

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ имени И.М.СЕЧЕНОВА
Министерства Здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

На правах рукописи

ОЛЕЙНИК ЕВГЕНИЙ МИХАЙЛОВИЧ

**«Применение генно-инженерных конструкций
сосудистого эндотелиального фактора роста VEGF165
в комплексном лечении хронической ишемии нижних конечностей»**

14.01.26 - сердечно-сосудистая хирургия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ:

Академик РАН,
доктор медицинских наук,
профессор А.В. Гавриленко

Москва – 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений	3
Введение	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	23
2.1 Характеристика пациентов	23
2.2 Характеристика больных, которым проводилось комплексное консервативное лечение.....	31
2.3 Характеристика больных, которым проводилось хирургическое лечение.....	40
2.4 Диагностика больных и сбор информации для оценки результатов	52
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫХ КОНСТРУКЦИЙ СТИМУЛЯЦИИ АНГИОГЕНЕЗА В КОМПЛЕКСНОМ КОНСЕРВАТИВНОМ ЛЕЧЕНИИ.....	57
Глава 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫХ КОНСТРУКЦИЙ СТИМУЛЯЦИИ АНГИОГЕНЕЗА В КОМПЛЕКСНОМ ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ	83
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	101
ВЫВОДЫ	116
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	118
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	119

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Б – интенсивность боли

АСБ - атеросклеротическая бляшка

Д_{max} – максимально проходима дистанция

ДББХ – дистанция безболевой ходьбы

ЖА – жизненная активность

ЛПИ – лодыжечно-плечевой индекс

ЛСК – линейная скорость кровотока

ОЗ – общее состояние здоровья

ПЗ – психическое здоровье

РФФ – ролевое физическое функционирование

РЭФ – ролевое эмоциональное функционирование

СФ – социальное функционирование

ФФ – физическое функционирование

ХИНК – хроническая ишемия нижних конечностей

VEGF – фактор роста эндотелия сосудов (vessel endothelial growth factor)

Введение

Актуальность темы:

Хроническая ишемия нижних конечностей – одна из самых распространенных и актуальных патологий сердечно-сосудистой системы человека в настоящее время. Данное заболевание крайне тяжело поддается лечению, имеет большую распространенность среди современного населения и зачастую приводит к высокой степени инвалидизации. [29]

Своевременное выявление и эффективное лечение пациентов с хронической ишемией нижних конечностей является крайне важным и необходимым с клинической, социальной и, следовательно, экономической точек зрения. Сосудистая хирургия и современная лекарственная терапия дают возможность достичь высоких результатов лечения у большого количества пациентов с данной патологией в настоящее время.

В тоже время у определенной группы пациентов, имеющих множественные диффузные поражения дистального артериального русла, остаются ограничения как в отношении хирургического, так и терапевтического лечения, приводящие к неудовлетворительным результатам как в раннем, так и в отдаленном периодах наблюдения. [5]

Таким образом, данная категория больных оказывает значительное отрицательное влияние на результаты лечения хронической ишемии нижних конечностей. [3,13,14,31,32]

В настоящее время инновационной и современной методикой в лечении пациентов с хронической ишемией нижних конечностей можно назвать разработку и применение генно-инженерных конструкций на основе фактора роста эндотелия сосудов VEGF 165 (Медицинский препарат «Неоваскулген»). Данная технология крайне интересна и перспективна с точки зрения изучения и поиска подходов к ее применению в клинической практике.

Применение данных генно-инженерных конструкций для лечения пациентов с хронической ишемией нижних конечностей (ХИНК) приводит к

синтезу факторов роста эндотелия, которые в свою очередь обеспечивают развитие дополнительной коллатеральной артериальной сети, что приводит к усилению перфузии тканей, улучшению доставки кислорода и снижению интенсивности ишемии. [1,2]

Такая методика может использоваться в лечении пациентов как в сочетании с хирургическими ревазуляризирующими сосудистыми операциями, так и в комбинации с современной консервативной терапией для улучшения ближайших и отдаленных результатов. [7,8,9,12,13,14]

На данный момент в нашей стране и в ряде иностранных государств было проведено определенное количество экспериментальных и клинических исследований по применению различных факторов роста эндотелия сосудов для лечения пациентов с хронической ишемией нижних конечностей. [12,13,14,19,20,39,41]

Разработка и внедрение в клиническую практику современных инновационных методик на основе генно-инженерных конструкций для лечения пациентов с ХИНК может дать возможность значительно улучшить клинические результаты и изменить положение настоящей проблемы в лучшую сторону.

Комплексное сочетание инновационных генно-инженерных конструкций для формирования развитой коллатеральной артериальной сети с хирургическими ревазуляризирующими сосудистыми операциями для обеспечения нормального магистрального кровотока представляет наибольший интерес.

В настоящее время количество научных работ и исследований, направленных на проведение клинических экспериментов по применению генно-инженерных конструкций на основе фактора роста эндотелия сосудов для лечения пациентов с ХИНК, а также систематизирующих полученные результаты и определяющих особенности их применения при различных клинических состояниях крайне мало.

Цель исследования:

Улучшение результатов комплексного лечения пациентов с хронической ишемией нижних конечностей с применением генно-инженерных конструкций стимуляции ангиогенеза VEGF-165.

Задачи исследования:

1. Провести анализ ближайших и отдаленных результатов применения генно-инженерных конструкций VEGF-165 в комплексном лечении больных с ХИНК совместно с консервативными методами лечения.

2. Провести анализ ближайших и отдаленных результатов применения генно-инженерных конструкций VEGF-165 в комплексном лечении больных с ХИНК совместно с хирургическими реваскуляризирующими операциями.

3. Определить эффективность и безопасность применения генно-инженерных конструкций VEGF-165 в лечении пациентов с ХИНК IIБ-III ст.

4. Проанализировать целесообразность применения генно-инженерных конструкций VEGF-165 в лечении пациентов с ХИНК IIБ-III ст. в зависимости от состояния сосудистого артериального русла и имеющегося функционального резерва кровоснабжения нижних конечностей.

5. Оценить качество жизни пациентов, которые получали комплексное лечение, основанное на сочетании реконструктивных сосудистых операций, консервативной терапии и использовании генно-инженерных конструкций VEGF-165.

Научная новизна:

Впервые оценена и доказана клиническая эффективность применения инновационных генно-инженерных технологий стимуляции ангиогенеза в комплексном хирургическом и консервативном лечении пациентов с ХИНК.

Разработан метод комплексного лечения больных с ХИНК, основанный на сочетании реконструктивных сосудистых операций, медикаментозного лечения и использования генно-инженерных методов стимуляции ангиогенеза. Доказана клиническая эффективность метода.

Впервые проведена оценка качества жизни и доказано его улучшение у пациентов с ХИНК, которые получали комплексное лечение, основанное на сочетании реконструктивных сосудистых операций, консервативной терапии и использовании генно-инженерных конструкций VEGF165.

Теоретическая и практическая значимость:

Использование инновационных генно-инженерных конструкций на основе фактора роста эндотелия сосудов VEGF165 в комплексном лечении пациентов с ХИНК II-III стадий приведет к улучшению результатов, особенно у групп пациентов с дистальной формой поражения артериального русла для которых современные методы лекарственной терапии малоэффективны, а выполнение реконструктивных хирургических операций зачастую не представляется возможным.

Данная методика позволит снизить число ампутаций и, следовательно, показатель инвалидизации за счет новых, ранее отсутствующих возможностей среди определенных групп пациентов, что в свою очередь социально и экономически значимо в современной медицине.

Разработанные критерии отбора пациентов с хронической ишемией нижних конечностей и возможность прогнозирования и лечения позволят безопасно и эффективно использовать данную методику как в условиях стационара, так и амбулаторно.

Впервые были выделены группы пациентов, у которых применение генно-инженерных конструкций VEGF-165 для стимуляции ангиогенеза в условиях ишемии наиболее эффективно.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Инновационные генно-инженерные конструкции на основе фактора роста эндотелия сосудов VEGF 165 демонстрируют свою эффективность среди пациентов с хронической формой ишемии нижних конечностей в составе комплексного консервативного лечения.

2. Инновационные генно-инженерные конструкции на основе фактора роста эндотелия сосудов VEGF 165 также демонстрируют свою эффективность и могут быть использованы в качестве дополнительного компонента комплексного хирургического лечения у пациентов с хронической ишемией нижних конечностей.

3. Применение генно-инженерных конструкций на основе фактора роста эндотелия сосудов VEGF 165 демонстрирует наибольшую эффективность у пациентов с ХИНК при дистальном или изолированном поражении сосудистого артериального русла нижних конечностей.

4. Распространенность и характер поражения артериального русла, степень хронической ишемии нижних конечностей, а также состояние функционального резерва микроциркуляции влияет на эффективность применения генно-инженерных конструкций на основе фактора роста эндотелия сосудов VEGF 165, что в свою очередь дает возможность прогнозировать результаты лечения у конкретного пациента.

5. Генно-инженерные конструкции на основе фактора роста эндотелия сосудов VEGF 165 для лечения ХИНК хорошо переносятся пациентами, не вызывают нежелательных реакций и безопасны для применения как в ближайшем, так и в отдаленном периодах наблюдения.

Внедрение результатов исследования

Разработанный метод комплексного лечения пациентов с хронической ишемией нижних конечностей IIБ-III стадий с использованием генно-инженерных конструкций на основе фактора роста эндотелия сосудов VEGF-165 (Медицинский препарат «Неоваскулген») внедрен в клиническую практику отделения сосудистой хирургии ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского».

Апробация работы

Основные положения диссертации доложены на XX Всероссийском съезде сердечно-сосудистых хирургов России (г. Москва, 2014г.), на Всероссийском конгрессе с международным участием «Хирургия XXI века: соединяя традиции и инновации» (г. Москва, 2016г.), на XXII Всероссийском съезде сердечно-сосудистых хирургов России (г. Москва, 2016г.), на XXI Ежегодной сессии ФГБУ «НМИЦ ССХ им. А.Н. Бакулева» Минздрава России с Всероссийской конференцией молодых ученых (г. Москва, 2017г.), XXXIII Международной конференции «Отдаленные результаты и инновации в сосудистой хирургии» (г. Сочи, 2017г.), 26th Annual Meeting of the Asian Society for Cardiovascular and Thoracic Surgery (Moscow, 2018)

Апробация диссертационной работы состоялась 15 марта 2019 года на совместном заседании кафедры Госпитальной хирургии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) и отделения сосудистой хирургии ФГБНУ РНЦХ им. Акад. Б.В. Петровского.

Публикации

По результатам выполненных исследований опубликовано 9 работ, из них 3 статьи в изданиях, входящих в перечень ведущих рецензируемых журналов и изданий, рекомендованных ВАК МО и науки РФ для публикаций основных результатов диссертационных исследований.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 131 странице машинописного текста и состоит из введения, 4 глав (обзор литературы, материал и методы исследования, результаты применения генно-инженерных конструкций стимуляции ангиогенеза VEGF165 в комплексном консервативном лечении, результаты применения генно-инженерных конструкций стимуляции ангиогенеза VEGF165 в комплексном хирургическом лечении), заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа иллюстрирована 18 рисунками и содержит 20 таблиц. Библиография включает 101 источник, из них 43 отечественных и 58 зарубежных.

Глава 1

Обзор литературы

Проблема хронической ишемии нижних конечностей остается одной из основных в современной ангиологии и сосудистой хирургии из-за трудности и длительности лечения, большой распространенности и высокой степени инвалидизации пациентов. [3,4,18,31,35]

Эффективное лечение больных с данной патологией является важнейшей задачей с медицинской, социальной и экономических точек зрения. [15,22,23]

Современная реконструктивная сосудистая хирургия, которая включает в себя бурно развивающуюся отрасль эндоваскулярной хирургии и комплексная консервативная терапия позволяют достичь положительных результатов у большого (значительного) числа пациентов. [36]

В тоже время согласно отечественным и зарубежным данным современная статистика показывает не самые утешительные результаты: у пациентов с критической ишемией нижних конечностей риск высокой ампутации превышает 20%, риск смерти после таких операций в течение одного месяца составляет 30%, даже в специализированных стационарах. [28, 83]

Однако, имеются ограничения возможностей существующих подходов к лечению, наиболее часто встречающихся у пациентов с диффузными поражениями дистальных отделов артериального русла, в отношении которых отдаленные результаты хирургического лечения не являются удовлетворительными, а консервативная терапия эффективна лишь на ранних стадиях заболевания. [30,31,32,33,35]

Данная категория пациентов вносит основной объём в статистику неудовлетворительных результатов лечения хронической ишемии нижних конечностей.

Лечение хронических облитерирующих заболеваний артерий нижних конечностей и обусловленной ими хронической ишемии нижних конечностей (ХИНК), в том числе критической ишемии нижних конечностей, представляют на сегодняшний день одну из нерешенных проблем ангиологии и сосудистой хирургии. [18,19]

В нашей стране люди старше 64 лет в 14-32% случаев имеют симптомы хронической ишемии нижних конечностей. Прогрессирование данной симптоматики при отсутствии адекватного лечения приводит к развитию критической ишемии нижних конечностей. [25]

Фармакотерапия окклюзирующих заболеваний артерий нижних конечностей, которые приводят к состоянию хронической ишемии нижних конечностей в настоящее время представлена различными антикоагулянтами, антиагрегантами, ангиопротекторами и многими реологическими препаратами. Однако, по данным исследования Савельева В.С. с соавт. лечение пациентов с ХИНК с помощью различных комбинаций консервативной терапии в течение года оказалось малоэффективным у большой когорты больных, что в итоге привело к ампутации конечности у 38% пациентов, включенных в исследование. [34]

Касаемо хирургического лечения пациентов с хронической ишемией нижних конечностей, то согласно исследованию Fadini GP et.al. только в 37,3-58% случаев реваскуляризация сосудистого русла нижних конечностей выполняется адекватно. [58]

Положительный результат в течение первого года после хирургического лечения пациентов с хронической ишемией нижних конечностей при операциях выше уровня щели коленного сустава наблюдается в 49,1-72,3% случаев. Результаты хирургических операций ниже уровня щели коленного сустава значительно хуже – 10,2-39,1% положительных исходов в течение первого года наблюдения. [55,82,89]

Несмотря на имеющиеся в настоящее время достижения в сосудистой хирургии и фармакотерапии сосудистых заболеваний, существует целая группа пациентов с хронической ишемией нижних конечностей, в отношении комплексного лечения которых, существующие лекарственные средства малоэффективны, а методы хирургического лечения (в том числе и самые передовые) не позволяют достичь клинически значимого результата, либо демонстрируют хорошие результаты лечения в ближайшем послеоперационном периоде, но отдаленные их результаты по-прежнему остаются неудовлетворительными (малозначимыми). [15,16,17]

При выраженном диффузном поражении артериального русла конечностей, технически правильно наложенный артериальный шунт в условиях высокого периферического артериального сопротивления, к сожалению, не способен функционировать долго, что в ряде случаев сводит эффективность такого хирургического вмешательства к минимуму.

Фармакотерапевтической же альтернативы для этой категории пациентов, т.е. средства, эффективность которого может быть сопоставима с эффективностью успешно выполненной хирургической реваскуляризации, в настоящее время не существует. [30,31]

Уже в 2004 г., выступая на встрече главных кардиохирургов регионов и руководителей сердечно-сосудистых центров страны в преддверии X Всероссийского съезда сердечно-сосудистых хирургов, главный специалист по сердечно-сосудистой хирургии Министерства Здравоохранения Российской Федерации академик Российской Академии Наук Л.А. Бокерия высказал мнение: «...На современном этапе достичь дальнейшего прогресса в лечении сердечно-сосудистых заболеваний можно только с использованием новых методов и подходов, одними из которых являются генно-инженерные и клеточные технологии...».

Таким образом, были обозначены пути дальнейшего развития фундаментальных и прикладных исследований в области лечения сердечно-

сосудистых заболеваний, в том числе, новые подходы к лечению пациентов с хронической ишемией нижних конечностей.

В этой связи ведется поиск новых подходов к решению данной проблемы. В частности, активно обсуждается возможность использования методик стимуляции ангиогенеза в пораженных конечностях, основанных на возможностях генно- инженерных технологий. [6,9]

В последние годы в сердечно-сосудистой хирургии уделяется большое внимание и активно обсуждаются возможности применения генно-инженерных технологий для стимуляции ангиогенеза (так называемый терапевтический ангиогенез) с целью развития коллатерального кровотока в ишемизированных мышцах и других тканях. Развитие методики стимуляции ангиогенеза в настоящее время идет по трем основным направлениям – генная инженерия, постгеномные и клеточные технологии. [21]

Следует подчеркнуть, что геномные и постгеномные технологии создания лекарственных средств, клеточные технологии и нанотехнологии, в зоне интересов которых находится рассматриваемая нами проблема, включены решением ФАНО в Перечень Критических технологий РФ и Приоритетных направлений развития науки, технологий и техники в РФ.

Уже в 1990-х годах начались многочисленные исследования, которые продемонстрировали, что применение ангиогенных рекомбинантных факторов роста на основе факторов роста фибробластов (FGF) и факторов роста эндотелия сосудов (VEGF) [49,93] в значительной степени способствовали развитию новой сосудистой сети в ишемизированных тканях. Однако, на тот момент основной проблемой было создание такой конструкции, которая позволит поддерживать необходимую концентрацию факторов роста после их введения на протяжении длительного времени. [62]

В сфере развития постгеномных конструкций основные исследования были посвящены изучению фактора роста эндотелия сосудов 165 (VEGF-165),

факторам роста гепатоцитов 1 и 2 (FGF-1, FGF-2), а также фактору роста гепатоцитов (HGF). [50]

Клинические исследования VIVA и FIRST, посвященные применению факторов роста эндотелия сосудов VEGF и фактора роста гепатоцитов FGF-2 для лечения пациентов с ишемической болезнью сердца, которые проводились в начале 2000-х годов не выявили значимой эффективности и не достигли положительных результатов на тот момент. [91,96]

Также было проведено исследование TRAFFIC, на основании которого было установлено, что дистанция безболевого ходьбы, которая увеличивалась в первые три месяца у пациентов с хронической ишемией нижних конечностей, которые получали фактор роста гепатоцитов FGF-2 возвращалась к исходному к концу года после лечения. В исследовании RAVE, посвященному развитию регионарного ангиогенеза с применением факторов роста эндотелия сосудов VEGF также не было получено удовлетворительных результатов. [86]

Согласно исследованию Kornowski et.al. отсутствие положительного результата скорее всего было связано с коротким периодом жизни белков, отвечающих за фактор роста гепатоцитов и эндотелия сосудов, а также с их быстрым разрушением в системном кровотоке после введения, что приводило к резкому снижению их концентрации в области ишемии. [70]

Многолетние исследования, направленные на изучение процесса ангиогенеза и неоваскуляризации в различных тканях, в том числе в условиях ишемии показали, что ключевыми факторами в данных процессах являются VEGF (фактор роста эндотелия сосудов), FGF (фактор роста фибробластов), HGF (фактор роста гепатоцитов). ANG (ген ангиогенин), SDF (фактор, полученный из стромальных клеток организма), HIF-1 α (фактор 1 α , индуцированный гипоксией). [66]

Клеточные технологии терапевтического ангиогенеза в последнее время получили широкое распространение в современной медицине в сфере

сердечно-сосудистой хирургии для лечения пациентов с ишемической болезнью сердца, хронической сердечной недостаточностью и хронической ишемией нижних конечностей. [75, 87]

Исследования, посвященные изучению сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) преобладают среди остальных, которые касаются темы определения и изучения факторов, влияющих на ангиогенез. Основоположником данной темы за рубежом был Isner JM, который с начала 1990-х годов проводил исследования по лечению пациентов с терминальной стадией хронической ишемии нижних конечностей IVст. с применением плазмидного вектора сосудистого эндотелиального фактора роста VEGF165 одновременно с проведенной ангиопластикой. По результатам данного исследования было обнаружено образование нового сосудистого русла у пациентов. [66, 69]

В нашей стране пионерами данных технологий являются ведущие центры сердечно-сосудистой хирургии страны – Центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева и Российский Научный Центр Хирургии им. Б.В. Петровского (начиная с 1999 года), а также несколько крупных центров сердечно-сосудистой хирургии, генетики и молекулярной биологии. В конце 1990-х – начале 2000-х годов в российской медицинской литературе появились первые статьи, посвященные применению препаратов, способствующих индукции ангиогенеза на основе генно-инженерных конструкций и клеточных технологий для лечения пациентов с различными сердечно-сосудистыми заболеваниями. [38]

ФГБНУ Российский Научный Центр Хирургии им. академика Б.В.Петровского совместно с Институтом молекулярной генетики РАН и НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ занимается исследованием возможностей применения данных технологий лечения уже более 20 лет. [11,15,16,18,26,27] Именно на базе этих научных институтов Российской Федерации был разработан и официально зарегистрирован для

клинического применения генно-инженерный препарат на основе сосудистого эндотелиального фактора роста VEGF-165 («Неоваскулген») для использования в лечении пациентов, страдающих хронической ишемией нижних конечностей.

В Научном центре сердечно-сосудистой хирургии им А.Н. Бакулева под предводительством Академика Л.А. Бокерии еще с начала XXI века разрабатываются и применяются различные клеточные технологии, которые применяются в современной сердечно-сосудистой хирургии для лечения пациентов с ишемической болезнью сердца и распространенным атеросклеротическим поражением артерий нижних конечностей. [7]

Также ведущие научные центры нашей страны имеют свой собственный опыт в экспериментах и применении различных генно-инженерных и клеточных конструкций – Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» [43], Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина» [42].

Большая часть проведенных исследований и разработок направлена на применение прогениторных эндотелиальных клеток. Одной из первых работ, посвященных применению прогениторных эндотелиальных клеток в области разработок индукции ангиогенеза является исследование Asahara T. et al. [47] В дальнейшем применение прогениторных эндотелиальных клеток получил большую популярность и развитие в современной медицине. [92,94]

При изучении мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток человека было доказано, что они имеют высокий потенциал для пролиферации, хорошую способность к самообновлению и возможность продуцировать такие факторы роста, как фактор роста эндотелия сосудов

(VEGF), фактор роста фибробластов (FGF), фактор роста гепатоцитов (HGF) необходимые для процессов ангиогенеза. [88,97,99]

Одновременно с описанными выше технологиями современных сосудистых хирургов и ученых интересует вопрос и возможная перспектива применения стромальных клеток жировой ткани, которые способны дифференцироваться до адипоцитов и эндотелиоцитов, а также секретировать такие факторы роста как фактор роста гепатоцитов (HGF), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), фактор роста тромбоцитов, тканевой фактор роста, а также белок ангиогенин (ANG-1) – один из основных индукторов ангиогенеза. [37,76,101]

В начале 2000-х годов Haider H. et. al. проводил исследование по изучению скелетных миобластов с целью определения возможности применения их в сердечно-сосудистой хирургии. [79]

Одновременно с этим, проводились исследования посвященные применению стволовых клеток CD34⁺, CD133⁺, выделяемых из пуповинной крови, которые по сути являлись мезенхимальными стромальными клетками, которые подвергались особой обработке. [78,85,95] Однако, данные методы впоследствии не зарекомендовали себя в современной сердечно-сосудистой хирургии.

В настоящее время параллельно проводятся исследования по применению эндометриальных клеток для реваскуляризации ишемизированных тканей. Обладая плюрипотентной активностью к дифференцировке данные клетки имеют способность к регенерации и продуцированию факторов роста эндотелия, тем самым вызывая процесс неоангиогенеза в тканях. [100]

Проведенная научно-исследовательская работа включала несколько этапов: от идеи и создания оригинальных генно-инженерных конструкций, через экспериментальные исследования на экспериментальных моделях, к клиническому использованию у пациентов.

На различных стадиях работы изучались разные конструкции: «голые» плазмиды, вирусные векторные конструкции, в т.ч. с генами факторов роста эндотелия сосудов (VEGF-165) и ангиогенина (ANG).

