. – 2013. – Vol. 258, №6. – P. 922–929.
55. Tottey, S. et al. Extracellular matrix degradation products and low-oxygen conditions enhance the regenerative potential of perivascular stem cells / S. Tottey [et al.] // *Tissue eng. A*. – 2011. – Vol. 17, №1–2. – P. 37–44.
56. Velazquez, O. Angiogenesis and vasculogenesis: inducing the growth of new blood vessels and wound healing by stimulation of bone marrow-derived progenitor cell mobilization and homing / O. Velazquez // *J. vasc. surg.* – 2007. – Vol. 45, Suppl. A. – A39–47.
57. Walter, D.H. Intraarterial administration of bone marrow mononuclear cells in patients with critical limb ischemia a randomized-start, placebo-controlled pilot trial (PROVASA) / D.H. Walter [et al.] // *Circulation*. – 2011. – Vol. 4, №1. – P. 26–37.
58. Whyte, J.L. Density of human bone marrow stromal cells regulates commitment to vascular lineages / J.L. Whyte [et al.] // *Stem cell res.* – 2011. – Vol. 6, №3. – P. 238–250.
59. Wu, Y. Mesenchymal stem cells enhance wound healing through differentiation and angiogenesis / Y. Wu [et al.] // *Stem cells*. – 2007. – Vol. 25, №10. – P. 2648–2659.
60. Yoder, M.C. Human endothelial progenitor cells / M.C. Yoder // *Cold spring harb. perspect. med.* – 2012. – Vol. 2, №7. – P. a006692.

РЕЗЮМЕ

Болезнь периферических артерий способствует снижению толерантности к физической нагрузке, нарушению проприоцептивной чувствительности, мышечной атрофии и слабости, в поздних стадиях приводит к критической ишемии конечностей, изъязвлению и гангрене. Современные методы лечения путем восстановления кровоснабжения конечности, ограничены и часто имеют плохие исходы вследствие многоуровневой артериальной болезни. Терапевтический ангиогенез считается методом лечения больных с критической ишемией конечностей, которые не соответствуют критериям хирургической реваскуляризации. Ангиогенез может быть индуцирован факторами роста и/или препаратами стволовых клеток костного мозга, содержащими мезенхимальные стромальные клетки и эндотелиальные клетки-предшественники, способные образовывать сосудистый эндотелий. Многочисленные исследования, опубликованные в 2000–2014, показали, что стволовые клетки костного мозга, содержащие мезенхимальные стволовые клетки и эндотелиальные клетки-предшественники, были успешно и безопасно изолированы и имплантированы пациентам с критической ишемией конечностей путем внутривенных или внутримышечных инфузий и привели к значительному клиническому улучшению у пациентов по шкале боли, частоте ампутации, расстоянию возникновения хромоты и ангиографическим признакам. Эти исследования показали значительное удлинение безрецидивного периода, определяемого как удвоение изъязвления, большая ампутация или новая гангрена. Это исследования не демонстрируют никаких негативных последствий в связи с внутривенной или внутримышечной инъекцией стволовых клеток аутологичного костного мозга. У пациентов, получивших трансплантацию, наблюдались улучшение микроциркуляции и полное заживление язв. После применения стволовых клеток удалось избежать ампутации стопы.

Ключевые слова: болезнь периферических артерий, критическая ишемия конечностей, терапевтический ангиогенез, аутологичный костный мозг, стволовые клетки костного мозга, мезенхимальные стромальные клетки, эндотелиальные клетки-предшественники, трансплантация.

ABSTRACT

Peripheral arterial disease contributes to decreased exercise tolerance, impaired proprioception, muscle atrophy and weakness, with advanced cases resulting in critical limb ischemia, ulceration and gangrene. Current treatment options by re-establishing in line blood supply to the limb are limited, with poor outcomes predicted by multilevel arterial disease. Therapeutic angiogenesis has been considered for the treatment of patients with critical limb ischemia who do not qualify for surgical revascularisation or percutaneous intervention. Angiogenesis can be induced with growth factors and/or with stem cell preparations containing bone marrow derived mesenchymal stromal cells and endothelial progenitor cells, also capable of forming vascular endothelium. Numerous trials published in 2000–2014 showed that bone marrow-derived stem cells containing endothelial progenitor cells and mesenchymal stem cell have been successfully and safely harvested and implanted in patients with critical limb ischemia as intravenous or intramuscular infusions and and there was a significant clinical improvement in patients as measured by pain scores, amputation rates, claudication distance and appearance on angiography. This trials did show a significant lengthening in the «time to treatment failure», determined as doubling of ulceration, major amputation or new gangrene. This trials did not demonstrate any adverse effects due to the intravenous or intramuscular injection of autologous bone marrow-derived tissue repair cells. In patients who have received transplants, observed improvement of microcirculation and complete healing of ulcers. After stem cell application the foot amputation was possible to avoid the major amputation.

Keywords: peripheral arterial disease, critical limb ischemia, therapeutic angiogenesis, autologous bone marrow, bone marrow stem cell, mesenchymal stromal cells, endothelial progenitor cells, transplantation.

Контакты:

Сарана А.М. E-mail: asarana@mail.ru