Все эти конструкции прошли испытание на биологических моделях - куриных эмбрионах, а также при моделировании ишемии конечностей у млекопитающих в научных экспериментах. [14]

Проведённые научные эксперименты продемонстрировали эффективность в плане индукции ангиогенеза и приемлемую безопасность. Результаты данных исследований были подробно представлены в предшествующих работах научных сотрудников ФГБНУ «РНЦХ» им. Академика Б.В. Петровского. [15,16,17,18,19,20]

В частности, в экспериментах было показано, что созданные рекомбинантные генно-инженерные конструкции (как нативные, так и на основе векторных вирусных систем) могут эффективно стимулировать ангиогенез в мышечной ткани, эффективно повышать плотность капиллярного русла и, следовательно, могут быть эффективно и потенциально безопасно использованы в клинической практике при комплексном лечении пациентов с хронической ишемией нижних конечностей. [14]

В условиях экспериментальной ишемии данный ангиогенный эффект был более выражен и в меньшей степени проявлялся в интактной ткани. Конструкции на основе вирусных векторных систем демонстрировали значительно больший ангиогенный эффект, однако часть этого явления была обусловлена иммуновоспалительной реакцией, развивающейся в ответ на введение собственно вирусных компонентов, что также должно учитываться при внедрении данных технологий в клиническую практику. [14,18]

Одним из современных и принципиально новых по механизмам действия, а также перспективным для дальнейшего изучения и использования подходов в лечении пациентов с хронической ишемией нижних конечностей является применение генно-инженерных комплексов на основе факторов

сосудистого роста VEGF 165 (препарат «Неоваскулген»). Введение этого препарата в ишемизированные ткани нижних конечностей пациента обеспечивает длительный синтез факторов роста эндотелия сосудов, приводящих к развитию дополнительной сосудистой сети и, следовательно, к увеличению перфузии ткани кислородом и снижению степени ишемии. [22,24,26]

Данная методика может быть использована как в качестве самостоятельного метода лечения, так и в сочетании с реконструктивными сосудистыми операциями, комплексным консервативным лечением для улучшения отдаленных результатов. [23,41]

В настоящее время в России и за рубежом уже проведено определенное количество как экспериментальных, так и клинических исследований по данной проблеме. Так, в работе посвященной клиническому наблюдению за неоперабельными больными с поражением артерий нижних конечностей и хронической ишемией нижних конечностей II-III стадий проводилось исследование результатов клинического исследования плазмидного препарата на основе гена эндотелиального фактора роста VEGF-165 спустя один год после его применения. Были оценены такие параметры, как дистанция безболевого ходьбы, лодыжечно-плечевой индекс, напряжение кислорода, определяемое транскутанно, линейная скорость кровотока. В результате был достигнут стойкий клинический эффект, который нарастал в течение года наблюдения, а инструментальные методы диагностики подтвердили улучшение регионарного кровотока и отсутствие регрессии результатов в течение года. [23,54]

Имеются работы по успешному применению отечественного препарата на основе гена VEGF165 в комплексном лечении пациентов с атеросклеротическим поражением артерий нижних конечностей и хронической ишемией нижних конечностей II стадии в амбулаторных условиях. В этом исследовании результаты прослежены в течение 5 лет,

получено статистически достоверное улучшение микроциркуляции в ишемизированных тканях после проведенного лечения. [39,40]

В работе Деева Р.В. с соавторами отмечается достоверное среднее увеличение дистанции безболевого ходьбы на 167%, прирост парциального напряжения кислорода в тканях на 20,4% в течение одного года наблюдения. В единичных случаях максимальный прирост дистанции безболевого ходьбы составил 547%. [21]

Среди иностранных источников первые работы по этой тематике появились в конце 1990-х – начале 2000-х годов. При использовании сосудистого эндотелиального фактора роста на плазмидной ДНК отмечался рост микрососудистой коллатеральной сети, увеличивалась дистанция безболевого ходьбы. Однако, в связи с отсутствием на тот момент полноценных исследований по данной тематике, достоверность результатов и, соответственно, эффективность данной методики доказаны не были. [44,51]

В проведенном исследовании VIVA (двойное слепое, плацебо контролируемое), которое было посвящено применению человеческого рекомбинантного сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) была доказана эффективность и безопасность данной генно-инженерной конструкции. А именно, 178 пациентов, вошедших в это исследование получали данную генно-инженерную конструкцию для лечения стенокардии напряжения. Введение препарата выполнялось внутримышечно (непосредственно в миокард) в первый день исследования и сопровождалось дополнительными внутривенными введениями препарата на 3, 6 и 9 дни. На всех этапах исследования (начиная с момента первого введения и в течение года наблюдения) не было зафиксировано побочных или отрицательных реакций. Что касается эффективности методики, то начиная с 3 месяца наблюдения по данным проводившихся тредмил-тестов отмечалось значительное улучшение состояния пациентов, получавших генно-инженерные конструкции по сравнению с группой пациентов, получавших

плацебо. Тем самым была доказана эффективность применения рекомбинантного сосудистого эндотелиального фактора роста у пациентов с ишемической болезнью сердца. [64]

Еще одно исследование (двойное слепое, рандомизированное, плацебо-контролируемое) посвящено применению сосудистого эндотелиального фактора роста в лечении пациентов с сахарным диабетом, осложненным критической ишемией нижних конечностей. Пациентам основной группы генно-инженерные конструкции вводились внутримышечно в икроножные мышцы пораженной конечности. К окончанию исследования были достигнуты следующие результаты: улучшение показателей гемодинамики, основываясь на измерении лодыечно-плечевого индекса ($p=0,05$), заживление язвенных дефектов ($p<0,05$), уменьшение интенсивности болей и улучшение качества жизни ($p<0,05$). В этом исследовании также не было зафиксировано побочных или отрицательных эффектов. [71]

Также в иностранной литературе имеются статьи, посвященные применению различных генно-инженерных конструкций, преимущественно на основе сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) для лечения пациентов с хронической и острой ишемией нижних конечностей, лечения ишемии миокарда, а также для лечения осложнений сахарного диабета. Во всех случаях доказана клиническая эффективность и безопасность таких методик. [46,72,90]

В целом, положительные результаты экспериментальных работ позволили ФГБНУ «РНЦХ» им. Академика Б.В. Петровского внедрить в клиническую практику применение препарата «Неоваскулген» для использования в качестве эффективного компонента комплексного лечения пациентов с хронической ишемией нижних конечностей различных стадий.

Глава 2

Материалы и методы

2.1 Общая характеристика пациентов

В отделении сосудистой хирургии ФГБНУ «РНЦХ им. Академика Б.В. Петровского» было проведено открытое проспективное контролируемое клиническое исследование.

Все пациенты, которые вошли в данное исследование были заранее ознакомлены со всеми положениями, особенностями и возможными последствиями и дали письменное информированное согласие.

В целом на всех этапах исследования в него было включено 120 пациентов с окклюзионно-стенотическими поражениями артерий нижних конечностей различных локализаций и степеней поражения. У всех пациентов имелась хроническая ишемия нижних конечностей IIБ-III стадий.

В связи с особенностью механизма действия медицинского препарата «Неоваскулген», представляющего собой кольцевую ДНК (плазмиду), несущую человеческий ген VEGF 165, кодирующий синтез фактора роста эндотелия сосудов (VEGF – Vascular Endothelial Growth Factor), обязательным условием для включения пациентов в исследование было наличие поражения артерий голени, так называемого «дистального» поражения артерий нижних конечностей.

Острая ишемия нижних конечностей, травматическое поражение сосудов, повлекшее за собой возникновение острой или хронической ишемии, врожденные дефекты артериального русла, инфекционное поражение сосудистой стенки являлись условиями для не включения пациентов в данное исследование.

Длительная хроническая ишемия нижних конечностей, перешедшая в критическую и приведшая к возникновению обширных некротических поражений тканей или к необходимости ампутации также являлось условием

для не включения пациентов в это исследование. Условием для исключения из исследования являлось и выявленное или заподозренное у пациентов доброкачественное или злокачественное новообразование, а также наличие семейного анамнеза злокачественных новообразований.

Диагностика хронической ишемии нижних конечностей проводилась в соответствии с последними Национальными рекомендациями по лечению пациентов с патологией артерий нижних конечностей [28, 30,31,32,33].

Набор пациентов и их включение в исследование велось непрерывно с 2012 по 2018 годы.

Среди 120 больных, включенных в исследование, было 84 (70%) мужчин и 36 (30%) женщин.

Возраст больных варьировался от 43 до 75 лет, средний возраст составил $56,1 \pm 5,5$ лет.

График распределения больных по возрасту и полу представлен на рисунке №1.

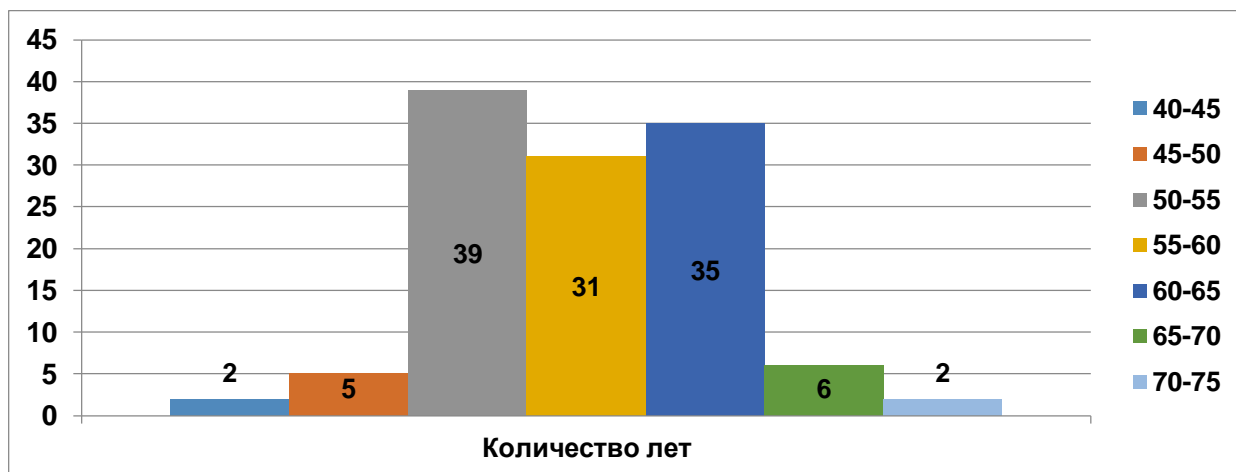


Рис. №1 Распределение пациентов согласно возрасту

У подавляющего большинства больных, включенных в исследование (90 (75,0%) пациентов), этиологией поражения сосудов был атеросклероз. Так же, у 27 (22,5%) больных имелось сочетание атеросклеротического и диабетического поражения сосудов, а у 3 (2,5%) пациентов этиологией поражения сосудов был артериит (эндартериит или тромбангиит).

Хроническая ишемия нижних конечностей IIБ стадии по классификации Fontaine-Покровского была диагностирована у 65 (54,2%) пациентов, III стадия хронической ишемии - у 55 (45,8%) больных. Таким образом, 55 (45,8%) пациентов, включенных в наше исследование, имели признаки критической ишемии нижних конечностей.

У 6 пациентов имелись небольшие трофические поражения мягких тканей стопы или голени без участков гангрены или некроза. В данных случаях отсутствовали боли в покое, а исходная дистанция безболевого ходьбы составляла 45 ± 15 м. Тем самым эти пациенты были отнесены к группе с хронической ишемией нижних конечностей III стадии.

Распределение больных по стадии хронической ишемии и этиологии представлено на рисунке ниже.



Рис. №2 Распределение больных, включенных в исследование, по этиологии поражения артериального русла



Рис. №3 Распределение больных, включенных в исследование, в зависимости от стадии хронической ишемии нижних конечностей

Продолжительность анамнеза заболевания и стадии хронической ишемии на момент включения в исследование составила от 8 месяцев до 12 лет, в среднем $6,2 \pm 1,3$ года.

Во всех случаях диагноз хронической ишемии был поставлен ранее и обращение в отделение сосудистой хирургии ФГБНУ РНЦХ им. Акад. Б.В. Петровского не было первичным.

Всем пациентам ранее было назначено какое-либо консервативное лечение по поводу ХИНК, 110 (91,7%) из них принимали либо один из препаратов, либо получали комплексную консервативную терапию. Однако, в 10 случаях (8,3%) какое-либо лечение полностью отсутствовало.

У 116 пациентов (96,7%) из 120, включенных в исследование, были диагностированы или уже известны сопутствующие заболевания, но в то же время не являвшиеся противопоказанием и не препятствующими для проведения и оценки полученных результатов исследуемого метода лечения.

Большинство пациентов, включенных в исследование, имели различную сопутствующую патологию сердечно-сосудистой системы.

Далее по частоте выявления следовала патология желудочно-кишечного тракта и нервной системы.

Курящими на момент включения в исследование были 93 (77,5%) пациента, 14 (11,7%) из которых в дальнейшем полностью отказались от курения на всем протяжении исследования.

Злоупотребление алкоголем было отмечено в 24 (20%) случаях. В таблице №1 представлена сопутствующая патология и наличие вредных привычек.

Табл. №1 Сопутствующая патология и вредные привычки пациентов, включенных в исследование

Сопутствующая патология/ вредные привычки	Количество пациентов N = 120 (Общее количество)
Ишемическая болезнь сердца	92 (76,6%)
Острый инфаркт миокарда	18 (15,0%)
Гипертоническая болезнь	116 (96,6%)
Хроническая сосудисто-мозговая недостаточность	50 (41,6%)
ОНМК в анамнезе	9 (7,5%)
Сахарный диабет (2 типа)	25 (20,8%)
Патология ЖКТ	17 (14,2%)
Патология легких	13 (10,8%)
Злоупотребление алкоголем	8 (6,67%)
Курение	93 (77,5%)

Все 120 пациентов, включенных в исследование, были поделены на две равные группы. Первую группу из 60 (50%) случаев составили пациенты в лечении которых использовались генно-инженерные конструкции на основе сосудистого эндотелиального фактора роста VEGF-165 (медицинский

препарат «Неоваскулген») совместно с комплексным лечением сосудистой патологии (хирургическое и консервативное) - Группа 1.

Другие 60 (50%) пациентов, которые представляли собой контрольную группу - Группа 2, получали только комплексное лечение основного заболевания (хирургическое и консервативное) без применения генно-инженерных конструкций.

В свою очередь каждая из групп были разделены на две подгруппы. Пациенты подгруппы 1А в количестве 35 (27%) одновременно с препаратом «Неоваскулген» получали комплексное консервативное лечение, а представители подгруппы 2А в количестве 30 (25%) человек получали только комплексное консервативное лечение.

В то же время участники подгруппы 1Б в количестве 25 (23%) человек, в лечении которых применялся препарат «Неоваскулген», и подгруппы 2Б в количестве 30 (25%) человек подверглись хирургическому лечению с выполнением прямых реваскуляризирующих операций с последующим использованием стандартной консервативной терапии.

Таким образом, количество пациентов, которые получали комплексную консервативную терапию, составило 65 (52%) человек, а хирургическое лечение в рамках данного исследования перенесли 55 (48%) человек. На рисунке №4 представлена полная схема дизайна исследования.

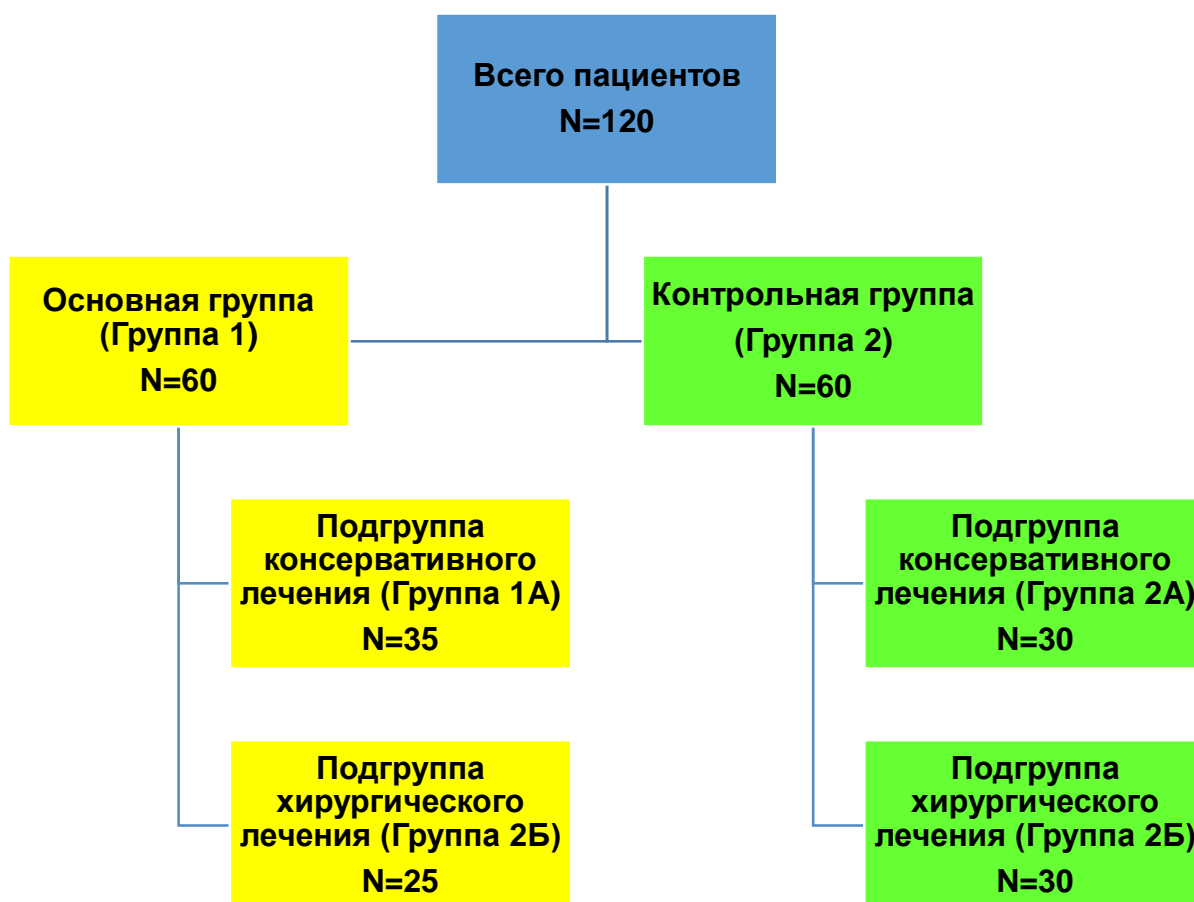


Рис. №4 Схема дизайна исследования

Всем пациентам основной группы генно-инженерный медицинский препарат «Неоваскулген», конструкция которого представляет собой кольцевую ДНК (плазмиду), несущую человеческий ген VEGF 165, кодирующий синтез фактора роста эндотелия сосудов вводился в виде раствора, приготовленного в асептических условиях (растворитель – 5 мл физиологического раствора), вводился в ишемизированные ткани путем внутримышечных инъекций с использованием стандартного шприца с иглой объемом 5мл.

Внутримышечное введение осуществлялось в икроножные мышцы голени ишемизированной конечности по ее задней, медиальной и латеральной поверхностям, преимущественно в средней трети, т.е. в зоне максимального развития мышечного массива голени.

Место инъекции выбиралось с учетом ангиосомальной теории, согласно которой каждый ангиосом (трехмерные объемные блоки, включающие в себя кожу, подкожную клетчатку, мышцы, фасции и кости) кровоснабжается одной из берцовых артерий и ее ветвями. [48]

Общий объем готового раствора распределялся на равные части в зависимости от степени развития мышц голени и роста пациента.

Количество одновременно выполняемых инъекций составляло от 4 до 6, а объем вводимого в каждую точку голени раствора - от 0,5 до 1,0 мл.

Таким образом, раствор препарата «Неоваскулген» равномерно распределялся внутри мышечного массива голени пораженной конечности.

Введение препарата «Неоваскулген» проводилось дважды с интервалом в 14 суток с момента первого применения.

2.2 Характеристика больных 1А и 2А подгрупп основной и контрольной групп, которым проводилось комплексное консервативное лечение.

Как уже сказано ранее основная подгруппа 1А была представлена 35 пациентами (29,2%), а контрольная 2А 30 пациентами (25%).

В группе 1А из 35 пациентов, мужчин было 27 (77,1%), женщин 8 (22,9%). Возраст больных варьировал от 48 до 75 лет, средний возраст составил $59,4 \pm 5,2$ лет.

Основным этиологическим фактором поражения являлся атеросклероз - 30 пациентов (85,7%), у 4 (11,4%) пациентов был выявлен сахарный диабет 2 типа и атеросклеротическое поражение сосудов сочеталось с диабетической макро - и микроангиопатией, 1 (2,9%) пациент имел артериитическое поражение.

Хроническая ишемия нижних конечностей IIБ стадии была диагностирована у 19 (54,3%) пациентов, III стадии у 16 пациентов (45,7%). У 3 (8,6%) пациентов наблюдались трофические изменения – язвенные дефекты кожных покровов нижней трети голени и стопы, в диаметре не превышающие 2-3 см и не имеющие признаков некроза, в т.ч. у 2 пациентов с сопутствующим сахарным диабетом.

Длительность анамнеза хронической ишемии составила от 2 до 14 лет (в среднем $4,7 \pm 3,2$ года).

В контрольной подгруппе (Группа 2А) из 30 пациентов, мужчин было 21 (70%), женщин 9 (30%).

Возраст больных варьировал от 46 до 72 лет, средний возраст составил $55,8 \pm 4,3$ лет.

Основным этиологическим фактором поражения являлся атеросклероз - 23 пациента (76,7%), у 5 (16,7%) пациентов был выявлен сахарный диабет 2 типа и атеросклеротическое поражение сосудов сочеталось с диабетической

макро- и микроангиопатией, 2 (6,6%) пациент имел артериитическое поражение.

Хроническая ишемия нижних конечностей IIБ стадии отмечалась у 20 (66,7%) пациентов, III стадии у 10 (33,3%). У 2 (6,7%) пациентов наблюдались трофические изменения схожего характера, как и у пациентов из основной 1А подгруппы, в т.ч. у 1 пациента с сопутствующим сахарным диабетом.

Длительность анамнеза хронической ишемии составила от 3 до 13 лет (в среднем $5,1 \pm 2,8$ лет).

В таблице №2 представлен сравнительный анализ клинических и демографических характеристик 1А и 2А подгрупп. По всем основным показателям, которые влияют на течение и прогноз заболевания, а также от которых зависит выбор схемы и тактики лечения основная и контрольная подгруппы не имели статистически значимых различий.

Консервативный метод лечения применялся к тем пациентам, для которых не представлялось возможным выполнить реконструктивную сосудистую операцию из-за неудовлетворительных путей оттока согласно классификации Rutherford et.al. (8 баллов и более). [89]

Помимо этого, в группу консервативного лечения были включены пациенты с изолированным поражением артерий голени («дистальное» поражение) или пациенты с сильно выраженным («многоэтажным») распространенным характером поражения артериального русла нижних конечностей.

В группе 1А таких пациентов было 32 (91,4%), а в группе 2А 27 (90,0%) пациентов.

Соответственно у 6 остальных пациентов (3 пациента (8,6%) из 1А группы и 3 пациента (8,6%) из 2А группы) из групп консервативного лечения имелись необходимые условия для выполнения реконструктивных операций. Однако пациенты либо сами добровольно отказывались от предложенного им

хирургического лечения, либо риск хирургического вмешательства был высоким или крайне высоким.

Помимо этого, в ряде случаев у некоторых пациентов была потенциальная возможность проведения реваскуляризирующей шунтирующей операции, однако подходящая для данного вмешательства в качестве естественного шунта аутовена отсутствовала.

Сравнительная характеристика поражений артериального русла нижних конечностей у больных 1А и 2А групп приведена в таблице № 3.

Табл. №2 Основные клиничко-демографические характеристики 1А и 2А групп комплексного консервативного лечения

Характеристика	Группа 1А (основная)	Группа 2А (контрольная)	Р
Мужчины/женщины	27/8	21/9	>0,05
Средний возраст, лет	48-75 (59±5,2)	46-72 (55,8±4,3)	>0,05
Длительность анамнеза, лет	2-14 (4,7±3,2)	3-13 (5,1±2,8)	>0,05
Этиология заболевания:			>0,05
- атеросклероз	30 (85,7%)	23 (76,7%)	
- атеросклероз + диабет	4 (11,4%)	5 (16,7%)	
- артериит	1 (2,9%)	2 (6,6%)	
Степень ХИНК			>0,05
IIБ	19 (54,3%)	20 (66,7%)	
III	16 (45,7%)	10 (33,3%)	
Наличие трофических изменений	3 (8,6%)	2 (6,6%)	>0,05
Признаки мультифокального атеросклероза	17 (48,6%)	14 (46,7%)	>0,05
Сахарный диабет	4 (11,4%)	5 (16,7%)	>0,05
Курение	24 (68,6%)	23 (76,7%)	>0,05

Табл. №3 Характеристика поражения артериального русла пациентов 1А и 2А групп комплексной консервативной терапии

Характеристика	Группа 1А (основная) N=30	Группа 2А (контрольная) N=35	P
Гемодинамически значимые поражения артерий аорто-подвздошно-бедренного сегмента	4 (13,3%)	4 (11,4%)	>0,05
Гемодинамически значимые поражения бедренно-подколенного сегмента	18 (60,0%)	21 (60,0%)	1,000
Изолированные гемодинамически-значимые поражения подколенной артерии и/или артерий голени	7 (23,3%)	9 (25,7%)	>0,05
Гемодинамические значимые поражения подколенной артерии и/или артерий голени в сочетании с поражениями других сегментов	16 (53,3%)	19 (54,3%)	>0,05
Окклюзия артерий голени:			>0,05
- ПББА	12 (40,0%)	13 (37,1%)	
-ЗББА	15 (50,0%)	19 (54,3%)	
-МБА	7 (20,0%)	11 (31,4%)	
Балл состояния путей оттока по классификации Rutherford	8,2±0,7	7,9±1,0	>0,05

Как упоминалось ранее, все случаи обращения пациентов за медицинской помощью не были первичными.

У 1 пациента (2,8%) из основной 1А группы и 2 пациентов (6,7%) из контрольной 2А группы в анамнезе было проведено аорто-бедренное шунтирование.

3 пациента (8,6%) из 1А группы и 4 пациента (13,3%) из 2А группы перенесли бедренно-подколенное шунтирование.

2 пациента (5,7%) из 1А группы и 1 пациент (3,3%) из 2А группы перенесли операцию по пластике глубокой артерии бедра.

Во всех случаях перенесенного шунтирования отмечался тромбоз шунтов различной степени давности.

У 5 пациентов после профундопластики отмечался рестеноз области реконструкции (3 пациента из 1А и 2 пациента из 2А групп), а у других двух было диагностировано заметное ухудшение проходимости дистального русла по сравнению на момент хирургического вмешательства.

Все 100% пациентов 1А и 2А групп постоянно принимали препараты ацетилсалициловой кислоты.

Так же пациенты принимали различные ангиотропные препараты в течение последних нескольких лет.

Часть пациентов неоднократно проходила курсы консервативного лечения, направленного на улучшение состояния сосудистого русла в различных стационарах.

Ранее выполненные хирургические вмешательства и их характеристика представлены в таблице №4.

Табл. №4 Ранее выполненные хирургические вмешательства пациентам из 1А и 2А групп комплексного консервативного лечения

Хирургическая операция	Группа 1А (основная)	Группа 2А (контрольная)	P
Аорто-бедренное шунтирование	1 (2,8%)	2 (6,7%)	>0,05
Бедренно-подколенное шунтирование	3 (8,6%)	4 (13,3%)	>0,05
Пластика глубокой артерии бедра	2 (5,7%)	1 (3,3%)	>0,05

Все пациенты, поступившие в отделение сосудистой хирургии ФГБНУ РНЦХ им. Акад. Б.В. Петровского получали комплексное консервативное лечение основного и сопутствующих заболеваний, которое представляло собой различные комбинации медицинских препаратов в соответствии с Национальными рекомендациями по лечению пациентов с хронической ишемией нижних конечностей, направленные на улучшение микроциркуляции, повышающие устойчивость к ишемии, антиагреганты и антикоагулянты различных типов. Для пациентов с сопутствующим сахарным диабетом после консультации эндокринолога подбиралась и назначалась необходимая гипогликемическая терапия.

При выписке из отделения всем пациентам назначалась постоянная комплексная консервативная терапия и указывались даты обязательных контрольных явок к врачу сосудистому хирургу.

Пациенты с трофическими нарушениями мягких тканей нижних конечностей получали местное лечение, представлявшее собой различные комбинации таких препаратов, как левомеколь, хлоргексидин, бетадин, банеоцин, химопсин, ируксол, солкосерил, аргосульфам, перевязочный

материал с различными антибактериальными и регенирирующими пропитками.

Все пациенты основной 1А группы (35 человек), помимо стандартной консервативной терапии, получали лечение медицинским препаратом содержащим генно-инженерные конструкции для стимуляции ангиогенеза, в составе которого представлен сосудистый эндотелиальный фактор роста VEGF-165 (Препарат «Неоваскулген»).

Введение препарата у всех пациентов проводилось по разработанной в ФГБНУ «РНЦХ» им. Академика Б.В. Петровского методике, описанной ранее.

Пациентам из контрольной 2А группы проводился только курс стандартной комплексной консервативной терапии без применения генно-инженерных конструкций.

Результаты проведенного лечения представлены в виде суммарного сравнительного анализа в таблице №5.

Табл. №5 Комплексное консервативное лечение для пациентов из 1А и 2А групп проводимое в условиях стационара

Используемый препарат или методика лечения	Группа 1А (основная)	Группа 2А (контрольная)	Р
Ацетилсалициловая кислота	35 (100%)	30 (100%)	>0,05
Пентоксифиллин	32 (91,4%)	27 (90%)	>0,05
Реополиглюкин	28 (80,0%)	25 (83,3%)	>0,05
Сулодексид	6 (17,1%)	3 (10,0%)	>0,05
Актовегин	29 (82,8%)	22 (73,3%)	>0,05
Мексидол	19 (54,3%)	17 (56,7%)	>0,05
Никотиновая кислота 1%	12 (34,3%)	(33,3%)	>0,05
Антикоагулянтная терапия (прямые и непрямые антикоагулянты)	7 (20,0%)	5 (16,7%)	>0,05
Гипогликемическая терапия	4 (11,4%)	5 (16,7%)	>0,05
Гипербарическая оксигенация	19 (54,3%)	17 (56,7%)	>0,05
Генно-инженерные конструкции стимуляции ангиогенеза VEGF-165 (Препарат «Неоваскулген»)	35 (100%)	Не применялись	

Основываясь на вышеизложенных данных можно сделать вывод, что группы 1А (основная) и 2А (контрольная) были сопоставимы по клинико-демографическим характеристикам, степени и характеру поражения сосудистого артериального русла нижних конечностей, клинической выраженности заболевания, основным факторам риска и другим показателям, влияющим на течение и прогноз основного заболевания.

Консервативное лечение пациентов обеих групп было сопоставимо по объему и проводилось согласно стандартам медицинского лечения пациентов с хронической ишемией нижних конечностей ПА-III стадий.

Главное и основное отличие проводимого лечения пациентов основной и контрольной групп заключалось во включении в курс лечения пациентов генно-инженерных конструкций для стимуляции ангиогенеза, содержащие VEGF-165 (Препарат «Неоваскулген»), которые применялись у пациентов основной 1А группы и отсутствовали в лечении пациентов контрольной 2А группы.

2.3 Характеристика больных 1Б и 2Б подгрупп основной и контрольной групп, которым проводилось хирургическое лечение.

Согласно общему дизайну исследования, пациенты, в отношении которых в рамках данной работы проводилось хирургическое лечение (прямые реваскуляризирующие операции), были выделены в основную и контрольную группы 1Б и 2Б соответственно.

В основную группу (1Б) вошло 25 (20,8% от общего количества пациентов в работе) пациентов, в контрольную (2Б) 30 (25%).

В основной подгруппе из 25 пациентов, мужчин было 17 (68%), женщин 8 (32%).

Возраст больных варьировал от 54 до 78 лет, средний возраст составил $62,3 \pm 6,1$ лет.

Основным этиологическим фактором поражения являлся атеросклероз - 21 пациент (84%), у 4 (16%) пациентов был выявлен сахарный диабет 2 типа и атеросклеротическое поражение сосудов сочеталось с диабетической макро- и микроангиопатией.

Хроническая ишемия нижних конечностей IIБ стадии отмечалась у 15 (60%) пациентов, III стадии у 10 (40%) пациентов.

Длительность анамнеза хронической ишемии составила от 1,5 до 12 лет (в среднем $5,6 \pm 1,3$ года).

В контрольной 2Б группе из 30 пациентов, мужчин было 19 (63,3%), женщин 11 (36,7%).

Возраст пациентов варьировал от 48 до 78 лет, средний возраст составил $58,3 \pm 3,6$ лет.

Основным этиологическим фактором поражения артерий являлся атеросклероз - 25 (75%) пациентов, у 5 (25%) пациентов атеросклеротическое поражение сосудов сочеталось с выявленным сахарным диабетом 2 типа с сопутствующей диабетической макро- и микроангиопатией.

Хроническая ишемия нижних конечностей IIБ стадии отмечалась у 20 (66,7%) пациентов, III стадии у 10 (33,3%). У 1 (3,3%) больного с сопутствующим сахарным диабетом наблюдались трофические изменения.

Длительность анамнеза хронической ишемии нижних конечностей составила от 2,5 до 12 лет (в среднем $4,7 \pm 1,6$ лет).

У 18 пациентов были выявлены гемодинамически значимые поражения аорто-подвздошно-бедренной зоны, у 38 пациентов - бедренно-подколенной зоны, а у 11 пациентов - изолированное поражение подколенной или тиббиальных артерий («дистальная» форма поражения артерий нижних конечностей).

Одним из основных условий включения пациентов в исследование являлось наличие гемодинамически значимых поражений артерий голени. Данная патология была выявлена у всех пациентов IБ и IIБ групп (100%).

Были проанализированы основные клинико-демографические характеристики пациентов из групп IБ и IIБ, характеристики уровней поражения артериального русла, проведено сравнение и статистический расчет. По вышеуказанным характеристикам и параметрам основная и контрольная группы не имели статистически значимых и достоверных различий. Результаты представлены в таблице № 6.

Табл. №6 Основные клинико-демографические характеристики 1Б и 2Б групп комплексного хирургического лечения и виды поражения артериального русла

Характеристика	Группа 1Б (основная)	Группа 2Б (контрольная)	P
Мужчины/женщины	17/8	19/11	>0,05
Средний возраст, лет	54-78 (62,3±6,1)	48-78 (58,3±3,6)	>0,05
Этиология заболевания:			>0,05
-Атеросклероз	21 (84,0%)	25 (75,0%)	
-Атеросклероз + СД	4 (16,0%)	5 (25,0%)	
Степень ХИНК:			>0,05
IIБ	15 (60,0%)	20 (66,7%)	
III	10 (40,0%)	10 (33,3%)	
Наличие трофических изменений	0	1 (3,3%)	>0,05
Признаки мультифокального атеросклероза	19 (76,0%)	23 (76,7%)	>0,05
Сахарный диабет	4 (16,0%)	5 (25,0%)	>0,05
Курение	20 (80,0%)	26 (86,6%)	>0,05
Длительность анамнеза, лет	1,5-12 (5,6±1,3)	2,5-12 (4,7±1,6)	>0,05
Гемодинамически значимые поражения аорто-подвздошно-бедренного сегмента	8 (32,0%)	10 (33,3%)	>0,05
Гемодинамически значимые поражения бедренно-подколенного сегмента	17 (68,0%)	21 (70,0%)	>0,05
Изолированные гемодинамически значимые поражения подколенной и/или артерии голени	4 (16,0%)	7 (23,3%)	>0,05

Гемодинамически значимые поражения артерий голени (в сочетании с поражениями других сегментов)	25 (100%)	30 (100%)	1,000
--	-----------	-----------	-------

Для определения возможности и необходимости выполнения прямой реваскуляризирующей сосудистой операции нами проводилась оценка состояния путей оттока и определялось периферическое сосудистое сопротивление. Это проводилось согласно схеме, которая была разработана и предложена Rutherford et.al. и принята в 2002 году Российским Консенсусом в рамках системы стандартов оценки результатов лечения пациентов с ХИНК. [32]

В начале определяются баллы, соответствующие вкладу артерии (артерий) оттока ниже уровня наложения дистального анастомоза.

Далее определяются баллы сопротивления каждой из этих артерий с диапазоном 0 - 3:

- 0 баллов – артерия полностью проходима,
- 1 балл - стеноз артерии составляет 20 - 49%,
- 2 балла - стеноз артерии составляет 50 - 99%,
- 2,5 балла - окклюзия артерии на протяжении менее половины ее длины с имеющимися видимыми коллатералиями,
- 3 балла – артерия окклюзирована на всем протяжении

На последнем этапе определяется балл, соответствующий локализации артерии (артерий) оттока и умножается на балл сопротивления каждой из этих артерий, после чего все баллы суммируются и к ним прибавляется еще 1 балл так называемого «базового» сопротивления (за исключением случаев шунтирования в подколенную артерию выше щели коленного сустава при условии проходимости ее дистального отдела).

В конечном итоге формируется результирующий суммарный балл,

находящийся в диапазоне значений от 0 до 10. При состоянии сохранного и полностью проходимого дистального артериального русла и «идеальных» путях оттока выставляется 1 балл (или 0 баллов в описанном выше исключении шунтирования в подколенную артерию). В случае полной окклюзии дистального артериального русла выставляются итоговые 10 баллов.

Значение показателя 8 баллов и более рассматривалось как неудовлетворительное (плохое) состояние путей оттока, соответственно выполнение прямой реваскуляризирующей операции в этом случае не рекомендовалось.

Система баллов и сосудистого русла представлена в таблице №7.

Табл. №7 Система баллов, предложенная Rutherford et.al.

Локализация дистального анастомоза	Количество баллов, присваиваемых артерии оттока		
	3 балла	2 балла	1 балл
Общая бедренная артерия		Поверхностная бедренная артерия	Глубокая артерия бедра
Глубокая артерия бедра	Глубокая артерия бедра		
Подколенная артерия выше щели коленного сустава	Подколенная артерия		Передняя большеберцовая артерия
			Задняя большеберцовая артерия
			Малоберцовая артерия
Подколенная артерия ниже щели коленного сустава		Передняя большеберцовая артерия	Передняя большеберцовая артерия
			Задняя большеберцовая артерия
			Малоберцовая артерия
Передняя большеберцовая артерия		Передняя большеберцовая артерия	Дуга стопы

Задняя большеберцовая артерия		Задняя большеберцовая артерия	Дуга стопы
Малоберцовая артерия		Малоберцовая артерия	Анастомозы между задней/передней/малоберцовой артерией
Стопная артерия	Артерии стопы		

Состояние путей оттока по шкале Rutherford et.al. [89] в 7 баллов и менее являлось основным условием для проведения хирургических реваскуляризирующих операций на артериях нижних конечностей.

Балл оценки состояния путей оттока у пациентов данного исследования в группе хирургического лечения составлял от 6 до 3, средний показатель составил $4,3 \pm 0,9$ балла в группе 1Б и $4,2 \pm 1,2$ балла в группе 2Б ($p < 0,05$).

Пациентам из группы хирургического лечения проводились следующие реваскуляризирующие операции на артериях нижних конечностей:

- бедренно-подколенное шунтирование выше щели коленного сустава синтетическим протезом;
- бедренно-подколенное шунтирование ниже щели коленного сустава с использованием аутовены;
- аорто (подвздошно) - общебедренное или глубокобедренное шунтирование или протезирование синтетическим протезом;
- эндартерэктомия с изолированной пластикой глубокой артерии бедра синтетической заплатой или аутоартерией.

Бедренно-подколенное шунтирование ниже щели коленного сустава выполнялось при удовлетворительном кровотоке в аорто-подвздошно-бедренном сегменте, окклюзии поверхностной бедренной артерии на всем протяжении и окклюзии или выраженных атеросклеротических изменений начального участка подколенной артерии.

В каждом случае в качестве шунтирующего материала применялась аутовена. В большинстве случаев операция проводилась по методике *in-situ* с использованием валвулотомов. Разрушение венозных клапанов проводилось после наложения проксимального анастомоза и вплоть до достижения адекватного антеградного кровотока по шунту.

В редких случаях проводилось хирургическое вмешательство реверсированной аутовеной. При отсутствии адекватной аутовены такие пациенты исключались из настоящего исследования.

Бедренно-подколенное шунтирование выше щели коленного сустава выполнялось при сочетании нескольких условий: наличии удовлетворительного кровотока в аорто-подвздошно-бедренном сегменте, отсутствии кровотока (окклюзии) в поверхностной бедренной артерии и проходимой на всем протяжении подколенной артерии при условии удовлетворительного состояния артерий голени согласно оценке состояния путей оттока по Rutherford. При данных операциях в качестве шунтирующего материала использовались синтетические протезы различных фирм, применяемые в ФГБНУ РНЦХ им. Акад. Б.В. Петровского (Gore-Tex, Vascutek, Экофлон).

Техника шунтирования в обоих случаях была стандартной. Сосудистые анастомозы накладывались по методике «конец-в-бок» монофиламентной нитью (проксимальный анастомоз – 4/0 или 5/0, дистальный анастомоз – 5/0-или 6/0).

Всего хирургических операций бедренно-подколенного шунтирования выше щели коленного сустава было выполнено у 22 больных, ниже щели коленного сустава - у 12 больных.

При окклюзионном атеросклеротическом поражении поверхностной бедренной артерии и неудовлетворительном состоянии путей оттока (артерий голени), не позволяющем выполнить бедренно-подколенное шунтирование, а также наличие гемодинамически значимых поражений артерий аорто-

подвздошно-бедренной зоны проводилась хирургическая операция по реваскуляризации нижней конечности через систему глубокой артерии бедра.

В таких случаях выполнялось аорто (подвздошно) – общебедренное или аорто (подвздошно)-глубокобедренное шунтирование или протезирование синтетическим протезом в зависимости от степени и локализации поражения.

Для проведения данных операций также применялись синтетические протезы различных фирм, применяемые в ФГБНУ РНЦХ им. Акад. Б.В. Петровского (Gore-Tech, Vascutek, Экофлон).

Хирургическая техника проведения данных вмешательств была стандартной.

Наложение проксимального анастомоза проводилось по типу конец-в-бок при шунтирующих операциях и по типу конец-в-конец при протезирующих операциях монофиламентной нитью 4/0, 3/0.

Наложение дистального анастомоза также проводилось по типу конец-в-бок с общей и глубокой артерией бедра, а в ряде случаев — по типу конец-в-конец (при отсечении глубокой артерии бедра) монофиламентной нитью 5/0.

Всего аорто (подвздошно)-общебедренное (глубокобедренное) шунтирование или протезирование было выполнено у 9 пациентов.

Отсутствие гемодинамически значимых поражений аорто-(подвздошно)-общебедренного артериального сегмента, окклюзия поверхностной бедренной артерии на всем протяжении, неудовлетворительное состояние путей оттока (артерий голени), стенозирующее и гемодинамически значимое поражение глубокой артерии бедра являлось показанием для проведения хирургической операции профундопластики. Наличие у пациентов признаков критической ишемии, пожилого возраста или выраженных сопутствующих заболеваний являлись относительными показаниями для проведения операции пластики глубокой артерии бедра.

Интраоперационно проводилась ревизия глубокой артерии бедра на

доступном протяжении вплоть до неизмененных участков. Артерия рассекалась для выполнения открытой эндартерэктомии. Проводилась проверка на наличие адекватного ретроградного кровотока.

Пластика артериотомического отверстия производилась с использованием заплаты из политетрафторэтилена или из аутоартерии, взятой из участка перевязанной и резецированной поверхностной бедренной артерии (При условии ее полной окклюзии).

Всего пластика глубокой артерии бедра была выполнена у 12 больных.

Сравнительная характеристика видов проведенного хирургического лечения и условий их выполнения согласно состоянию путей оттока представлены в таблице № 8.

Табл. №8 Объем проведенных хирургических вмешательств

Операция	Группа 1Б (основная) N=25	Группа 2Б (контрольная) N=30	P
Балл состояния путей оттока по Rutherford	4,3±0,9	4,2±1,2	>0,05
Бедренно-подколенное шунтирование:			>0,05
- выше щели коленного сустава	10 (40,0%)	12 (40,0%)	
- ниже щели коленного сустава	6 (24,0%)	6 (20,0%)	
Аорто(подвздошно)– глубокобедренное шунтирование	4 (16,0%)	5 (16,7%)	>0,05
Профундопластика	5 (20,0%)	7 (23,3%)	>0,05

Подводя промежуточный итог можно сказать, что пациенты основной и контрольной групп не имели статистически значимых различий по объему хирургического лечения и условиям его выполнения, что позволило в дальнейшем проводить сравнительный анализ результатов лечения в этих

группах больных.

В ближайшем послеоперационном периоде пациенты группы хирургического лечения получали препараты низкомолекулярного гепарина или нефракционный гепарин. В дальнейшем, если более не требовалось лечение антикоагулянтными препаратами пациенты переводились на антиагрегантные препараты (ацетилсалициловая кислота, клопидогрель).

Основное отличие между основной (1Б) и контрольной (2Б) группами комплексного хирургического лечения пациентов с ХИНК заключалось в дополнительном применении после проведенных реваскуляризирующих операций генно-инженерных конструкций стимуляции ангиогенеза, содержащих фактор роста эндотелия сосудов VEGF-165 (Медицинский препарат «Неоваскулген»). Данные генно-инженерные конструкции, содержащие ген фактора роста эндотелия сосудов 165 вводились внутримышечно в икроножные и камбаловидную мышцы голени пораженной конечности в соответствующих дозировках по описанной выше схеме.

Первое введение осуществлялось на 1-3-й день после операции. Повторное введение осуществлялось строго через 14 суток по аналогичной методике.

Пациенты контрольной (2Б) группы после проведенного хирургического вмешательства получали курс стандартной комплексной консервативной терапии без применения генно-инженерных конструкций.

Результаты проведенного лечения представлены в виде суммарного сравнительного анализа в таблице №9.

Табл. №9 Препараты комплексной консервативной терапии, применяемой в послеоперационном периоде

Используемый метод и препараты	Группа 1Б (Основная) N=25	Группа 2Б (Контрольная) N=30	P
Генно-инженерные комплексы на основе фактора роста эндотелия сосудов VEGF-165	25 (100%)	Не применялись	
Гепарины (низкомолекулярный и нефракционный)	22 (88,0%)	25 (83,3%)	>0,05
Ацетилсалициловая кислота	25 (100%)	30 (100%)	1,000
Клопидогрель	18 (72,0%)	22 (73,3%)	>0,05
Пентоксифиллин	21 (84,0%)	26 (86,7%)	>0,05
Актовегин	16 (64,0%)	19 (63,3%)	>0,05

Основываясь на вышеизложенных данных можно сделать вывод, что группы 1Б (основная) и 2Б (контрольная) были сопоставимы по клинικο-демографическим характеристикам, степени и характеру поражения

сосудистого артериального русла нижних конечностей, клинической выраженности заболевания, основным факторам риска и другим показателям, влияющим на течение и прогноз основного заболевания.

Объем хирургического лечения был сопоставим между пациентами обеих групп, также как и последующее консервативное лечение в ближайшем и отдаленном послеоперационном периоде. Принципиальным отличием между методиками проводимого лечения явилось использование генно-инженерных конструкций VEGF 165 у пациентов основной группы (1Б), в то время как у пациентов из контрольной (2Б) группы данные конструкции не применялись.

2.4 Диагностика больных и сбор информации для оценки результатов проведенного исследования

Для оценки клинического состояния пациентов, эффективности и динамики их лечения были исследованы субъективные (физикальные) и объективные (инструментальные и лабораторные) показатели.

Физикальное обследование проходило в необходимом объеме, принятом в отношении пациентов с заболеваниями периферических артерий нижних конечностей. Проводился тщательный сбор жалоб, анамнеза пациента, оценивались факторы риска, уточнялись и выявлялись сопутствующие заболевания и вредные привычки.

Во время первичного осмотра оценивалась характеристика кожных покровов нижних конечностей, выявлялись признаки гипотрофии мышц, определялся характер роста волос на голеньях, наличие трофических изменений мягких тканей. Определялась температура кожных покровов и ее различие на двух конечностях, а также пульсация магистральных артерий нижних конечностей в стандартных точках на всех уровнях.

У всех пациентов проводилась оценка лабораторных показателей: общий анализ крови с определением лейкоцитарной формулы и СОЭ, общий анализ мочи, биохимический анализ крови (включая определение липидного спектра), коагулограмма.

Госпитализированным пациентам выполнялась рентгенография органов грудной клетки согласно стандартной схеме обследования и для оценки

соматического статуса и онкологического скрининга. Электрокардиография, эхокардиография и ультразвуковое исследование органов брюшной полости выполнялось всем пациентам в стандартном объеме согласно принятым схемам обследования госпитализированных больных.

Дистанция безболевого ходьбы и дистанция максимальной дальности ходьбы оценивалась с помощью выполнения пациентами тредмил-теста на дорожке Burdick.

Скорость полотна дорожки составляла 2,0 км/ч у пациентов IIБ ст. ХИНК и 1,5 км/ч у пациентов III ст. ХИНК. При проведении исследования уровень наклона дорожки составлял 1°. Определялась как дистанция безболевого ходьбы (до появления первых болевых ощущений в мышцах голени), так и максимально возможная для пациента дистанция - расстояние, по достижении которого, пациент вынужден остановиться и прекратить исследование из-за сильно выраженного болевого синдрома. Тредмил-тест был проведен у 100% пациентов.

В некоторых случаях тредмил-тест по определению максимальной дистанции ходьбы был прекращен досрочно в связи с возникновением прочих нежелательных явлений.

В этом случае при оценке клинического статуса в качестве максимальной принималась дистанция, на которой исследование было остановлено. Во всех случаях после завершения тредмил-теста определялось время восстановления исходных параметров кровотока.

Ультразвуковое дуплексное сканирование артерий нижних конечностей выполнялось всем пациентам. Для проведения исследования использовались ультразвуковые приборы Acuson 128 и Logic 7. Для исследования применяли линейный мультислотный датчик 7-10 МГц. Исследование проводилось в стандартном сосудистом режиме, где оценивалась проходимость сосудов на разных уровнях, степени стенозирования, распространенности поражения, тип кровотока (магистральный, магистрально-измененный, коллатеральный), а

также скоростные и объемные показатели кровотока на разных уровнях локации. При наличии в анамнезе хирургических операций шунтирования обязательно проводилась оценка проходимости шунтов и состояния анастомозов.

Показатели лодыжечно-плечевого индекса были рассчитаны у всех пациентов, включенных в исследование.

У большей части пациентов была проведена МСКТ-ангиография с внутривенным контрастированием и 3D реконструкцией с целью верификации диагноза, определения распространенности патологического процесса решения вопроса о возможности выполнения реваскуляризирующей сосудистой операции.

Оценка субъективного восприятия больными собственного здоровья проводилась на основании показателей качества жизни.

В качестве опросника пациента для оценки стандартизированного качества жизни применялся универсальный опросник SF-36 («Medical Outcomes Study: Short Form 36») в его русскоязычной версии.

Схема компонентов опросника и его структура представлена на рисунке №5.

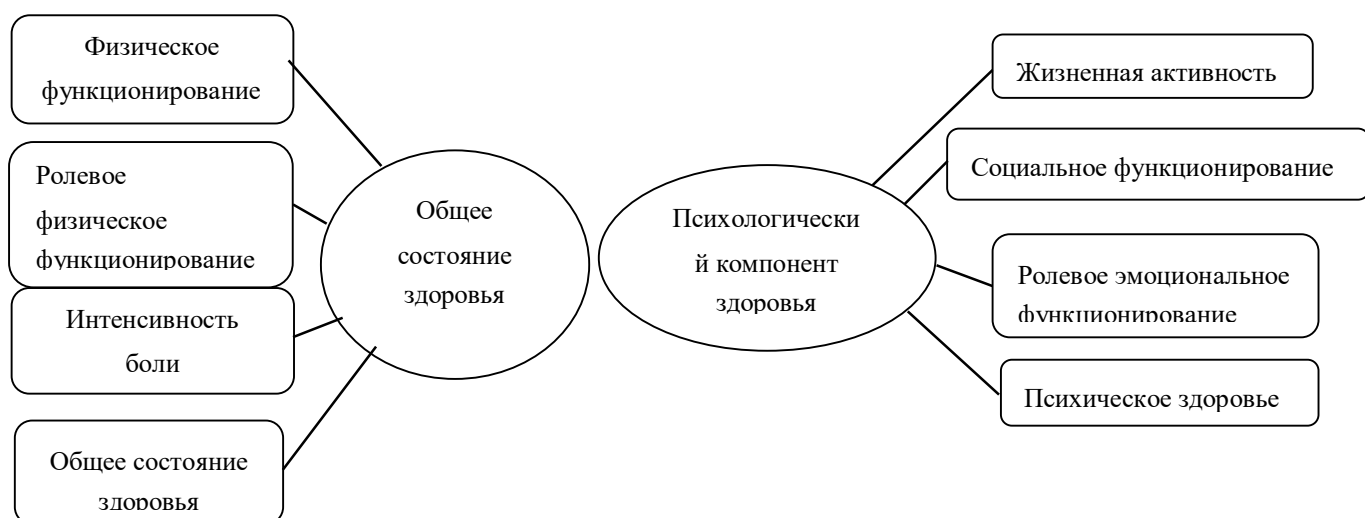


Рис. №5. Шкалы-категории и компоненты здоровья, оцениваемые по опроснику SF-36

Для интегральной оценки результатов и эффективности комплексного лечения применялась универсальная шкала, предложенная Rutherford et.al. [89]:

+3 (значительное улучшение) – симптоматика ишемии отсутствует, трофические язвы отсутствуют, ЛПИ в норме ($> 0,9$);

+2 (умеренное улучшение) – симптоматика ишемии нижних конечностей присутствует, однако боли в мышцах конечности возникают при большей нагрузке, чем до операции; степень ишемии уменьшается на одну стадию минимум; ЛПИ не в норме, но увеличен больше чем на $0,1$;

+1 (минимальное улучшение) – отсутствие клинического улучшения при увеличении ЛПИ более чем на $0,1$. Или клиническое улучшение без прироста ЛПИ;

0 (без изменений) - отсутствие изменения степени ишемии и отсутствие изменения ЛПИ;

- 1 (минимальное ухудшение) - отсутствие изменения степени ишемии, при уменьшении ЛПИ более чем на $0,1$. Или клиническое ухудшение без изменения уровня ЛПИ;

-2 (умеренное ухудшение) – усиление симптоматики ишемии, степень ишемии увеличивается на одну ступени минимум или неожиданная малая ампутация;

-3 (значительное ухудшение) - усиление симптоматики ишемии, степень ишемии увеличивается на две ступени минимум или большая ампутация.

В таблице №10 представлен объем обследований в различные сроки наблюдения за пациентами как в ближайшем, так и в отдаленном периоде после осуществления лечения.

Табл. №10 Объем и сроки проводимых обследований

Метод обследования	Исходно	1 месяц	3 месяца	6 месяцев	1 год	1,5 года и позже
Сбор жалоб, анамнез, осмотр	√	√	√	√	√	√
Лабораторные исследования	√		√	√	√	
ЭКГ, УЗИ брюшной полости, рентгенография ОГК	√				√	
УЗДС артерий н/к + оценка ЛПИ и параметров кровотока	√		√	√	√	√
Тредмил-тест	√		√	√	√	√
КТ-ангиография	√				√	
Сцинтиграфия перфузии мышц н/к	√			√		√
Оценка качества жизни	√	√	√	√	√	√

Статистический анализ полученных результатов проводился с помощью компьютерных программ MedCalc и Statistica 12.

При сравнении параметрических показателей использовался t-критерий Стьюдента. Критерий χ^2 , точный критерий Фишера и U-критерий Манна-Уитни применялся для сравнения непараметрических показателей.

Поправка Йейтса использовалась при сравнении малых групп.

Коэффициент ранговой корреляции Спирмена использовался при сравнении малых групп.

Различия между показателями считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Глава 3.

Результаты применения генно-инженерных конструкций стимуляции ангиогенеза VEGF165 в комплексном консервативном лечении.

В данной главе представлены результаты проведенного комплексного консервативного лечения пациентов в котором генно-инженерные конструкции применялись в качестве самостоятельного метода лечения. Из-за большой разницы в клиническом течении, развитии исходов, ответе на различные методы терапии все полученные результаты будут рассматриваться отдельно для пациентов с исходной IIБ ст. ХИНК и для пациентов с исходной IIIст. ХИНК.

Результаты комплексного консервативного лечения пациентов с применением генно-инженерных конструкций изучены у всех (100%) пациентов основной и контрольной групп в течение первого года наблюдения. Данные о дальнейшем количестве изученных результатов в соответствии со сроками представлены в таблице №11.

Табл. №11 Пациенты группы комплексного консервативного лечения, которым проводилась оценка результатов лечения

Количество пациентов	Срок наблюдения
60 (100%)	Исходно
60 (100%)	3 месяца
60 (100%)	6 месяцев
60 (100%)	1 год
51 (85,0%)	2 года
44 (73,3%)	3 года

32 (53,3%)	5 лет и более
------------	---------------

Резкое снижение количества пациентов в отдаленные периоды наблюдения связано в первую очередь с нежеланием самого пациента получать постоянно необходимое лечение, проходить осмотры и контрольные исследования в течение столь длительного периода времени, а еще, что крайне немаловажно в связи с хорошим результатом лечения, при котором сам пациент перестает считать себя больным и отказывается от наблюдения врачами и прохождения периодических осмотров.

В связи с этим основной статистический массив данных приходится на результаты лечения в течение первых трех – шести месяцев относительно ближайших результатов и в период от года до двух лет относительно отдаленных результатов. Однако, интересные с клинической и научной точки зрения наблюдения были зарегистрированы и на гораздо более поздних сроках наблюдения.

Первым этапом была произведена оценка и структуризация жалоб больных и данных их непосредственного физикального осмотра. За абсолютные 100% на каждый конкретный момент исследования в каждой конкретной группе бралось то количество пациентов, которое было доступно для данного обследования и осмотра.

Для оценки интенсивности болей, различных субъективных ощущений и оценки состояния мышечного массива нижних конечностей на момент каждого исследования применялась модель субъективной оценки этих параметров самим пациентом.

Изменения локальной чувствительности на момент опроса пациента учитывались как жалобы на ее снижение по типу онемения или возникновение новых ощущений (различного рода парестезии).

Все осмотры и опросы пациентов для объективизации данных проводились одним и тем же сосудистым хирургом. Все полученные результаты представлены в таблицах №12 и №13.

Табл. №12 Жалобы и результаты физикального осмотра пациентов с исходной ШБ ст. ХИНК на различных сроках наблюдения

Параметр	3 мес.	6 мес.	1 год	2 года	3 года
Уменьшение интенсивности болей					
1А группа	23%	38%	72%	71%	67%
2А группа	20%	28%	47%	43%	35%
P	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05
Увеличение интенсивности болей					
1А группа	0%	0%	0%	2%	4%
2А группа	0%	4%	7%	15%	21%
P	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05
Исчезновение болей					
1А группа	0%	4%	17%	19%	16%
2А группа	0%	0%	4%	5%	4%
P	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p<0,05	p>0,05
Ощущение похолодания конечности					
1А группа	47%	45%	26%	24%	26%
2А группа	51%	47%	45%	45%	51%
P	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05

Нарушение чувствительности конечности	В					
1А группа		22%	23%	12%	10%	10%
2А группа		23%	22%	20%	23%	25%
Р		p>0,05	p>0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05
Снижение температуры (при пальпации)	кожной (при пальпации)					
1А группа		65%	60%	35%	28%	24%
2А группа		71%	66%	60%	56%	58%
Р		p>0,05	p>0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05
Гипотрофичность голени	мышц					
1А группа		30%	28%	20%	17%	18%
2А группа		35%	37%	41%	44%	45%
Р		p>0,05	p>0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05
Бледность, гиперемия кожных покровов	цианоз или гиперемия кожных покровов					
1А группа		29%	24%	12%	10%	14%
2А группа		25%	27%	32%	35%	31%
Р		p>0,05	p>0,05	p<0,05	p<0,05	p>0,05

Табл. №13 Жалобы и результаты физикального осмотра пациентов с исходной III ст. ХИНК на различных сроках наблюдения

Параметр	3 мес.	6 мес.	1 год	2 года	3 года
Уменьшение интенсивности болей					
1А группа	12%	24%	55%	59%	52%
2А группа	8%	12%	17%	15%	10%
P	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05
Увеличение интенсивности болей или боли покоя					
1А группа	0%	0%	0%	0%	0%
2А группа	0%	2%	0%	4%	6%
P	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Исчезновение болей					
1А группа	0%	4%	7%	10%	8%
2А группа	0%	0%	0%	0%	0%
P	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p>0,05
Ощущение похолодания конечности					
1А группа	75%	70%	51%	52%	59%
2А группа	80%	74%	81%	85%	89%
P	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p<0,05	<0,05

Нарушение чувствительности конечности	В					
1А группа		42%	35%	30%	27%	30%
2А группа		52%	49%	55%	58%	60%
Р		p>0,05	p>0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05
Снижение температуры (при пальпации)	кожной (при пальпации)					
1А группа		72%	55%	51%	44%	47%
2А группа		88%	85%	87%	92%	93%
Р		p>0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05
Гипотрофичность голени	мышц					
1А группа		65%	55%	42%	40%	47%
2А группа		64%	65%	65%	68%	74%
Р		p>0,05	p>0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05
Бледность, гиперемия кожных покровов	цианоз или гиперемия кожных покровов					
1А группа		82%	75%	69%	55%	56%
2А группа		77%	74%	76%	82%	83%
Р		p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p<0,05

Рассматривая полученные результаты оценки различных субъективных показателей в приведенных выше таблицах, можно сразу отметить, что результаты основной группы по сравнению с контрольной являются статистически значимыми и достоверными, а также показывают явное преимущество как в группе с исходной ИБ, так и с III ст. ХИНК.

Статистическая разница начинает прослеживаться раньше у пациентов с

III ст. ХИНК, а субъективные различия в показателях между основной и контрольной группами более выражены по сравнению с показателями пациентов с IIБ ст. ХИНК.

В то же время положительная динамика субъективных показателей у пациентов основной группы с исходной IIБ ст. ХИНК сохраняется на более длительные сроки и в целом имеет со временем более положительный проградцентный рост.

На представленных ниже рисунках №6 и №7 отображается оценка субъективных показателей результатов лечения в динамике.

Характеристику представленных на графиках категорий можно описать следующим образом:

- В категорию «Улучшение» были отнесены такие субъективные показатели, как уменьшение интенсивности и продолжительности болей, а также полное исчезновение болевого синдрома, увеличение дистанции безболевого ходьбы.
- К категории «Ухудшение» были отнесены появление болей в покое или усиление болевого синдрома и продолжительности болей, появление и развитие трофических изменений мягких тканей вплоть до ампутации конечности, уменьшение дистанции безболевого ходьбы или максимально проходимой дистанции, а также при отсутствии изменений относительно дистанции безболевого ходьбы, то ухудшение любых других субъективных показателей.
- К категории «Без перемен» были отнесены все остальные случаи, в том числе случаи при положительной динамике болевого синдрома, но при одновременном ухудшении по другим показателям.

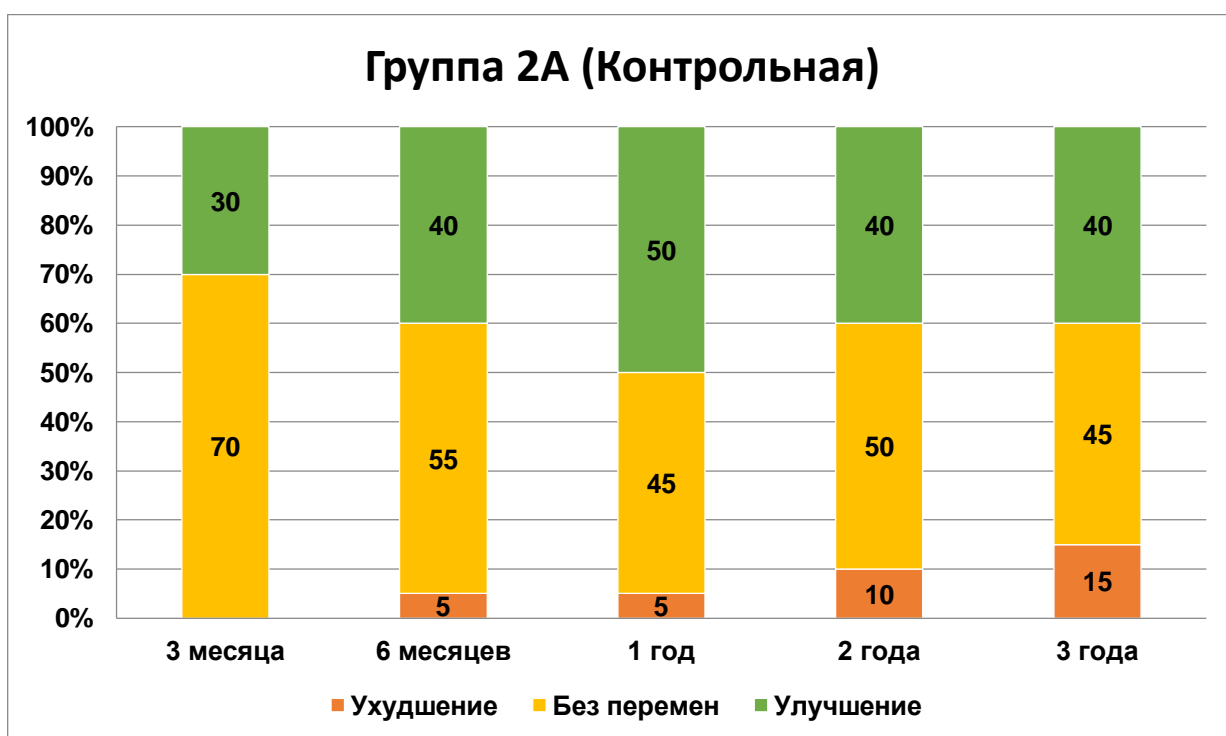
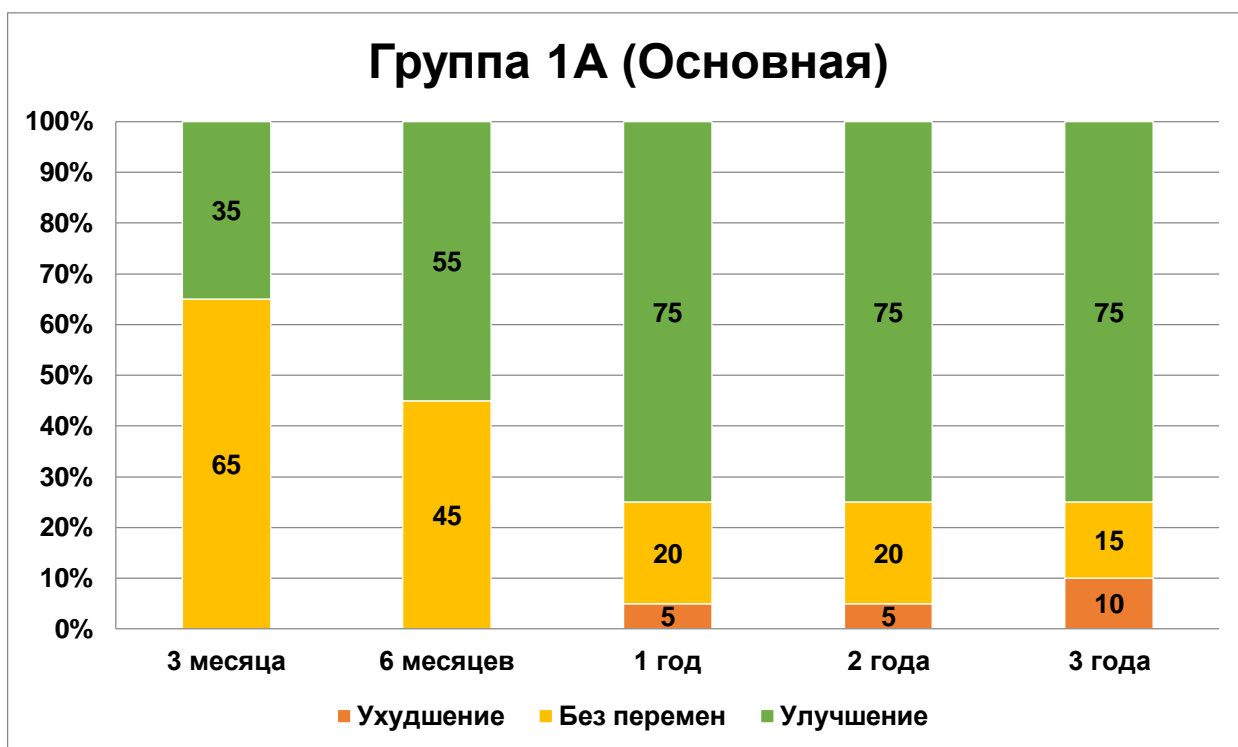


Рис. №6 Оценка изменений субъективных показателей у пациентов 1А и 2А (основная и контрольная группы) с исходной IIБ стадией хронической ишемии нижних конечностей

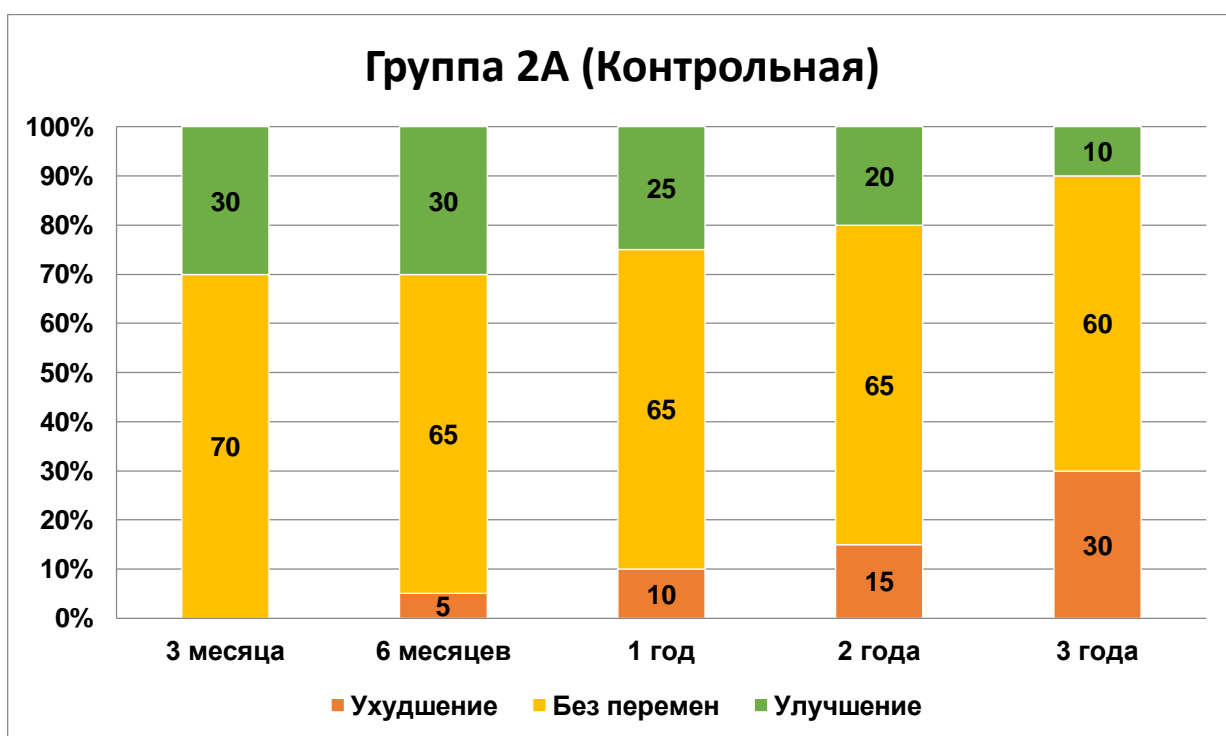
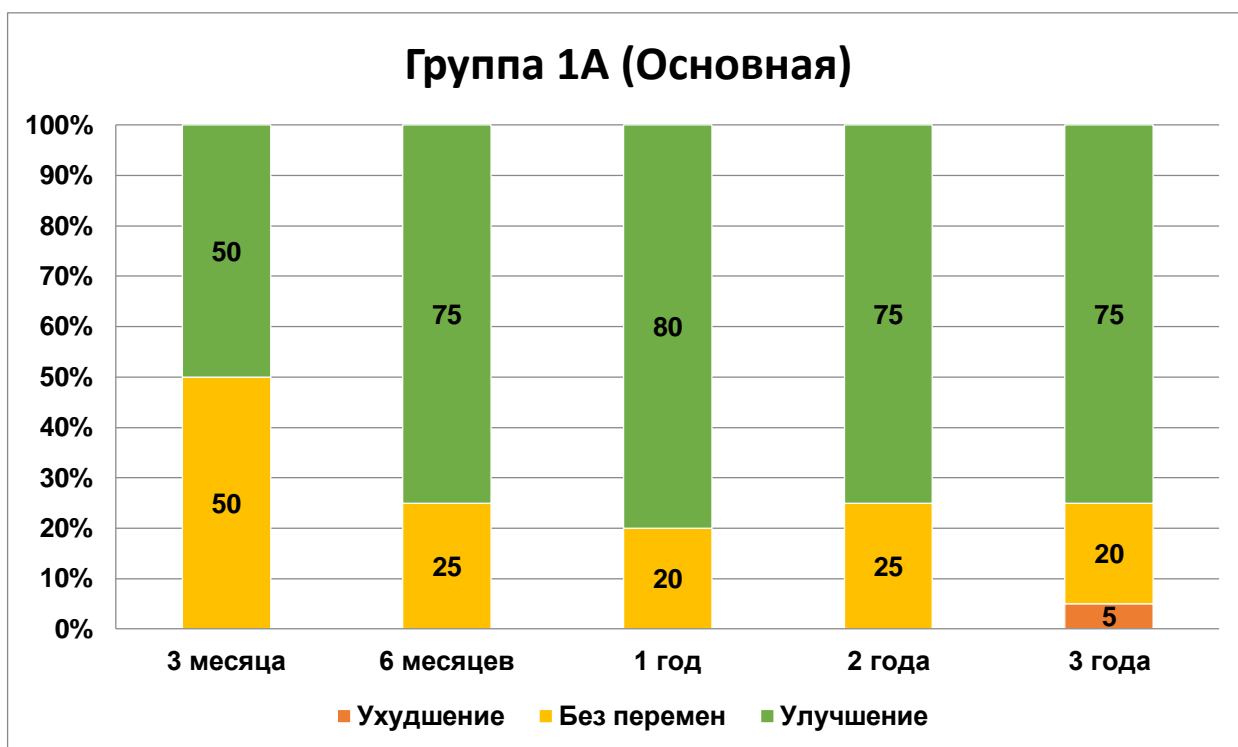


Рис. №7 Оценка изменений субъективных показателей у пациентов 1А и 2А (основная и контрольная группы) с исходной III стадией хронической ишемии нижних конечностей

Для оценки клинической эффективности методики комплексного консервативного лечения пациентов с одновременным применением генно-инженерных конструкций и непосредственно только консервативной терапии являлись объективные параметры. Были получены и статистически обработаны такие параметры, как: показания тредмил-теста (дистанция безболевого ходьбы, максимально проходимая дистанция, время восстановления исходных параметров кровотока), данные ультразвукового исследования (линейная скорость кровотока артерий голени, лодыжечно-плечевой индекс), данные перфузии мышц нижних конечностей при проведении метода сцинтиграфии. Общая оценка результатов комплексного консервативного лечения проводилась с помощью оценки показателей качества жизни.

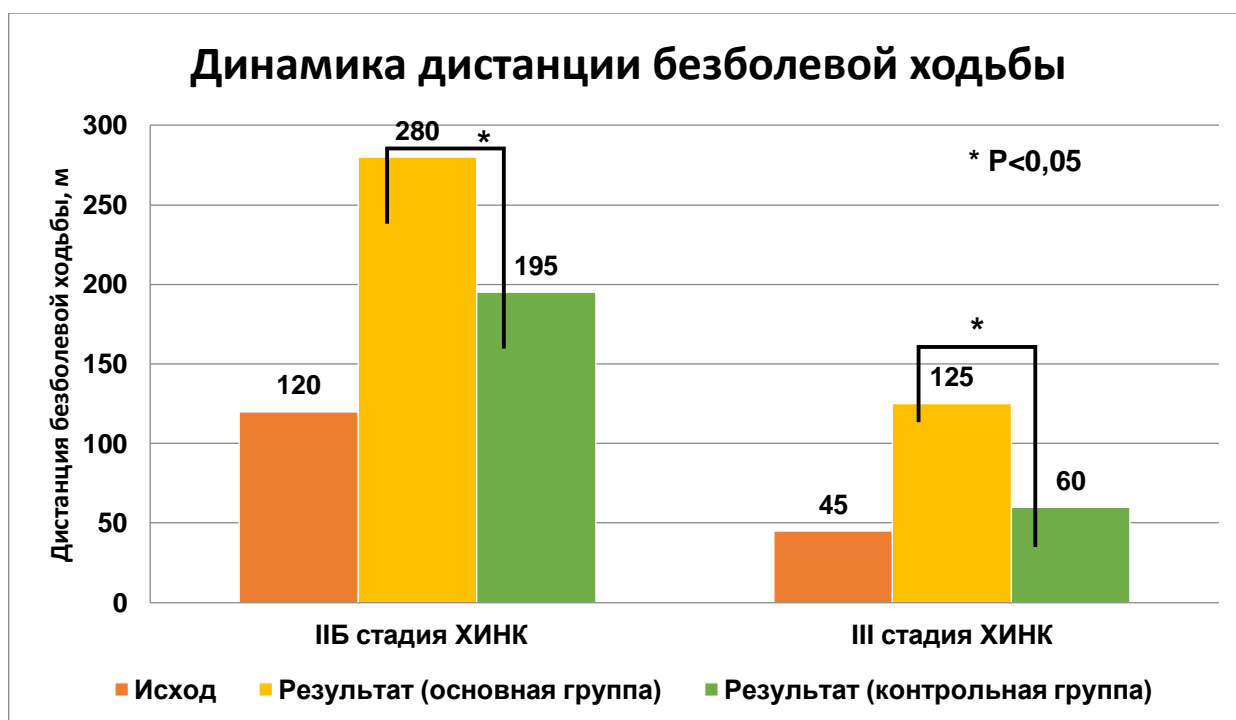
Результаты тредмил-теста с данными дистанции безболевого ходьбы и максимально проходимой дистанции представлены в таблице №14.

Табл. №14 Дистанция безболевого ходьбы (ДББХ) и максимально проходимая дистанция (Д макс.) у пациентов группы комплексного консервативного лечения.

Параметр	3 месяца	6 месяцев	1 год	2 года	3 года
Больные с исходной ПБ стадией ХИНК					
ДББХ, м					
1А группа	160±15	220±20	280±20	275±45	255±40
2А группа	175±20	180±25	195±20	175±20	155±30
P	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05
Д макс, м					
1А группа	300±55	410±50	470±55	480±50	440±50
2А группа	285±45	290±50	310±45	265±45	260±50
P	p>0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05

Больные с исходной III стадией ХИНК					
ДББХ, м					
1А группа	95±35	110±40	125±45	105±55	95±55
2А группа	55±15	60±20	45±15	45±20	45±15
P	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05
Дтах, м					
1А группа	125±20	175±35	180±40	155±20	150±30
2А группа	75±15	105±25	95±30	85±15	80±20
P	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05

На рисунке №8 представлены графики усредненных показателей динамики безболевого ходьбы и максимально проходимой дистанции, которые оценивались в начале лечения и в отдаленном периоде. Для демонстрации эффективности показаны усредненные максимально достигнутые параметры.



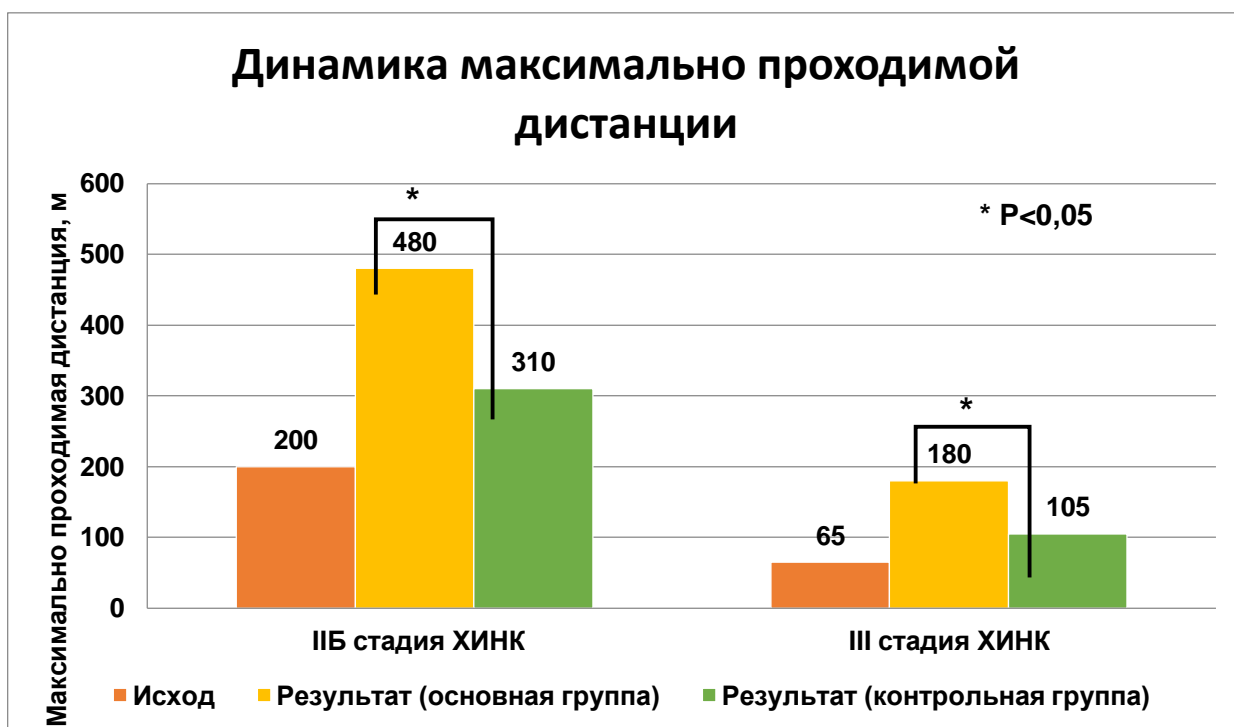


Рис. №8 Тредмил тест в группе комплексного консервативного лечения исходно и в отдаленном периоде (* По t-критерию Стьюдента)

После проведенного анализа полученных показателей оценки дистанции безболевой ходьбы и максимально проходимой дистанции можно отметить, что показатели основной группы, в которой для лечения пациентов применялись генно-инженерные конструкции статистически значимы и достоверно увеличиваются непосредственно от начала лечения и сохраняют эту тенденцию вплоть до отдаленного периода наблюдения. Причем эта положительная динамика характерна как для пациентов с исходной IIБ ст. ХИНК, так и с исходной III ст. Однако все же стоит отметить, что степень прироста дистанции как безболевой ходьбы, так и максимальной проходимой дистанции более выражена у пациентов со IIБ ст. ХИНК в исходе, и, соответственно, более значима статистически. У пациентов с исходной III ст. ХИНК полученные показатели дистанции безболевой ходьбы между основной и контрольной группами находятся на границе минимальной статистической достоверности 0,05, который в целом определяет статистическую значимость различий. Аналогичная картина отмечается и при оценке показателей

максимальной проходимой дистанции у пациентов с исходной III ст. ХИНК, однако статистическая разница и соответственно статистическая достоверность между основной и контрольной группами в данном случае более выражена, что говорит об эффективности метода лечения и возможном улучшении или восстановлении функционального резерва кровообращения, а также развитии устойчивости конечности к ишемии.

Полученные показатели ультразвуковых методов исследований, таких как линейная скорость кровотока и лодыжечно-плечевой индекс представлены в таблице №15. Усредненные результаты этих же методов исследования представлены в виде линейного графика на рисунке №9.

Табл. №15 Полученные показатели линейной скорости кровотока и лодыжечно-плечевого индекса у пациентов группы комплексного консервативного метода лечения

Параметр	3 месяца	6 месяцев	1 год	2 года	3 года
Больные с исходной IIБ стадией ХИНК					
ЛСК, см/с					
1А группа	24±4	27±5	31±6	31±6	30±5
2А группа	23±5	24±4	24±5	23±4	22±4
P	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05
ЛПИ					
1А группа	0,63±0,12	0,64±0,10	0,69±0,11	0,68±0,10	0,65±0,08
2А группа	0,59±0,09	0,61±0,11	0,64±0,09	0,62±0,08	0,59±0,08
P	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05

Больные с исходной III стадией ХИНК					
ЛСК, см/с					
1А группа	19±4	22±5	22±5	20±5	20±4
2А группа	15±4	19±4	18±4	16±4	15±5
P	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
ЛПИ					
1А группа	0,40±0,08	0,48±0,11	0,49±0,12	0,47±0,09	0,46±0,07
2А группа	0,41±0,09	0,42±0,10	0,43±0,10	0,42±0,08	0,40±0,08
P	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05

Исходя из полученных данных можно сказать, что полученный прирост линейной скорости кровотока у пациентов в группе с исходной IIБ ст. ХИНК статистически значим и достоверен, особенно в отдаленном периоде наблюдения. В тоже время показатель лодыжечно-плечевого индекса изменился не столь существенно и не достиг порога статистической достоверности, но по абсолютным показателям полученные цифры в основной группе были выше чем в контрольной. Все это в совокупности может говорить об уменьшении периферического сопротивления микроциркуляторного русла у пациентов основной группы за счет развития новой и развитой капиллярной сети.

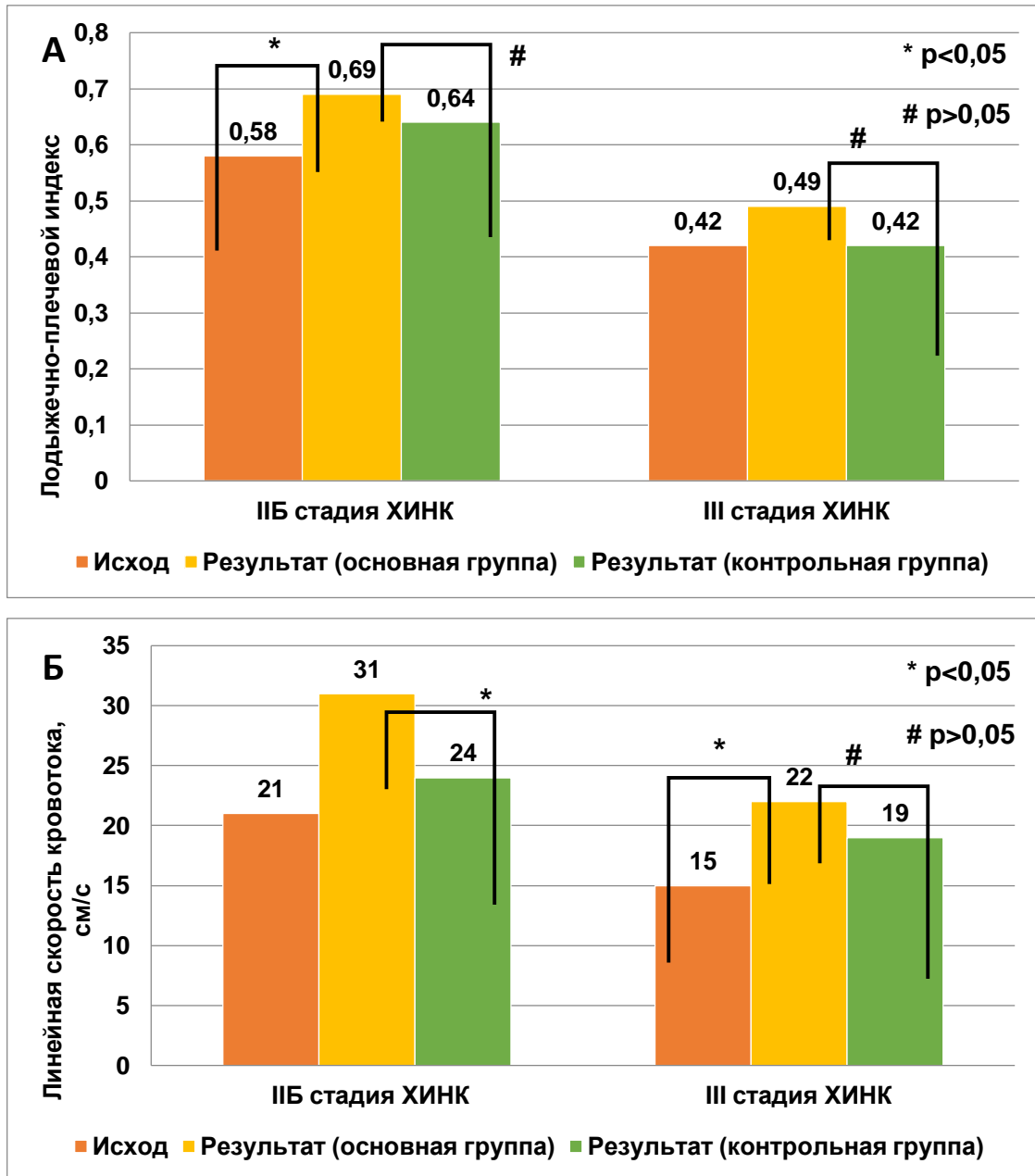


Рис. №9 Лодыжечно-плечевой индекс (А) и линейная скорость кровотока (Б) у пациентов группы комплексного консервативного лечения. (*, # По t-критерию Стьюдента и U-критерию Манна-Уитни)

У пациентов с исходной III ст. ХИНК данные показатели меняются после лечения в меньшей степени. Статистически достоверное увеличение показателей в основной группе по сравнению с контрольной как линейной скорости кровотока, так и лодыжечно-плечевого индекса получено не было. Статистическая разница была достигнута только по показателю линейной скорости кровотока между исходным состоянием и полученными данными

после лечения в основной группе. Однако, по абсолютным значениям полученные цифры линейной скорости кровотока и лодыжечно-плечевого индекса выше в основной группе по сравнению с контрольной на всех сроках наблюдения.

Полученные результаты прироста мышечной перфузии и уменьшения времени восстановления исходных параметров кровотока демонстрируют схожие показатели с другими инструментальными методами исследования. Генно-инженерные конструкции совместно с комплексной консервативной терапией очевидно и статистически достоверно увеличивают прирост мышечной перфузии по данным проведенных исследований сцинтиграфии мышц нижних конечностей.

Также стоит отметить, что время восстановления исходных параметров кровотока после нагрузки у пациентов из основной группы статистически значимо и достоверно по отношению к показателям у пациентов контрольной группы. Соответственно, можно сделать вывод, что за счет активированного ангиогенеза микроциркуляторное русло более развито, обеспечивает лучшую компенсацию и создает функциональный резерв среди пациентов, получавших лечение с применением генно-инженерных конструкций.

Статистическая разница и достоверность достигнута по обоим параметрам между полученными данными пациентов основной и контрольной групп. Это говорит о том, что несмотря на то, что современная консервативная терапия пациентов с хронической ишемией показывает определенные положительные результаты, комплексное применение генно-инженерных конструкций существенно улучшает результаты лечения таких пациентов.

В тоже время следует учитывать, что полученные результаты в основной группе пациентов с исходной IIБ стадией ХИНК превосходят результаты основной группы с исходной III стадией.

Однако, при отдельном анализе полученных показателей прироста мышечной перфузии можно увидеть следующее – абсолютный процентный

прирост значительно выше у пациентов основной группы с исходной IIБ стадией, по сравнению с показателями пациентов с исходной III стадией ХИНК. Но разница в результатах лечения между основной и контрольной группами более выражена у пациентов с исходной III стадией хронической ишемии. Вероятнее всего это говорит о том, что классическая современная консервативная терапия сама по себе может улучшать перфузию тканей, но только в тех случаях, когда у организма еще остаются собственные резервы. В случае же их отсутствия (исходная III стадия хронической ишемии), только применение генно-инженерных конструкций для стимуляции ангиогенеза может статистически достоверно улучшить перфузию тканей, находящихся в выраженной ишемии и, соответственно, привести к клинически значимому улучшению состояния.

Полученные показатели прироста мышечной перфузии и показатели времени восстановления параметров кровотока представлены в таблице №16. Усредненные результаты этих же методов исследования представлены в виде линейного графика на рисунке №10.

Табл. №16 Прирост мышечной перфузии и показатели времени восстановления параметров кровотока у пациентов группы комплексного консервативного лечения

Параметр	3 мес.	6 мес.	1 год	2 года	3 года
Исходная IIБ ст. ХИНК					
Время восстановления исходных параметров кровотока, мин					
Группа 1Б	10±4	8±3	7±2	8±3	9±2
Группа 2Б	16±4	14±4	13±3	13±4	15±3
P	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05
Прирост мышечной перфузии от исходного, %					
Группа 1Б		180%		220%	
Группа 2Б		75%		80%	
P		p<0,05		p<0,05	
Исходная III ст. ХИНК					
Время восстановления исходных параметров кровотока, мин					
Группа 1Б	19±4	15±3	14±3	14±3	16±4
Группа 2Б	20±5	19±4	18±4	19±4	21±4
P	p>0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05
Прирост мышечной перфузии от исходного, %					
Группа 1Б		110%		130%	
Группа 2Б		25%		30%	
P		p<0,05		p<0,05	

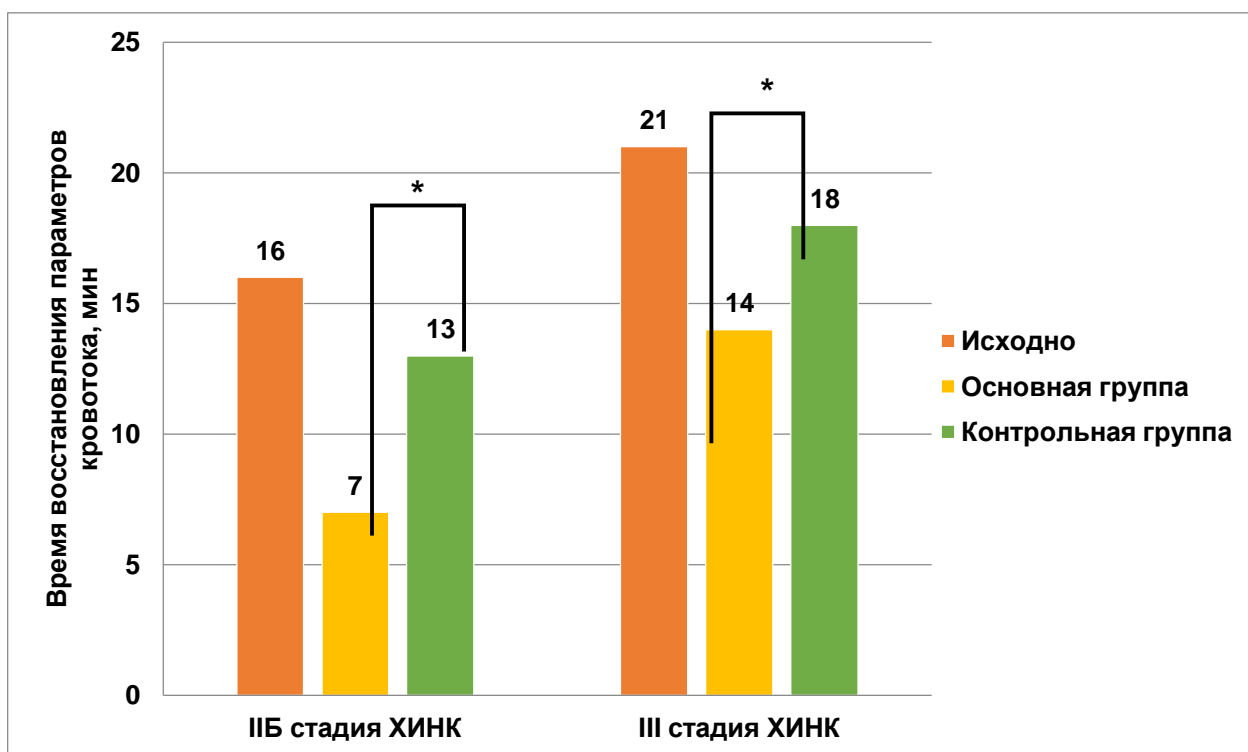


Рис. №10 Время восстановления параметров кровотока в группе комплексного консервативного лечения. (* По t-критерию Стьюдента и U-критерию Манна-Уитни)

Для оценки субъективного восприятия пациентами результатов своего лечения нами была проведена оценка качества жизни. Нами выбирались максимально достигнутые показатели различных шкал оценки за все время наблюдения пациентов. Оцениваемые параметры были такие, как ФФ- физическое функционирование, РФФ – ролевое физическое функционирование, Б – интенсивность болей, ОЗ – общее состояние здоровья, ЖА – жизненная активность, СФ – социальное функционирование, РЭФ – ролевое эмоциональное функционирование, ПЗ – психическое здоровье. Полученные результаты представлены на рисунках №11 и №12.

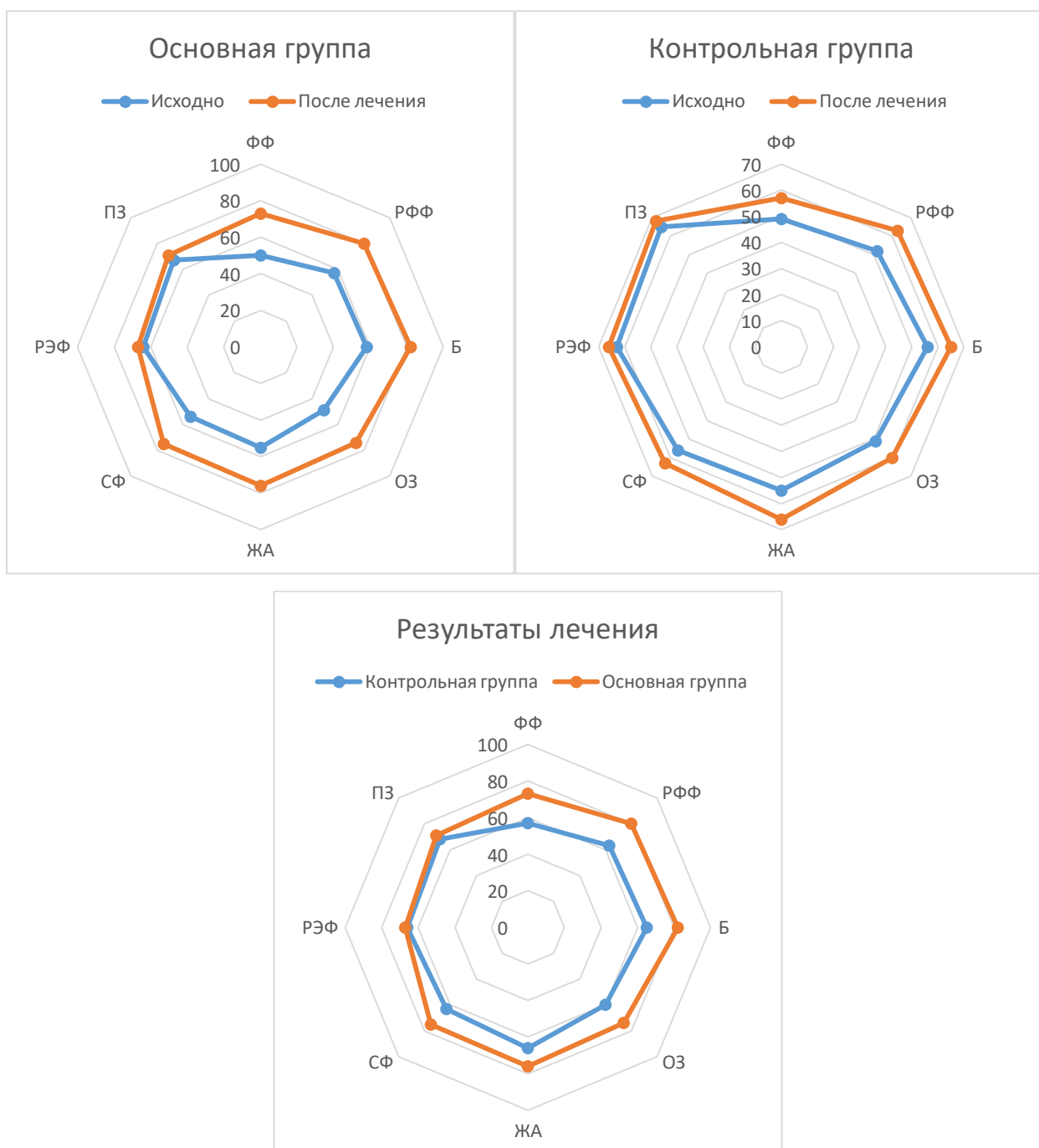


Рис. №11 Пациенты с исходной ПБ ст. ХИНК. Динамика показателей качества жизни в группе комплексного консервативного лечения (критерий χ^2 Пирсона, точный критерий Фишера, ранговая корреляция Спирмена)

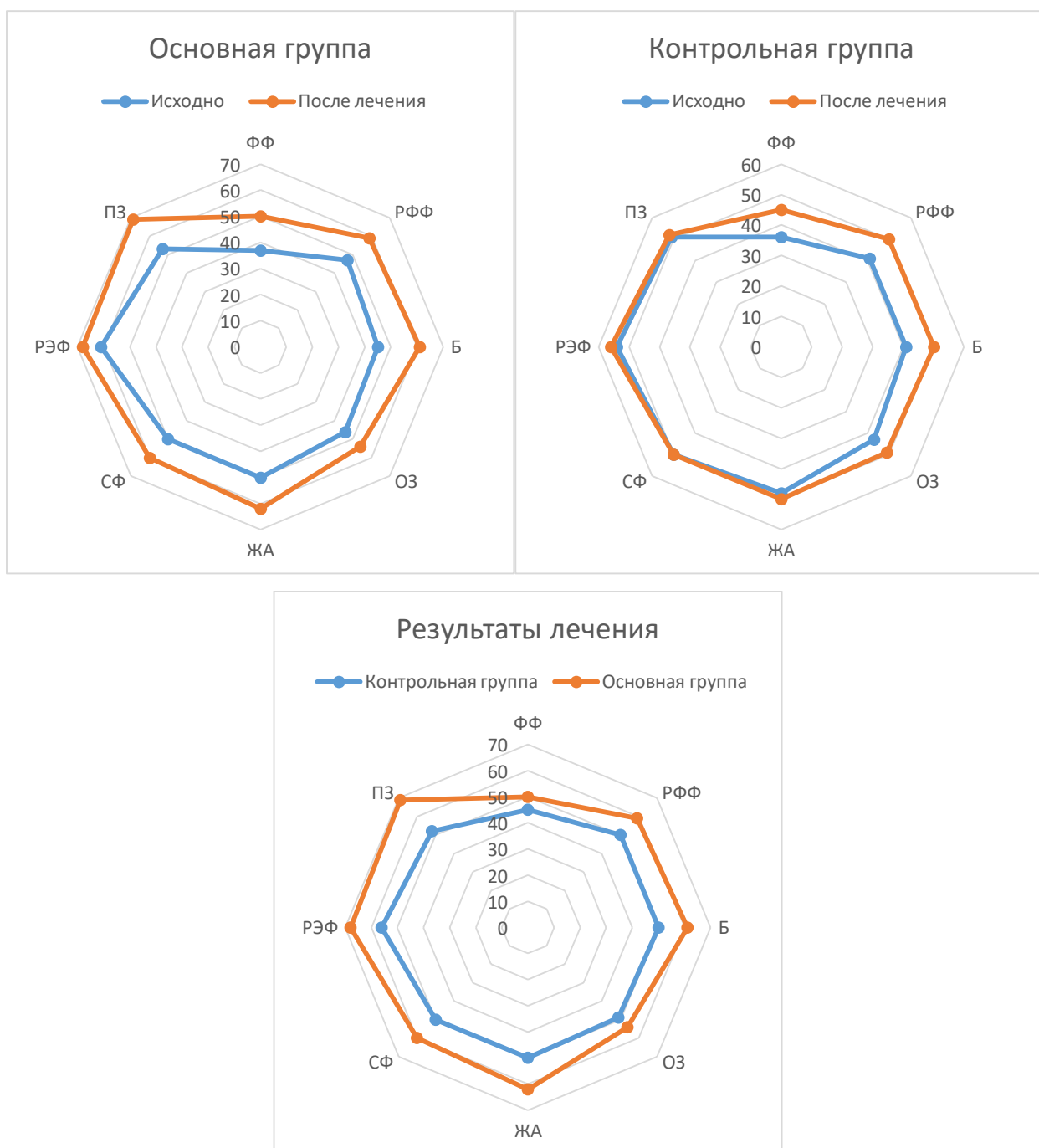


Рис.№12 Пациенты с исходной III ст. ХИНК. Динамика показателей качества жизни в группе комплексного консервативного лечения (критерий χ^2 Пирсона, точный критерий Фишера, ранговая корреляция Спирмена)

По полученным данным сразу можно сказать, что исходно уровень качества жизни снижен у всех пациентов с любой степенью ишемии за счет и физического, и психического компонентов.

Логично, что среди пациентов с исходной III ст. ХИНК уровень качества жизни ниже по сравнению с пациентами с IIБ ст. в основном за счет физического компонента, а именно интенсивность болей (шкала «Б»).

После проведенного лечения пациентов с исходной IIБ ст. ХИНК отмечается улучшение показателей качества жизни по всем шкалам, причем как в основной, так и в контрольной группе. Прирост наблюдается как за счет физического, так и за счет психологического компонента здоровья.

Однако стоит отметить, что сравнивая результаты оценки качества жизни пациентов основной и контрольной групп с исходной IIБ ст. ХИНК, параметры физического компонента определенно лучше у пациентов из основной группы, нежели из контрольной. В психологическом компоненте значимой разницы отмечено не было. Все это говорит о том, что пациенты обеих групп с исходной IIБ ст. ХИНК в равной степени удовлетворены достигнутыми результатами своего лечения. В тоже время разница полученных показателей в физическом компоненте оценки качества жизни (болевой синдром, физическая активность, общее состояние и т.д.) между основной и контрольной группой статистически значима и достоверна, а результаты полученные у пациентов основной группы значительно превосходят результаты контрольной.

В группе пациентов с исходной III ст. ХИНК полученные данные показателей качества жизни отличаются от таковых у пациентов с IIБ ст. ХИНК. У пациентов основной группы лечение улучшает показатели качества жизни за счет всех компонентов, причем за счет физического в большей степени. Пациенты контрольной группы не отметили изменения качества жизни как в физическом, так и в психологическом плане.

Подводя итог можно сказать, что пациенты контрольной группы продолжают считать и чувствовать себя больными людьми после проведенного лечения, в то время как пациенты основной имеют значимый прирост всех показателей качества жизни.

Эффективность и возможности комплексного консервативного лечения пациентов с ХИНК с применением генно-инженерных конструкций VEGF-165 представлены на клиническом примере №1.

Клинический пример №1

Пациент К. 67 лет. Диагноз: Атеросклероз артерий нижних конечностей. Стеноз общих подвздошных, бедренных, глубоких и поверхностных бедренных артерий. Стентирование правой поверхностной бедренной артерии в 2013 году. Сахарный диабет 2 типа, инсулиннезависимый, субкомпенсированный.



Анамнез: болен с 2013 года, когда появились боли в икроножных мышцах правой нижней конечности при прохождении дистанции в 200-300

метров. Заболевание прогрессировало, в апреле 2014 года дистанция безболевого ходьбы сократилась до 50-60 метров. В мае 2014 года произведено стентирование правой поверхностной бедренной артерии. Был достигнут положительный результат – дистанция безболевого ходьбы возросла до 400 метров. Однако, в мае 2015 года вновь отметил ухудшение – максимально проходимая дистанция сократилась до 50 метров. Пациент обратился в ФГБНУ РНЦХ им. Акад. Б.В. Петровского, был госпитализирован для дальнейшего обследования и лечения.

Данные обследования:

Цветное дуплексное сканирование артерий нижних конечностей: стеноз обеих общих и наружных подвздошных артерий до 45%, стеноз 50% левой общей бедренной артерии; 55% правой общей бедренной артерии; стеноз 50% глубокой артерии бедра справа, слева 45%; стеноз 80% правой поверхностной бедренной артерии, в просвете визуализируется стент; стеноз 65% левой поверхностной бедренной артерии; стеноз 65% обеих подколенных артерий; окклюзия артерий голени, кровотоки коллатерального типа. Индексы ЛПИ: 0,35 справа; 0,3 слева.

Проведенная МСКТ-ангиография артерий нижних конечностей с внутривенным контрастированием подтвердила данные цветного дуплексного сканирования.

Был проведен тредмил-тест, скорость дорожки составила 2 км/ч. Дистанция безболевого ходьбы составила 45 метров. Максимально проходимая дистанция – 60 метров.

06 июня 2015 года в отделении сосудистой хирургии ФГБНУ РНЦХ им. Акад. Б.В. Петровского было принято решение применить препарат с генно-инженерными конструкциями VEGF165 в составе комплексного консервативного лечения. Было произведено внутримышечное введение 5,0 мл препарата в икроножную и камбаловидную мышцы левой нижней конечности по принятой методике согласно ангиосомальной теории. Процедуру перенес хорошо, аллергических и системных реакций не отмечалось. Повторное введение препарата было произведено 20 июня 2015 года в том же объеме.

21 августа 2015 года был проведен контрольный тредмил тест. Дистанция безболевого ходьбы на скорости 2,0 км/ч составила 85 метров. Максимально проходимая дистанция 95 метров.

При выполнении очередного тредмил теста через 6 месяцев после введения препарата дистанция безболевого ходьбы составила 220 метров, а боли возникали в первую очередь в противоположной конечности.

15 и 30 ноября 2015 произведено внутримышечное введение генно-инженерной конструкции VEGF 165 в икроножную и камбаловидную мышцу правой нижней конечности в том же объеме и по той же методике. Аналогично

первому применению никаких аллергических и системных реакций отмечено не было.

Спустя один год наблюдения был проведен контрольный осмотр пациента и выполнен тредмил тест. Дистанция безболевой ходьбы составила 740 метров, максимально проходимая дистанция – 800 метров. Лодыжечно-плечевой индекс на контрольном цветном дуплексном сканировании увеличился до 0,5 справа и 0,45 слева.

Глава 4.

Результаты применения генно-инженерных конструкций стимуляции ангиогенеза VEGF 165 в комплексном хирургическом лечении.

Результаты комплексного хирургического лечения пациентов с применением генно-инженерных конструкций изучены у всех (100%) пациентов основной и контрольной групп в течение первого года наблюдения. Данные о дальнейшем количестве изученных результатов в соответствии со сроками представлены в таблице №17.

Табл. №17 Пациенты группы комплексного хирургического лечения, которым проводилась оценка результатов лечения

Количество пациентов	Срок наблюдения
60 (100%)	Исходно
60 (100%)	3 месяца
60 (100%)	6 месяцев
60 (100%)	1 год
56 (93,3%)	2 года
48 (80,0%)	3 года
36 (60,0%)	5 лет и более

Причины, по которым количество наблюдаемых пациентов сокращается со временем аналогичны тем же из предыдущей главы. Поэтому основой для статистического исследования с целью сохранения достоверности и значимости были взяты результаты за 3 года наблюдения. Случаи интересные для рассмотрения, но выходящие за рамки сроков исследования описаны отдельно.

Для оценки клинической эффективности методики комплексного хирургического лечения пациентов с одновременным применением генно-инженерных конструкций и непосредственно только хирургического метода лечения являлись объективные параметры. Были получены и статистически обработаны такие параметры, как: показания тредмил-теста (дистанция безболевой ходьбы, максимально проходимая дистанция, время восстановления исходных параметров кровотока), данные ультразвукового исследования (линейная скорость кровотока артерий голени, лодыжечно-плечевой индекс), данные перфузии мышц нижних конечностей при проведении метода сцинтиграфии. Общая оценка результатов комплексного хирургического лечения проводилась с помощью критериев по шкале Rutherford и по оценке показателей качества жизни.

Результаты тредмил-теста с данными дистанции безболевой ходьбы и максимально проходимой дистанции представлены в таблице №18.

Табл.№18 Дистанция безболевой ходьбы (ДББХ) и максимально проходимая дистанция (Д макс.) у пациентов группы комплексного хирургического лечения

Параметр	Исходно	3 мес.	6 мес.	1 год	2 года	3 года
Исходная ПБ ст. ХИНК						
ДББХ, м						
Группа 1Б	120±30	430±70	480±95	530±100	550±80	540±85
Группа 2Б	130±25	390±85	400±90	410±110	400±100	390±90
P	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Д макс., м						
Группа 1Б	265±35	710±75	830±80	1200±105	1150±95	1100±95
Группа 2Б	260±25	620±60	640±65	705±90	650±85	640±15
P	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Параметр	Исходно	3 мес.	6 мес.	1 год	2 года	3 года

Исходная III ст. ХИНК						
ДББХ, м						
Группа 1Б	30±15	305±130	480±100	510±90	500±95	480±80
Группа 2Б	25±20	310±110	350±105	360±85	350±90	350±95
P	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Д макс., м						
Группа 1Б	60±20	420±70	800±140	830±160	810±100	790±120
Группа 2Б	65±15	400±80	550±170	590±140	570±120	560±130
P	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05

На рисунке №13 представлена диаграмма на которой показана интегральная оценка параметров, указанных выше. Показаны исходные данные до лечения, а также усредненные максимально достигнутые результаты, которые были получены после проведенного лечения пациентов из основной и контрольной групп.

После анализа и обработки полученных данных можно отметить, что показатели ДББХ и максимально проходимой дистанции значительно лучше и статистически значимо и достоверно выше у пациентов из основной группы по сравнению с пациентами из контрольной. Данный факт справедлив как для показателей у пациентов с исходной IIБ ст., так и для III ст. ХИНК. Также обращает на себя внимание тот факт, что статистически достоверная разница показателей у пациентов из основной и контрольной групп с исходной IIБ ст. ХИНК прослеживается только спустя 1 год наблюдений, в то время как среди пациентов с исходной III ст. ХИНК уже спустя 3 месяца наблюдения. Статистически значимые и достоверные различия сохраняются во всех случаях вплоть до 3 года наблюдения.

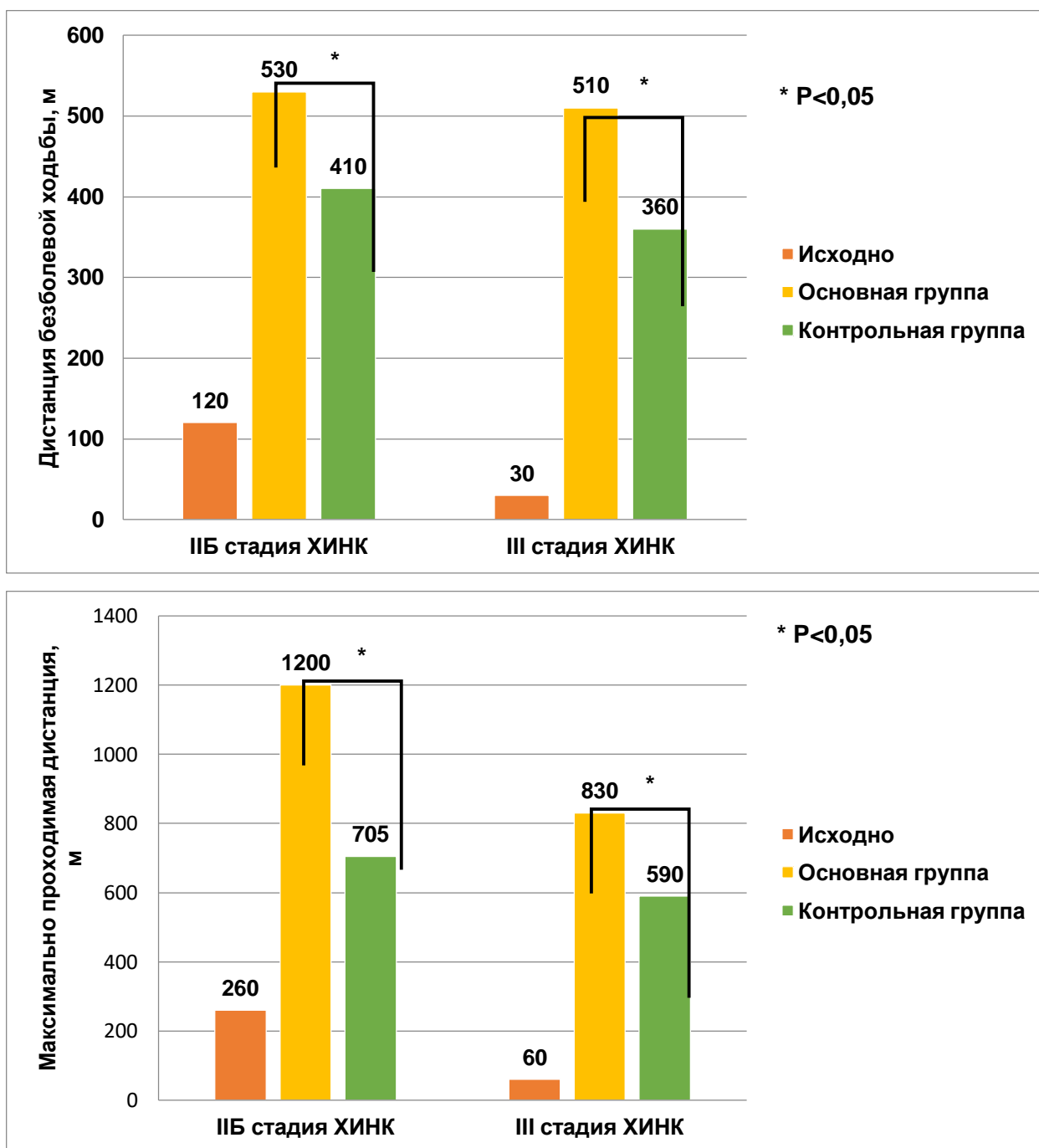


Рис. №13 Тредмил тест в группе комплексного хирургического лечения исходно и в отдаленном периоде (* По t-критерию Стьюдента)

Показатели линейной скорости кровотока и лодыжечно-плечевого индекса за время наблюдения представлены в таблице №19.

Диаграмма с интегральной оценкой показателей ЛСК и ЛПИ представлена на рисунке №14.

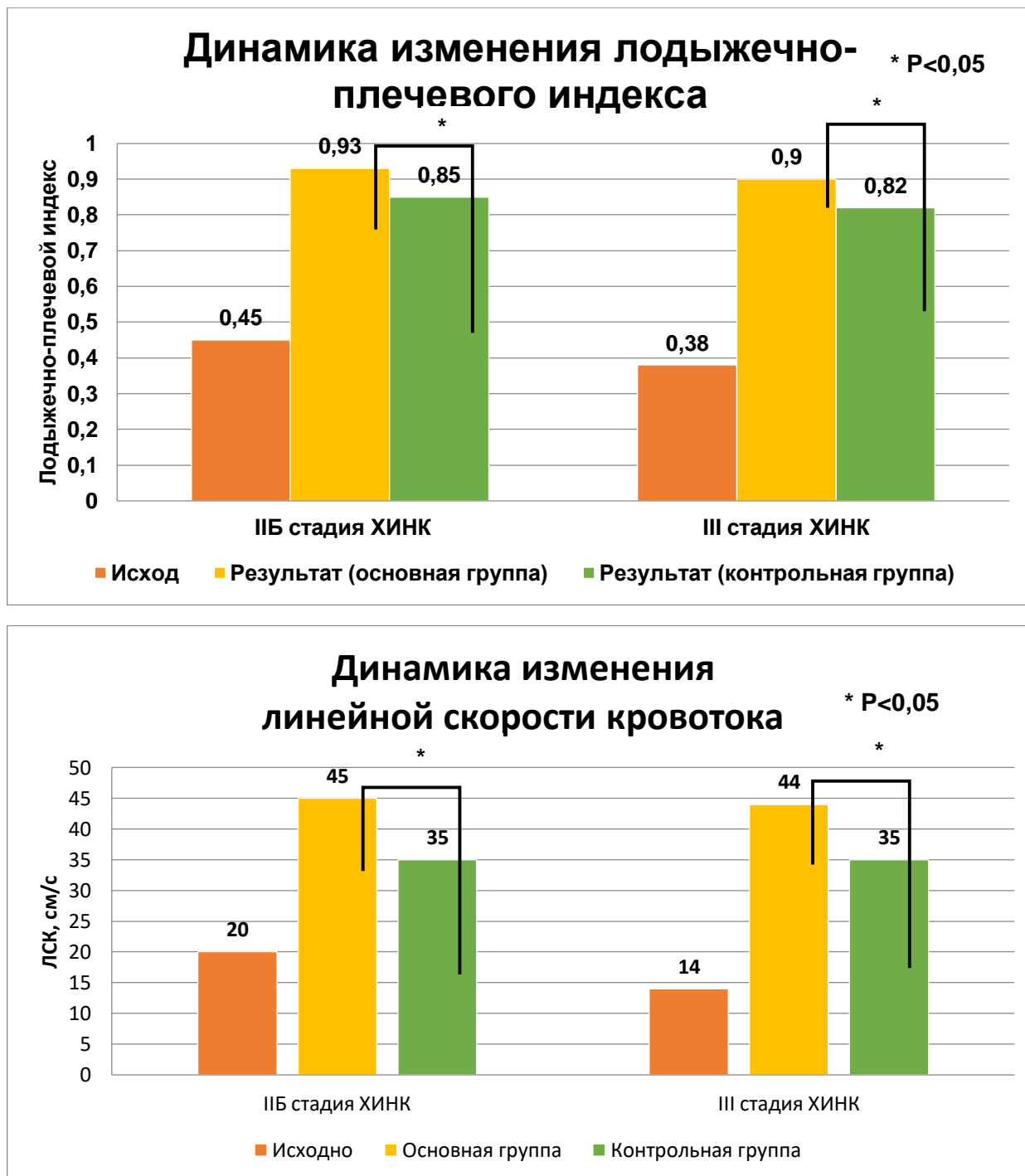


Рис. №14 Прирост лодыжечно-плечевого индекса и динамика линейной скорости кровотока у пациентов группы комплексного хирургического лечения (* По t-критерию Стьюдента и U-критерию Манна-Уитни)

Проанализировав и обработав полученные данные, мы пришли к следующему заключению. Если сравнивать абсолютные показатели ЛПИ на

всех сроках наблюдения как среди пациентов с исходной ПБ ст. ХИНК, так и с Шст., то статистически достоверной разницы между основной и контрольной группами получено не было. В то время как если рассмотреть относительные показатели, а именно сравнить степень прироста ЛПИ между основной и контрольной группами с момента обследования перед операцией, до 3-х лет дальнейшего наблюдения, то в этом случае уже отмечается статистически значимая и достоверная разница. Причем для пациентов с исходной Шст. ХИНК эта разница больше чем для пациентов с исходной ПБ ст.

Относительно показателей линейной скорости кровотока, то статистически достоверная разница между основной и контрольной группами появляется на 6-й месяц наблюдения и сохраняется на протяжении всего срока контроля пациента. Значимых различий между пациентами с разными степенями исходной ХИНК выявлено не было.

Так же были проанализированы показатели мышечной перфузии на основании проведенных радиоизотопных скинтиграфий, повышение этих показателей после лечения, а также время восстановления исходных параметров кровотока. Результаты изложены в таблице №20 и на рисунке №15.

При анализе этих показателей наблюдается похожая ситуация, как и с другими методами обследования. Статистически достоверные и значимые различия между основной и контрольной группами наблюдаются и при скинтиграфии мышц и относительно времени восстановления параметров кровотока. Стоит отметить, что достоверные изменения появляются раньше у пациентов с исходной Шст. ХИНК, начиная с 3-го месяца наблюдения., В то время как у пациентов с исходной ПБ ст. ХИНК достоверные изменения показателей начинаются с 6-го месяца наблюдения. К концу первого года различия между основной и контрольной группой достигают максимума и сохраняются примерно на этом уровне в течение 3-х лет наблюдений.

Табл. №20 Прирост мышечной перфузии и показатели времени восстановления параметров кровотока у пациентов группы комплексного хирургического лечения

Параметр	Исходно	3 мес.	6 мес.	1 год	2 года	3 года
Исходная IIБ ст. ХИНК						
Время восстановления исходных параметров кровотока, мин						
Группа 1Б	15±3	11±4	5±3	5±3	5±3	6±4
Группа 2Б	16±4	10±3	9±4	8±4	8±4	10±3
P	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Прирост мышечной перфузии от исходного, %						
Группа 1Б	100%		450%	470%		
Группа 2Б	100%		330%	300%		
P			<0,05	<0,05		
Исходная III ст. ХИНК						
Время восстановления исходных параметров кровотока, мин						
Группа 1Б	20±6	9±3	7±3	6±3	7±3	8±3
Группа 2Б	19±6	13±3	13±5	13±4	14±5	14±3
P	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Прирост мышечной перфузии от исходного, %						
Группа 1Б	100%		490%	520%		
Группа 2Б	100%		350%	320%		
P			<0,05	<0,05		

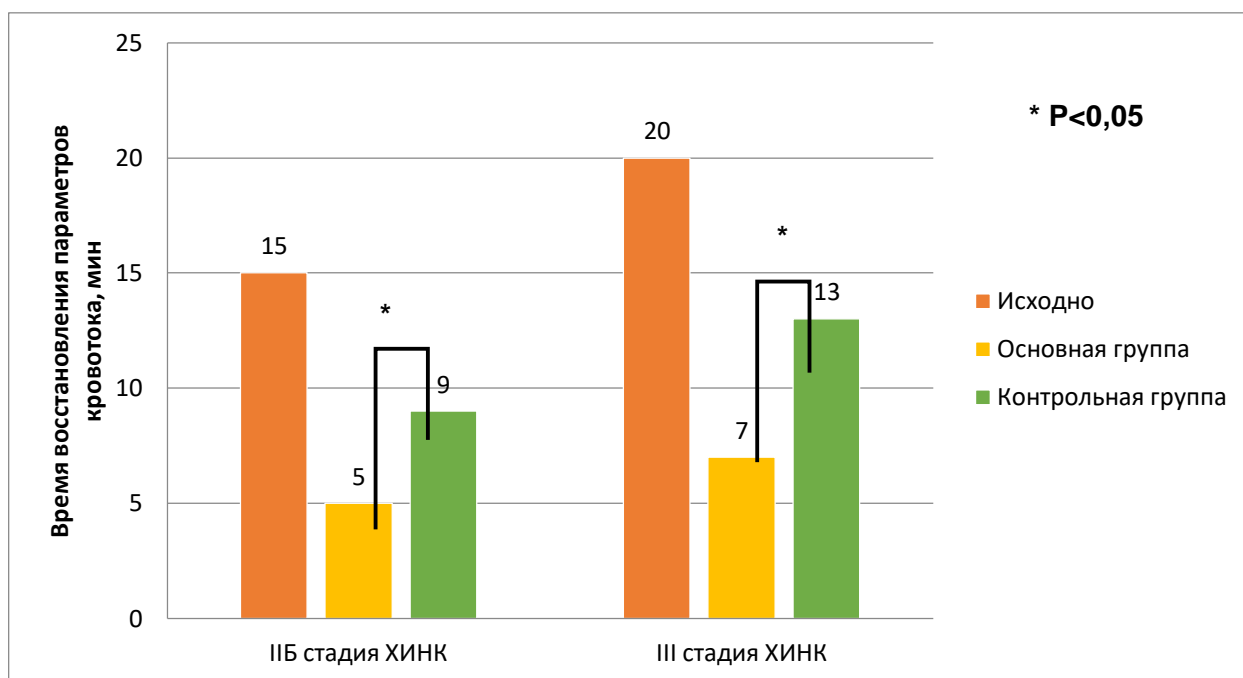


Рис. №15 Время восстановления параметров кровотока в группе комплексного хирургического лечения (* По t-критерию Стьюдента и U-критерию Манна-Уитни)

Для более точной оценки эффективности комплексного хирургического лечения был проведен анализ полученных результатов в соответствии со стандартами оценки хирургического лечения по шкале Rutherford. Данные результаты представлены на рисунке №16.

Большая часть пролеченных пациентов как из основной, так и из контрольной групп имели баллы результата лечения +3, +2. Это говорит об удовлетворительных результатах лечения в целом. При детальном сравнении полученных данных между основной и контрольной группами обращают на себя внимание различия, говорящие о более лучших результатах в основной группе. Например, пациенты, имевшие балл результата лечения +3 в основном были из основной группы. Контрольная группа в основном состояла из пациентов, у которых балл результата лечения был +2. Основная группа представлена положительными баллами (+3, +2, +1), за редким исключением в виде 0 баллов. В контрольной группе встречались отрицательные результаты - (-1) балл и большее количество пациентов с 0 баллов. В итоге медиана

результатов представляет собой +2,5 балла в основной и +1,5 балла в контрольной группе.

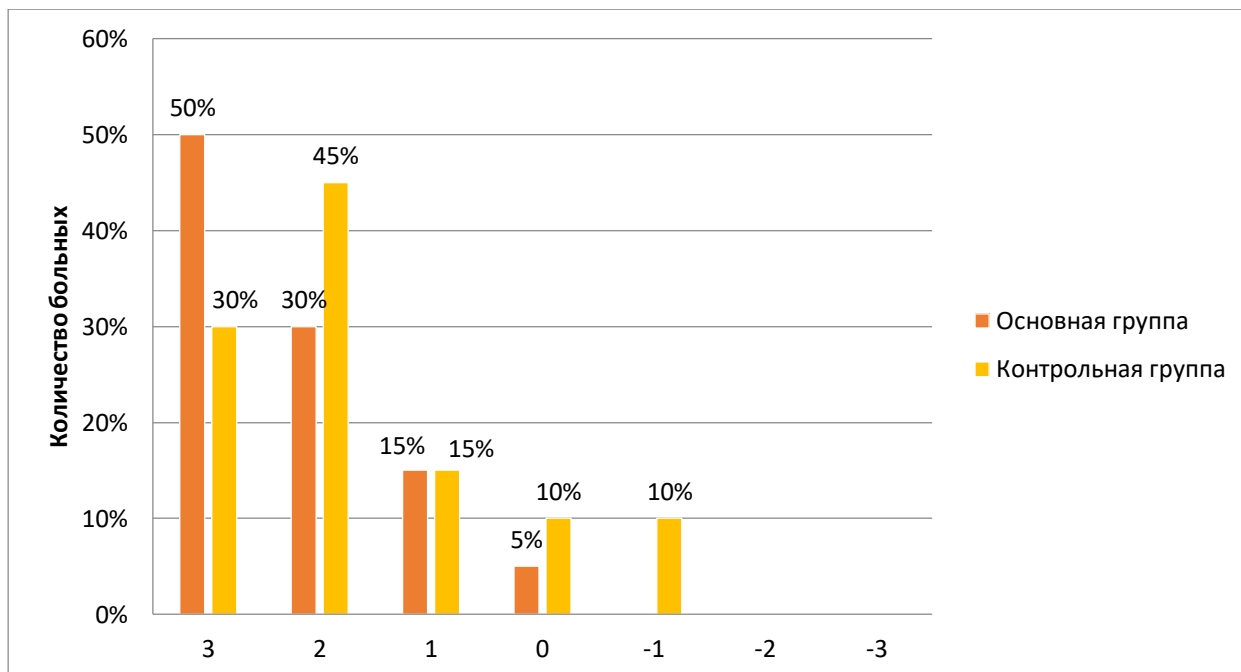


Рис. №16 Шкала Rutherford. Оценка результатов хирургического лечения в отдаленном периоде

В дополнении к вышеизложенным методам оценки эффективности комплексного хирургического лечения нами была проведена оценка качества жизни. Методика оценки была аналогичной, которая проводилась пациентам из группы консервативного лечения. Оцениваемые параметры были такие, как ФФ- физическое функционирование, РФ – ролевое физическое функционирование, Б – интенсивность болей, ОЗ – общее состояние здоровья, ЖА – жизненная активность, СФ – социальное функционирование, РЭФ – ролевое эмоциональное функционирование. Полученные результаты представлены на рисунках №17 и №18.

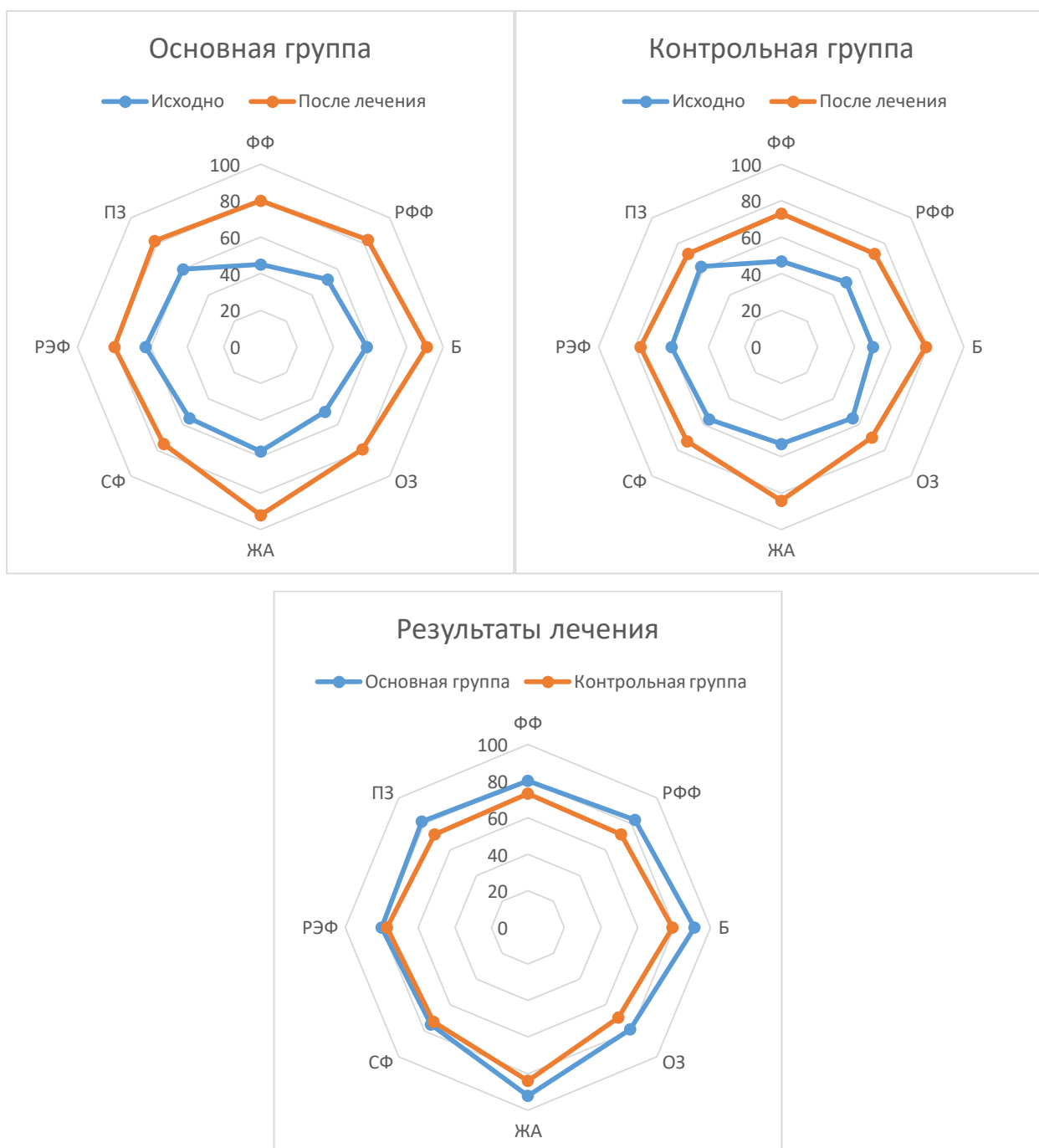


Рис. №17 Пациенты с исходной ПБ ст. ХИНК. Динамика показателей качества жизни в группе комплексного хирургического лечения
(критерий χ^2 Пирсона, точный критерий Фишера, ранговая корреляция Спирмена)

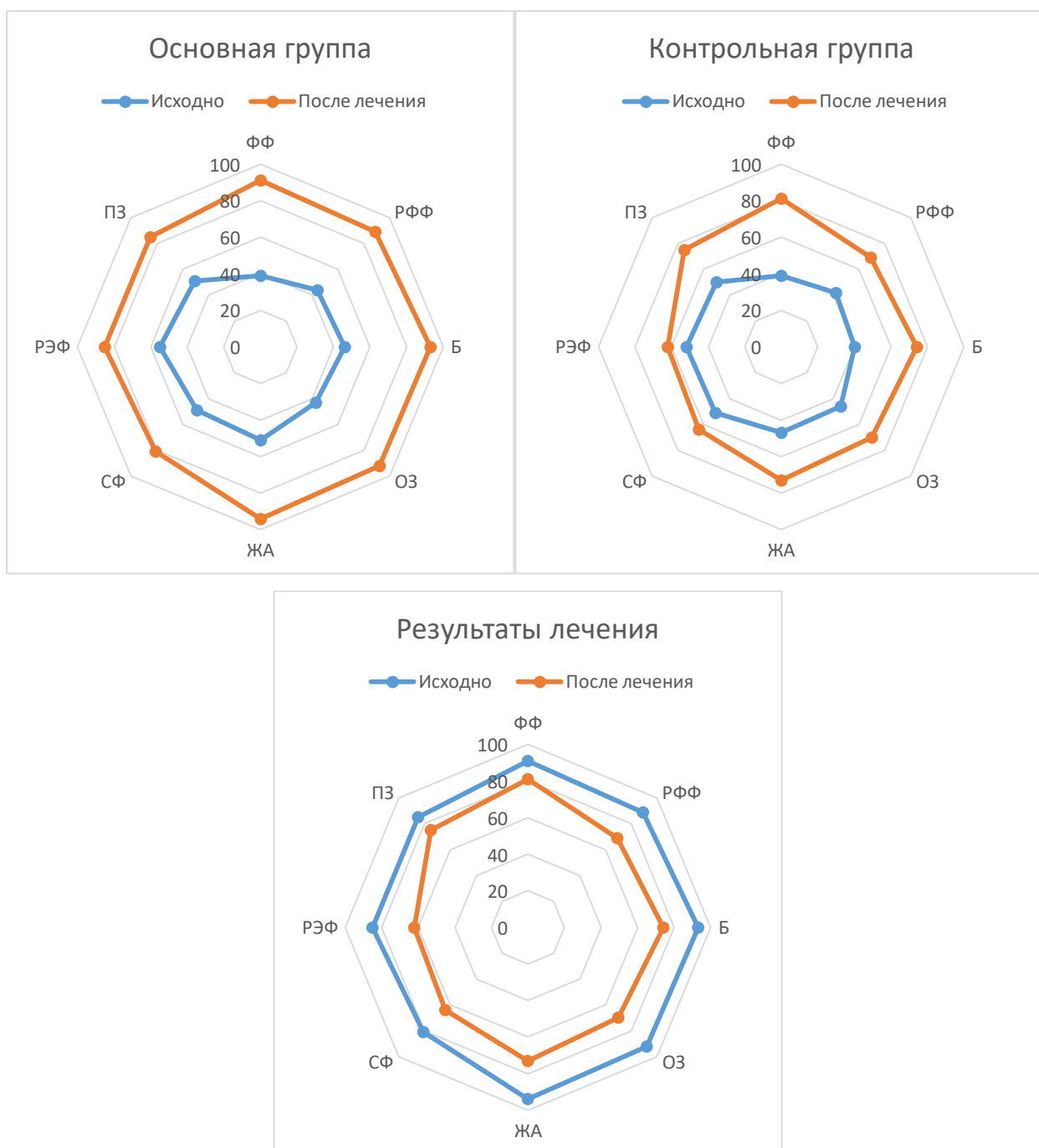


Рис. №18 Пациенты с исходной III ст. ХИНК. Динамика показателей качества жизни в группе комплексного хирургического лечения
(критерий χ^2 Пирсона, точный критерий Фишера, ранговая корреляция Спирмена)

По полученным данным сразу можно сказать, что исходно уровень качества жизни снижен у всех пациентов с любой степенью ишемии за счет и физического, и психического компонентов. Логично, что среди пациентов с

исходной III ст. ХИНК уровень качества жизни ниже по сравнению с пациентами с IIБ ст.

Оценивая уровень качества жизни после проведенного хирургического лечения у пациентов как из основной, так и из контрольной групп отмечается четкое его повышение. Данное улучшение качества жизни клинически значимо и более выражено у пациентов с исходной III ст. ХИНК.

По большинству параметров после проведенного лечения качество жизни статистически значимо и достоверно улучшается у пациентов в основной группе.

Среди пациентов из основной группы с исходной IIБ ст. ХИНК наиболее выраженное улучшение отмечается по шкале физического компонента здоровья. Касаясь психического компонента особой разницы между основной и контрольной группой отмечено не было. Таким образом при равной удовлетворенности от проведенного лечения пациенты основной группы физически себя ощущают лучше, нежели пациенты контрольной.

При оценке показателей качества жизни пациентов с исходной III ст. ХИНК наблюдается более выраженная картина изменения качества жизни. После проведения хирургического вмешательства отмечался гораздо более выраженный прирост качества жизни пациентов по всем шкалам оценки как в основной, так и в контрольной группах по сравнению с пациентами с исходной IIБ ст. ХИНК. В то же время, разница между полученными результатами оценки качества жизни между основной и контрольной группами так же статистически достоверно значима. По всем шкалам оценки качества жизни пациенты основной группы превосходят по результатам пациентов контрольной группы. Учитывая, что качество жизни пациентов улучшилось за счет физического и психического компонентов здоровья, можно сделать вывод, что пациенты из основной группы лучше ощущают себя физически после проведенного комплексного хирургического лечения, а также психологически более удовлетворены результатом лечения.

Эффективность и возможности комплексного хирургического лечения пациентов с ХИНК с применением генно-инженерных конструкций VEGF-165 представлены на клиническом примере №2.

Клинический пример №2

Пациент С., 65 лет поступил в отделение хирургии сосудов ФГБНУ РНЦХ им. Акад. Б.В. Петровского с диагнозом: «Атеросклероз, окклюзия правой поверхностной бедренной артерии. Стентирование правой поверхностной бедренной артерии, тромбоз стента. Стеноз правой глубокой бедренной артерии. Хроническая ишемия нижних конечностей III ст. ИБС. Атеросклеротический кардиосклероз, гипертоническая болезнь 2 ст., 3ст., риск 4.»

Жалобы при поступлении: На боли в икроножных мышцах правой нижней конечности при прохождении дистанции до 40-50 метров, похолодание и онемение правой стопы и голени.

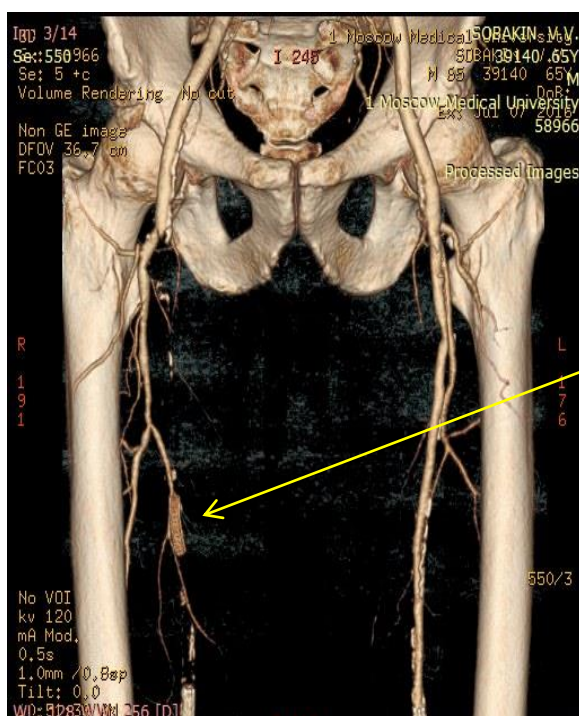
Анамнез: жалобы на перемежающую хромоту беспокоят в течение последних 5 лет, когда впервые ощутил боли при ходьбе на расстояние до 500 метров. В дальнейшей дистанция безболевой ходьбы сокращалась. Проходил курсы консервативной терапии с незначительным кратковременным эффектом. Стентирование правой поверхностной бедренной артерии с положительным эффектом – увеличение ДББХ со 150 до 400 метров, однако спустя 6 месяцев отметил резкое ухудшение состояния – сокращение дистанции безболевой ходьбы до 50 метров. Выявлен тромбоз стента. Окклюзия правой поверхностной бедренной артерии от устья.

При осмотре: правая нижняя конечность бледная, стопа и голень прохладные на ощупь, трофические изменения отсутствуют. Была оценена пульсация магистральных артерий нижних конечностей: справа – определяется на бедренной артерии, дистальнее отсутствует; слева –

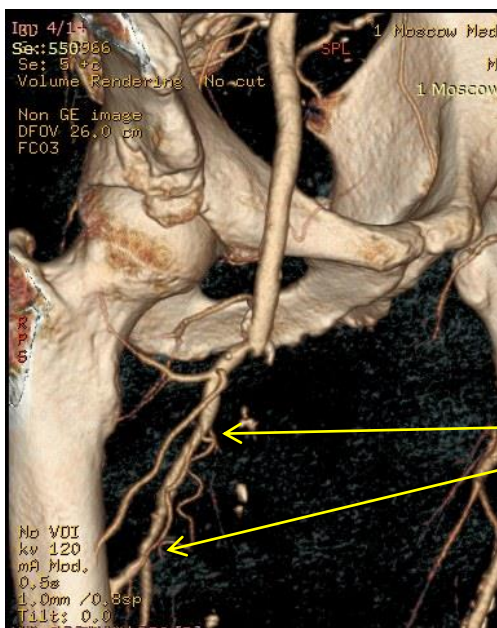
определяется на бедренной и подколенной артериях, на тибиальных ослаблена.

Дуплексное сканирование артерий нижних конечностей (Правая н/к):
 Общая бедренная артерия Vs–120 см/с, кровоток магистральный, стеноз 30%;
 Глубокая артерия бедра Vs– 40 см/с, кровоток магистрально-измененный;
 Поверхностная бедренная артерия – окклюзия от устья на всем протяжении;
 Подколенная артерия, Берцовоперонеальный ствол – коллатеральный кровоток;
 Передняя тибиальная артерия – окклюзирована; Задняя тибиальная артерия – стеноз 50-70%, кровоток коллатеральный, Vs– 10 см/с; ЛПИ – 0,31.

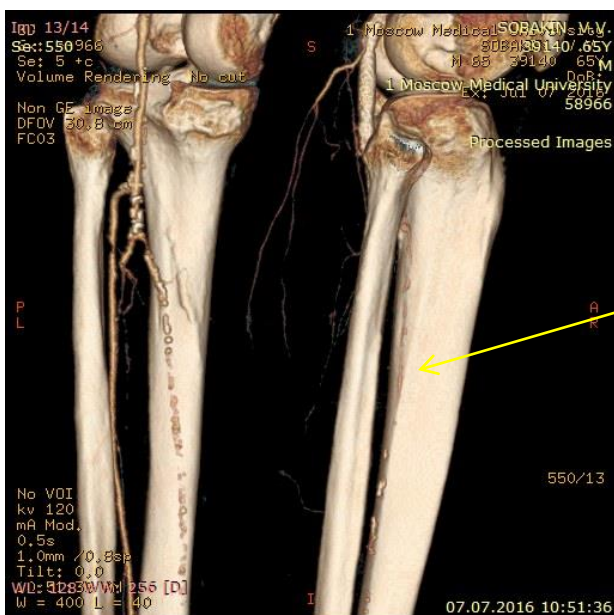
КТ- ангиография артерий нижних конечностей:



**Окклюзия стента правой
поверхностной бедренной
артерии**



Протяженный стеноз глубокой артерии бедра справа



Отсутствие дистального русла

По результатам проведенного тредмил теста: дистанция безболевого ходьбы - 45 метров, максимально проходимая - 90 метров. Время восстановления исходных параметров кровотока после ходьбы – 18 минут.

В связи с отсутствием адекватного дистального русла и наличием окклюзии поверхностной бедренной артерии на всем протяжении выполнить операцию бедренно-подколенного шунтирования не представлялось возможным. В связи с чем было принято решение с целью компенсации

кровотока в нижней конечности выполнить эндартерэктомию из общей и глубокой артерии бедра с пластикой аутоартериальной заплатой.

Послеоперационный период протекал гладко, без особенностей, проводилась стандартная консервативная терапия.

В связи с достаточно высоким баллом состояния путей оттока по классификации Rutherford (1x0 (Глубокая артерия бедра) + 2x3 (Поверхностная бедренная артерия) = 6) было принято решение дополнить хирургическое лечение и применить генно-инженерную конструкцию на основе сосудистого эндотелиального фактора роста VEGF-165.

Первое введение генно-инженерной конструкции в икроножные мышцы правой нижней конечности было проведено на 7-й день после хирургического вмешательства. Отрицательных явлений и побочных реакций отмечено не было. Пациент был выписан на 10-е сутки после операции.

Повторное введение было проведено спустя 14 суток. Отрицательных явлений так же отмечено не было.

На контрольном тредмил тесте через 3 месяца после применения препарата дистанция безболевого ходьбы составила 350 метров, максимально проходимая дистанция – 500 метров. Время восстановления исходных параметров кровотока составило 10 минут.

При осмотре через 6 месяцев наблюдения: дистанция безболевого ходьбы составила 700 метров, максимально проходимая дистанция составила 1200 метров, время восстановления исходных параметров кровотока составило 6 минут. По данным дуплексного сканирования индекс ЛПИ составил 0,54.

Результат комплексного хирургического лечения по классификации Rutherford составил +3 балла и был признан удовлетворительным.

Пациент был повторно осмотрен на 12, 24 и 30 месяц после хирургического вмешательства и было отмечено сохранение достигнутых результатов лечения.

На данном примере мы видим, что хирургическое лечение демонстрирует хорошие показатели лечения, однако выраженное поражение путей оттока не позволяет достичь желаемых результатов компенсации кровоснабжения нижней конечности. Добавление генно-инженерных конструкций в значительной степени повышает эффективность комплексного лечения за счет развития коллатеральной сети кровоснабжения правой нижней конечности, что позволяет снизить периферическое сосудистое сопротивление и увеличить функциональный резерв кровоснабжения нижней конечности.

Подытоживая главу, посвященную оценке результатов комплексного хирургического лечения пациентов с хронической ишемией нижних конечностей можно с уверенностью сказать, что применение данных генно-инженерных конструкций на основе фактора роста эндотелия сосудов VEGF165 вносит огромный вклад в улучшение этих результатов. Эффективность комплексного лечения значительно выше по большинству проанализированных параметров по сравнению с изолированными хирургическими операциями. Стоит учитывать, что применение генно-инженерных конструкций в ближайшем периоде не приносит значимых изменений в результатах хирургического лечения, однако в отдаленном периоде (в основном начиная с 6-го месяца наблюдения) значительно повышается эффективность хирургического лечения, улучшаются показатели отдаленных результатов и показатели качества жизни пациентов. В первую очередь это заметно среди пациентов с «дистальной» формой поражения сосудов, когда только хирургическое лечение зачастую не приносит должного результата и является малоэффективным, особенно в отдаленном периоде, в то время как генно-инженерные конструкции заметно повышают эффективность лечения и улучшают качество жизни пациентов.

Заключение

В настоящее время такая патология, как хроническая ишемия нижних конечностей остается одной из самых распространенных среди заболеваний сердечно-сосудистой системы, а необходимое совершенствование существующих и разработка новых методов лечения пациентов с такой патологией крайне актуально в связи с высокой социальной и экономической значимостью данного заболевания.

Создание новых методов лечения в первую очередь касается патологии дистального артериального русла нижних конечностей, поскольку хирургическое лечение при таком поражении сосудов порой технически невозможно, либо результаты таких вмешательств являются неудовлетворительными. Традиционное медикаментозное лечение в данном случае так же малоэффективно.

В настоящий момент современным, инновационным и перспективным методом комплексного лечения пациентов с хронической ишемией нижних конечностей является использование генно-инженерных конструкций для стимуляции ангиогенеза в ишемизированных тканях нижних конечностей. Принцип работы данной конструкции основан на самоэкспрессии генов, кодирующих синтез белков, отвечающих за фактор роста эндотелия сосудов (VEGF). [9,10,11,15,17,18,20,21,22,23,26]

В настоящей работе для лечения пациентов с хронической ишемией нижних конечностей использовался фактор роста эндотелия сосудов 165 (VEGF165). Его введение приводило к длительному синтезу фактора роста и, соответственно, к возникновению и развитию новой сосудистой коллатеральной сети, что в свою очередь вело к усилению перфузии тканей и уменьшению степени ишемии.

Комплексный подход к лечению пациентов с хронической ишемией нижних конечностей заключается в возможности применения генно-

инженерных конструкций на основе фактора роста эндотелия сосудов (VEGF165) как в качестве самостоятельного метода лечения, так и в комплексе с реваскуляризирующими сосудистыми операциями и классической фармакотерапией.

Данная работа является проспективным контролируемым исследованием в котором генно-инженерные конструкции стимуляции ангиогенеза применяются как в составе комплексной консервативной терапии, так и совместно с методами хирургической реваскуляризации.

Первым этапом будут изложены результаты применения генно-инженерных конструкций в составе комплексной консервативной терапии.

При оценке субъективных показателей отмечается явное и достоверное преимущество в основной группе как при IIБ, так и при III степени хронической ишемии нижних конечностей. Было отмечено, что данные различия субъективных показателей первоначально возникают у пациентов с III ст. ХИНК и более выражены на ранних сроках наблюдения, нежели чем у пациентов с IIБ ст. ХИНК, однако при дальнейшем наблюдении отмечается более выраженная и положительная динамика у пациентов с IIБ ст. ХИНК.

Были получены и проанализированы результаты дистанции безболевого ходьбы и максимально проходимой дистанции, где можно видеть, что в группе применения генно-инженерных конструкций стимуляции ангиогенеза показатели ДББХ и максимально проходимой дистанции статистически достоверны и значимо увеличиваются как с исходными показателями, так и по сравнению с контрольной группой, где применялись стандартные консервативные методы лечения. Полученные данные характерны как для пациентов с исходной IIБ стадией, так и с III стадией хронической ишемии нижних конечностей. Однако, было отмечено, что прирост дистанции безболевого ходьбы и максимально проходимой дистанции значительно выше, и, соответственно, статистически более значимо у пациентов с исходной IIБ стадией ХИНК, чем у пациентов с III стадией. Это можно видеть на примере,

где результаты дистанции безболевой ходьбы в основной и контрольной группах у пациентов с III стадией ишемии хоть и относятся к статистически значимым и достоверным, но находятся на минимально допустимом значении, определяющим статистическую значимость, в то время как результаты у пациентов с исходной IIБ стадией варьируются более значимо между основной и контрольной группами.

При анализе показателей максимально проходимой дистанции картина аналогична вышеизложенной, но в то же время статистически достоверные различия между полученными данными в основной и контрольной группах пациентов, которым проводилось комплексное консервативное лечение говорят не только об эффективности метода лечения с использованием генно-инженерных конструкций для стимуляции ангиогенеза, но также и о влиянии на функциональный резерв кровообращения нижних конечностей и их устойчивости к ишемии.

При оценке результатов показателей лодыжечно-плечевого индекса и линейной скорости кровотока у пациентов с исходной IIБ стадией хронической ишемии нижних конечностей был получен их значимый прирост как в основной, так и в контрольной группе. Однако, статистически значимая и достоверная разница между результатами основной и контрольных групп были отмечены только по показателю прироста линейной скорости кровотока, в то время как по показателю лодыжечно-плечевого индекса значимые различия не отмечены. Статистически значимый прирост показателя линейной скорости кровотока у пациентов основной группы может косвенно указывать на увеличение объемов микроциркуляторной сети и, тем самым на ее разгрузку в связи с ангиогенезом.

Среди пациентов с исходной III стадией ХИНК результаты ЛПИ и линейной скорости кровотока меняются в значительно меньшей степени. Статистически значимое изменение отмечено только по показателю линейной скорости кровотока у пациентов основной группы по сравнению с исходным.

В то же время разница показателей ЛПИ и ЛСК между основной и контрольной группами статистически не значима и не достоверна, несмотря на то, что в абсолютных значениях показатели основной группы были выше, нежели чем в контрольной.

Аналогичная картина, которая была получена при оценке результатов предыдущих методов обследования наблюдается и при анализе данных сцинтиграфии мышц нижних конечностей и данных нагрузочных тестов. Прирост мышечной перфузии при проведении сцинтиграфии нижних конечностей был объективен у пациентов, которым применялись генно-инженерные конструкции стимуляции ангиогенеза. Время восстановления исходных параметров кровотока нижних конечностей, которое оценивалось при проведении нагрузочного теста было статистически значимо ниже исходного у пациентов основной группы. Это свидетельствует в первую очередь о развитии микроциркуляторного русла в связи с ангиогенезом у данных пациентов.

Полученные результаты сцинтиграфии мышц и результаты нагрузочных тестов были статистически значимыми и достоверными у пациентов основной группы по сравнению с контрольной. Соответственно, можно сказать, что несмотря на сильное развитие современной фармакологии и наличие в арсенале большого числа фармакологических препаратов для лечения ХИНК, результаты их применения значительно уступают методике стимуляции ангиогенеза посредством введения генно-инженерных конструкций.

Также следует обратить внимание на то, что при исходной IIБ и III стадии ХИНК использование генно-инженерных конструкций стимуляции ангиогенеза демонстрирует их эффективность и клиническую значимость при оценке параметров перфузии мышц нижних конечностей и определении функционального резерва кровообращения. Все полученные данные являются статистически значимыми и достоверными. В то же время выраженность клинического эффекта максимальна только при исходной IIБ стадии ХИНК.

При отдельном анализе полученных показателей мышечной перфузии отмечено, что абсолютный прирост показателей перфузии выше у пациентов основной группы с исходной ПБ стадией ХИНК, нежели чем у пациентов с III стадией. В то же время различия в клинической эффективности и результатах лечения у пациентов основной и контрольной групп с исходной III стадией ХИНК в несколько раз больше по сравнению с различием аналогичных по параметрам результатов у пациентов основной и контрольной групп с исходной ПБ стадией ХИНК. Вышесказанное может указывать на то, что существующие современные методы фармакотерапии несмотря на то, что уступают в клинической эффективности методам стимуляции ангиогенеза, все же могут способствовать увеличению местной перфузии тканей при исходной ПБ стадии ХИНК. В то же время у пациентов с исходной III стадией ХИНК клиническая эффективность современной фармакотерапии практически отсутствует и, при невозможности выполнения реконструктивных операций на сосудах нижних конечностей, только генно-инженерные конструкции для стимуляции ангиогенеза могут достоверно улучшить перфузию пораженных тканей нижних конечностей и тем самым привести к клиническому улучшению.

Был проведен анализ полученных данных по качеству жизни пациентов, где можно видеть, что исходное качество жизни было снижено как в основной, так и в контрольной группе за счет физического и психологического компонента здоровья. После проведенного лечения пациентов с исходной ПБ стадией ХИНК отмечается улучшения показателей качества жизни по физическим и психологическим компонентам как в основной, так и в контрольной группе. Отмечено, что результаты оценки качества жизни после проведенного лечения среди пациентов с ПБ стадией ХИНК лучше в основной группе по сравнению с контрольной и, главным образом, за счет показателя физического компонента здоровья. Различия же по результатам психологического компонента качества жизни тех же пациентов не

существенны. Полученные данные могут свидетельствовать о том, что пациенты с исходной II стадией ХИНК в равной степени удовлетворены результатами своего лечения, как в основной, так и в контрольной группе, в то же время по показателю физического компонента качества жизни этот результат значительно выше в основной группе пациентов, по сравнению с контрольной.

При анализе полученных результатов исследования качества жизни среди пациентов с исходной III стадией ХИНК картина получается иной по сравнению с II стадией ХИНК. После проведенного лечения качество жизни пациентов основной группы улучшается в большей степени за счет физического и в меньшей за счет психологического компонента здоровья, в то время как в контрольной группе улучшения качества жизни в целом не отмечалось. И несмотря на то, что по физическому компоненту здоровья имелась незначительная положительная динамика, то по психологическому компоненту каких-либо изменений отмечено не было, что в итоге позволяет сделать вывод – больные контрольной группы после проведенного лечения продолжали ощущать себя больными в той же степени.

Вторым этапом будут изложены результаты комплексного лечения пациентов с хронической ишемией нижних конечностей с применением хирургических методов реваскуляризации и применения генно-инженерных конструкций стимуляции ангиогенеза.

В данной группе так же были получены и проанализированы результаты ДББХ и максимально проходимой дистанции, где можно видеть, что в группе применения генно-инженерных конструкций стимуляции ангиогенеза совместно с хирургическим лечением показатели дистанции безболевого ходьбы и максимально проходимой дистанции статистически достоверны и значимо увеличиваются как с исходными показателями, так и по сравнению с контрольной группой, где применялось только хирургическое лечение. Полученные данные характерны как для пациентов с исходной II стадией, так

и с III стадией хронической ишемии. Однако, было отмечено, что статистически значимые и достоверные различия в дистанциях ходьбы определяются начиная с 1 года наблюдения у пациентов между основной и контрольной группами с исходной IIБ стадией ХИНК, тогда как у пациентов с исходной III стадией ХИНК различия наблюдаются уже с 3 месяца наблюдения. Статистически достоверные и значимые различия по показателям ДББХ и максимально проходимой дистанции между пациентами основной и контрольной групп сохраняются на все время наблюдения отдаленных результатов.

Сравнивая полученные результаты абсолютных показателей лодыжечно-плечевого индекса на всех сроках наблюдения у всех пациентов основной и контрольных групп статистически значимых различий получено не было. В тоже время были получены статистически достоверные различия при сравнении относительных показателей (прирост ЛПИ) между показателями основной и контрольной групп у пациентов с исходной III ст. ХИНК. Для пациентов с исходной IIБ ст. ХИНК полученные результаты так же являются статистически значимыми, однако показатель p находится на границе допустимой значимости доверительного интервала 0,05.

Касаясь полученных показателей линейной скорости кровотока, то различия между основной и контрольной группами начинают появляться с 6 месяца наблюдения как для пациентов с исходной IIБ стадией ХИНК, так и для пациентов с III стадией. Данные различия статистически достоверны и прослеживаются на всех дальнейших этапах наблюдения пациентов.

Анализ полученных показателей мышечной перфузии и времени восстановления исходных параметров кровотока позволил получить результаты, где так же отмечается статистически значимая и достоверная разница между показателями пациентов основной группы по сравнению с контрольной. В группе пациентов с исходной IIБ степенью ишемии достоверная разница показателей появилась с 6-го месяца наблюдений, в то

время как у пациентов с исходной III степенью ишемии разница была отмечена уже на 3 месяце наблюдений. Улучшение показателей основной группы по сравнению с контрольной прослеживалось вплоть до одного года наблюдения и не было зафиксировано ухудшений полученных параметров в течение 3-х лет наблюдений.

Результаты хирургического лечения были проанализированы в основной и контрольной группах в соответствии со стандартами оценки по шкале Rutherford. Были отмечены определенные закономерности. Удовлетворительные результаты лечения пациентов основной и контрольной групп, которым проводилась оценка согласно шкале Rutherford, были получены более чем в 70% случаев. В основном имелись результаты +3 и +2 балла по шкале. Однако, при проведении анализа и оценки результатов лечения пациентов основной и контрольной групп обращают на себя внимание полученные различия в отдаленных результатах, где полученные данные в основной группе становятся лучше, чем в контрольной. В основной группе подавляющее количество пациентов имели балл +3 по шкале Rutherford, в контрольной же группе большая часть пациентов имела балл +2. Ко всему вышесказанному можно также добавить то, что практически все результаты в основной группе регистрировались как положительные (баллы +1, +2, +3). В единичных случаях регистрировался результат «без изменений» (0 баллов). В тоже время в контрольной группе одновременно с положительными результатами были зафиксированы и отрицательные (-1 балл), а также большее число нейтральных результатов (0 баллов). Средний статистический показатель результата лечения пациентов в основной группе составил +2,5 балла, в контрольной же группе данный показатель составил +1,5 балла. Соответственно, все сказанное выше говорит о более лучших результатах лечения пациентов в основной группе по сравнению с контрольной.

В группе пациентов, которым было проведено хирургическое лечение был также проведен анализ полученных данных по качеству жизни. Где можно видеть, что исходное качество жизни было так же снижено как в основной, так и в контрольной группе за счет физического и психологического компонента здоровья. Полученные же показатели в основной группе превосходят аналогичные в контрольной. После проведенного лечения пациентов с исходной ПБ стадией ХИНК отмечается улучшения показателей качества жизни в первую очередь по физическим компонентам здоровья. Психологический же компонент при оценке данных практически не различался между основной и контрольной группой. Данный факт говорит о том, что все пациенты с исходной ПБ стадией ХИНК, которым было проведено хирургическое лечение удовлетворены результатом, однако, в общем физическом плане пациенты основной группы чувствовали себя лучше по сравнению с пациентами контрольной. Отмечено, что результаты оценки качества жизни после проведенного лечения среди пациентов с ПБ стадией ХИНК лучше в основной группе по сравнению с контрольной и, главным образом, за счет показателя физического компонента здоровья. Различия же по результатам психологического компонента качества жизни тех же пациентов не существенны. Полученные данные могут свидетельствовать о том, что пациенты с исходной ПБ стадией ХИНК в равной степени удовлетворены результатами своего лечения, как в основной, так и в контрольной группе, в то же время по показателю физического компонента качества жизни этот результат значительно выше в основной группе пациентов, по сравнению с контрольной.

При анализе полученных результатов исследования качества жизни среди пациентов с исходной III стадией ХИНК отмечается больший прирост показателей по сравнению с исходной ПБ стадией ХИНК причем как среди пациентов основной группы, так и контрольной. Кроме того, при оценке отдаленных результатов уже отмечаются более выраженные и значимые

отличия между показателями в основной и контрольной группах. Показатели качества жизни пациентов основной группы с исходной III стадией ХИНК значительно превосходят показатели контрольной группы как по физическому, так и по психологическому компоненту. Таким образом пациенты основной группы в гораздо большей степени удовлетворены результатами лечения и в целом чувствуют себя лучше.

До сих пор вопрос безопасности данного метода остается открытым и одним из самых обсуждаемых. Во время данного исследования было зарегистрировано 4 смертельных исхода через 25, 28, 32 и 37 месяцев. Показатель общей смертности составил 3,33%. Острый инфаркт миокарда являлся причиной смерти в трех случаях. Также однократно возникло острое нарушение мозгового кровообращения. В 3 случаях данным пациентам применялись генно-инженерные конструкции совместно с комплексным консервативным лечением. В 1 случае пациенту проводилось хирургическое лечение в объеме бифуркационного аорто-бедренного шунтирования совместно с введением генно-инженерных конструкций. Различные авторы в современных работах приводят статистику, согласно которой при сроках наблюдения более 1 года смертность фиксируется во всех исследованиях. Таким образом, анализируя различные источники смертность при использовании различных методов стимуляции ангиогенеза с применением генно-инженерных конструкций для лечения пациентов с ХИНК составляет от 3,5 до 13% при сроке наблюдения до 7 лет. [52,53,56,61,64,65,68,81]

В большинстве случаев основной причиной смерти являлись случаи острого инфаркта миокарда или различные поражения коронарных артерий. Учитывая тот факт, что атеросклероз является системным заболеванием и всегда так или иначе поражает несколько артериальных бассейнов, то поражение коронарных артерий выглядит вполне естественным. Возраст пациентов так же накладывает свой отпечаток на общее состояние здоровья пациента. Стоит учесть, что значимые поражения коронарного русла во

многих исследованиях являлись критериями исключения. В нашем случае все пациенты неоднократно за время наблюдения проходили тредмил-тест и, соответственно, не имели противопоказаний к его проведению со стороны сердечной патологии. В то же время, наличие выраженных изменений артериального русла нижних конечностей вплоть до критических может скрывать картину ишемической болезни сердца в связи с тем, что пациент «не доходит» до момента возникновения коронарного синдрома и кислородного голодания сердечной мышцы. Улучшение физического состояния пациента после проведенного лечения и расширение возможной активности может потенциально спровоцировать коронарный синдром при имеющейся патологии коронарных артерий. Таким образом можно сказать, что коронарный синдром может возникнуть вследствие увеличения активности пациента, но не за счет влияния проведенного лечения с использованием генно-инженерных конструкций. В связи с этим необходимо помнить и вовремя учитывать возможное возникновение кардиальных осложнений. Соответственно, пациенту после проведенного лечения показано наблюдение кардиолога с целью коррекции назначенной кардиальной терапии и проведение дополнительной диагностики для своевременного выявления и лечения возможных осложнений.

Основной спорный момент, который возникает при обсуждении безопасности метода лечения с помощью введения генно-инженерных конструкций является вероятность развития различных новообразований. Одними из первых исследований, где проводилась генотерапия новообразований, является работа Folkman et.al., в которой применялось подавление процессов ангиогенеза [59]. Соответственно, исходя из этого можно сделать вывод, что процесс ангиогенеза, в особенности стимулированный искусственно, может привести к стимулированию и усилению роста новообразования. В первую очередь речь идет о сосудистых новообразованиях – гемангиомах. Но, согласно различным клиническим

исследованиям не было выявлено связи между генно-инженерными методиками лечения и возникновением гемангиом. [68]

В данном исследовании нами не было выявлено ни одного случая возникновения новообразований за все время наблюдения пациентов. В связи с тем, что пациенты, страдающие атеросклерозом артерий, которым показано лечение хронической ишемии нижних конечностей относятся к той возрастной группе, где вероятность возникновения новообразования, в особенности злокачественного, крайне высока. Данный факт в значительной степени затрудняет возможность достоверно оценить вероятность взаимосвязи между введением генно-инженерных конструкций для стимуляции ангиогенеза и возникновением новообразования. Согласно оценке различных специалистов в области генетики, время синтеза фактора роста эндотелия сосудов после применения генно-инженерной конструкции составляет не более 4-х недель. В то время как этого срока недостаточно для запуска процесса канцерогенеза. [24,44,45,51,57,63,67,68,73,74,84,98]

Однако, окончательно исключить вероятность возникновения новообразования и стимуляцию ангиогенеза с помощью генно-инженерных конструкций в настоящий момент нельзя. Таким образом, пациенту, которому предполагается проведение лечения с помощью генно-инженерных конструкций, необходимо очень тщательно проводить осмотр с целью выявления или предрасположенности (в том числе учитывая семейный анамнез) к возникновению новообразования.

Была проанализирована переносимость применяемых генно-инженерных конструкций, а так же наличие нежелательных побочных явлений за время наблюдения пациентов. Полученные данные в среднем совпадали с данными других авторов, которые занимались изучением похожей проблемы. [51,68,71,80]

Выраженная реакция гиперчувствительности на введение генно-инженерных конструкций была отмечена у 2 (3,3%) пациентов. Проявлялась

она местной аллергической реакцией по типу крапивницы (на месте инъекции), которая купировалась антигистаминными препаратами в течение 2-3 суток. Так же отмечалось повышение температуры тела до 37,2-37,3°C. Стоит отметить, что эти пациенты изначально имели повышенную сенсibilизацию организма и имели в анамнезе частые эпизоды аллергических реакций. В связи с этим необходимо учесть, что генно-инженерные конструкции требуют осторожного применения у пациентов с иммунологическими реакциями и патологиями в анамнезе.

Локальный болевой синдром был зарегистрирован у 5 (8,3%) пациентов. Местный отек тканей голени был отмечен у 4 (6,6) пациентов. Во всех случаях данные побочные явления были проходящими и полностью купировались в течение 3-5 суток.

С большой долей вероятности можно сказать, что данные реакции были вызваны локальным воздействием синтезируемых факторов на основе белковой структуры, непосредственно приводящей к местному иммунному ответу. Согласно некоторым авторам, в экспериментах доказана способность сосудистого эндотелиального фактора роста (белок VEGF) вызывать местный отек, причем в 50 раз сильнее, нежели гистамин. [60,77]

На основании вышеизложенного можно сделать заключение, что в настоящем исследовании была установлена хорошая переносимость и не большое количество побочных эффектов и нежелательных явлений при применении генно-инженерных конструкций сосудистого эндотелиального фактора роста для лечения пациентов с ХИНК. Все отрицательные явления были проходящими в короткие сроки. В отдаленном периоде каких-либо побочных эффектов зафиксировано не было, что говорит о высоком уровне безопасности данного метода лечения.

Подводя итог, можно сказать, что генно-инженерные конструкции на основе сосудистого эндотелиального фактора роста VEGF 165 могут успешно

применяться для лечения пациентов с хронической ишемией нижних конечностей ПА-III стадий.

Среди пациентов группы консервативного лечения эффективность применения генно-инженерных конструкций достоверно доказана практически по всем показателям и значительно превосходит результаты, полученные в контрольной группе. Клиническое улучшение, которое отмечается у пациентов подтверждается объективно многими показателями и субъективно непосредственно пациентам. Прирост показателей гемодинамики, мышечной перфузии, времени восстановления и увеличение функционального резерва статистически доказаны и достоверны. К сожалению, в связи с крайне низким функциональным резервом местных тканей и организма в целом, показатели проведенного лечения у пациентов с исходной III ст. ХИНК хуже по сравнению с результатами лечения пациентов со II ст. Однако, при сравнении полученных результатов основной и контрольной групп эффективность и, соответственно, необходимость данной методики оправдана и не вызывает сомнений.

При применении генно-инженерных конструкций совместно с хирургическим лечением пациентов с ХИНК также отмечается доказанная эффективность комплексного лечения. Результаты основной группы превосходят результаты контрольной по всем проанализированным параметрам. Хотя в ближайшем послеоперационном периоде применение генно-инженерных конструкций не оказывает значимого влияния на объективные и субъективные параметры, при исследовании отдаленных результатов эффективность, безопасность и необходимость методики не вызывает сомнений. В особенности у пациентов с так называемой дистальной формой поражения, когда выполнение хирургических операций зачастую не позволяет достичь желаемого результата и связано с определенными рисками, применение генно-инженерных конструкций объективно улучшает результаты лечения.

Была определена и зафиксирована хорошая переносимость данного метода лечения, а количество и выраженность побочных явлений не велики. Все отрицательные эффекты были проходящими и отмечались только в ближайшем периоде наблюдения. Отдаленный период наблюдения не выявил каких-либо отрицательных явлений.

Выводы:

1. Анализ применения генно-инженерных конструкций сосудистого эндотелиального фактора роста VEGF-165 в сочетании с комплексными консервативными методами лечения пациентов с ХИНК демонстрирует достоверно лучшие ближайшие и отдаленные результаты:

- увеличение в 1,4 раза ДББХ у пациентов с IIБ ст. ХИНК и в 2,0 раза у пациентов с III ст. ХИНК в основной группе по отношению к контрольной ($p < 0,05$);
- увеличение мышечной перфузии в 2,75 и 4,73 раза у пациентов основных групп по отношению к контрольным с IIБ и III ст. ХИНК соответственно ($p < 0,05$);
- улучшение субъективных показателей по сравнению с классическими консервативными методами лечения ($p < 0,05$).

2. Анализ применения генно-инженерных конструкций сосудистого эндотелиального фактора роста VEGF-165 в сочетании с хирургическими реваскуляризирующими операциями в лечении пациентов с ХИНК также позволило улучшить ближайшие и отдаленные результаты:

- увеличение в 1,3 раза ДББХ у пациентов с IIБ ст. ХИНК и в 1,4 раза у пациентов с III ст. ХИНК в основной группе по отношению к контрольной ($p < 0,05$);
- увеличение мышечной перфузии в 1,57 и 1,63 раза у пациентов основных групп по отношению к контрольным с IIБ и III ст. ХИНК соответственно ($p < 0,05$);
- улучшение субъективных показателей по сравнению с только хирургическими методами лечения ($p < 0,05$).

3. Генно-инженерные конструкции стимуляции ангиогенеза VEGF-165 эффективны и безопасны в лечении пациентов с хронической ишемией нижних конечностей IIБ и IIIст. как в сочетании с хирургическими операциями, так и в качестве отдельного метода лечения. Достигнутые эффекты сохраняются в течение пяти лет и более.

4. Наличие адекватного функционального резерва кровообращения нижних конечностей, обусловленного временем восстановления параметров кровотока, и сохранное проксимальное артериальное русло значительно улучшает прогноз лечения больных с применением генно-инженерных конструкций. При диффузном поражении артерий нижних конечностей и отсутствии адекватного функционального резерва кровообращения прогноз лечения ухудшается.

5. Качество жизни пациентов получавших комплексное лечение, основанное на сочетании реконструктивных операций, консервативной терапии и использовании генно-инженерных конструкций для стимуляции ангиогенеза достоверно лучше ($p < 0,05$ как в группе комплексного консервативного лечения, так и в сочетании с хирургическими операциями у пациентов с исходными IIБ и III стадиями ХИНК) по таким параметрам как общее состояние здоровья, жизненная активность, интенсивность болей, ролевое физическое функционирование, физическое функционирование и психическое здоровье по сравнению с контрольной группой пациентов, в лечении которых генно-инженерные конструкции не использовались.

Практические рекомендации

1. При наличии дистального поражения артерий нижних конечностей у пациентов с ХИНК необходимо применение генно-инженерных конструкций сосудистого эндотелиального фактора роста VEGF-165 для улучшения эффективности лечения.

2. При невозможности выполнения у пациентов реконструктивных сосудистых операций с целью улучшения качества жизни, увеличения вероятности сохранения конечности и предотвращения развития критической ишемии нижних конечностей необходимо применение генно-инженерных конструкций сосудистого эндотелиального фактора роста VEGF-165.

3. При распространенном поражении артериального русла необходимо сочетание реконструктивных сосудистых операций и применения генно-инженерных конструкций сосудистого эндотелиального фактора роста VEGF-165 для улучшения отдаленных результатов лечения.

4. У пациентов с ХИНК ПБ-III рекомендуется применение генно-инженерных конструкций при достаточном функциональном резерве кровоснабжения нижних конечностей и при отсутствии его декомпенсации.

5. Рекомендуется повторное применение генно-инженерных конструкций при прогрессировании заболевания и ухудшении состояния с целью улучшения отдаленных результатов и качества жизни пациентов с ХИНК.

Список литературы

1. Аракелян В.С., Демидова О.А. Клеточные технологии в комплексном лечении больных с заболеванием периферических сосудов. Ж.: Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева. Сердечно-сосудистые заболевания. 2018;19(1): с. 63-74.
2. Аракелян В.С., Демидова О.А., Бокерия Л.А., Бокерия О.Л. Терапевтический ангиогенез в комплексном лечении неоперабельной хронической ишемии нижних конечностей. 2017;18(3): с. 66.
3. Барбараш Л.С., Золоев Г.К., Чеченин Г.И. и др. Динамика показателей числа больших ампутаций и летальности при заболеваниях артерий конечностей в период с 1993 по 2007 годы. Результаты популяционного исследования. Ангиология и сосудистая хирургия. 2010;3: с.20-25.
4. Белов Ю.В., Виноградов О.А., Ульянов Н.Д., Дзюндзя А.Н. Прогнозирование результатов реваскуляризирующих операций на артериях нижних конечностей на основе методов оценки регионарного кровотока. Ж.: Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. 2014;7(5): с.62-67.
5. Белов Ю.В., Комаров Р.Н. Тактика хирургического лечения мультифокальных стенотических поражений артериальных бассейнов. Ж.: Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2007;3: с.60-64.
6. Белоусов Е.Ю., Сорока В.В., Нохрин С.П. и др. Опыт использования ангиогенной терапии в лечении больных с хронической ишемией нижних конечностей. Трудный пациент. 2014;10(12): с.40-43.
7. Бокерия Л.А., Бузиашвили Ю.И., Мацкеплишвили С.Т., Камардинов Д.Х. Первый опыт применения стволовых клеток костного мозга для регенерационной терапии ишемической болезни сердца. Ж.: Кардиология, 2004;44(9): с.16-22.

8. Бокерия Л.А., Георгиев Г.П., Голухова Е.З. Возможности использования генных и клеточных технологий для лечения сердечно-сосудистых заболеваний. Бюллетень НЦССХ им. Бакулева РАМН. 2004;3: с.19-38.

9. Бокерия Л.А., Голухова Е.З., Еремеева М.В. и др. Первые результаты терапевтического ангиогенеза у пациентов с ишемической болезнью сердца с использованием гена VEGF 165 человека. Ж.: Клеточные технологии в биологии и медицине». 2005;3: с.123-131.

10. Бокерия Л.А., Демидова О.А., Аракелян В.С., Еремеева М.В. Опыт лечения хронической ишемии нижних конечностей с помощью генного препарата сосудисто-эндотелиального роста VEGF165 – ангиостимулина. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания». 2006;1: с.74-81.

11. Бочков Н.П., Воронов Д.А. Генотерапия в лечении сердечно-сосудистых заболеваний: фундаментальные основы, терапевтический потенциал, современное состояние и перспективы. Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. 2010;3(3): с.4-11.

12. Гавриленко А.В., Константинов Б.А., Бочков Н.П., Воронов Д.А. и др. Возможности и перспективы лечения критической ишемии с использованием генно-инженерных технологий. Ж.: «Ангиология и сосудистая хирургия». 2003;3(9): с.14-17.

13. Бурлева Е.П., Фокин А.А. Пятилетние результаты реконструктивно-восстановительной хирургии при критической ишемии нижних конечностей. Ангиология и сосудистая хирургия. 2005;3: с.115-122.

14. Воронов Д.А. Комплексное лечение больных с хронической ишемией нижних конечностей: сочетание реконструктивных операций с генно-инженерными технологиями (клинико-экспериментальное исследование). Дисс. Док. Мед. Наук; М.: 2013, 247с.

15. Гавриленко А.В., Воронов Д.А., Бочков Н.П. Комплексное хирургическое лечение пациентов с хронической ишемией нижних конечностей с использованием генных индукторов ангиогенеза. Ж.: Хирургия. 2013;2: с.25-29.

16. Гавриленко А.В., Воронов Д.А., Бочков Н.П. Комплексное лечение пациентов с хронической ишемией нижних конечностей с использованием генных индукторов ангиогенеза. Ближайшие и отдаленные результаты. КТТИ. 2011;6(3): с.84-88.

17. Гавриленко А.В., Деев Р.В., Бозо И.Я., Мжаванадзе Н.Д. Эффективность применения гена VEGF165 в комплексном лечении пациентов с хронической ишемией нижних конечностей 2А-3 стадии Ж.: «Ангиология и сосудистая хирургия». 2014;20(2): с.38-48

18. Гавриленко А.В., Константинов Б.А., Бочков Н.П., Воронов Д.А. и др. Возможности и перспективы лечения критической ишемии с использованием генно-инженерных технологий. Ж.: «Ангиология и сосудистая хирургия». 2003;3(9): с.14-17.

19. Гавриленко А.В., Олейник Е.М., Воронов Д.А. Отдаленные результаты применения генно-инженерных конструкций на основе сосудистого эндотелиального фактора роста VEGF-165 «Неоваскулген» в комплексном лечении хронической ишемии нижних конечностей. Ж.: Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. 2015;8(3): с.39-43.

20. Гавриленко А.В., Олейник Е.М. Эффективность применения генно-инженерных конструкций VEGF-165 в комплексном лечении хронической ишемии нижних конечностей. Ж.: Анналы хирургии. 2015;6: с.5-9.

21. Деев Р.В., Бозо И.Я., Мжаванадзе Н.Д. и др. Эффективность применения гена VEGF165 в комплексном лечении пациентов с хронической ишемией нижних конечностей 2А-3 стадии. Ж.: Ангиология и сосудистая хирургия. 2014;20(2): с.76-83.

22. Деев Р.В., Григорян А.С., Потапов И.В., Киселев С.Л., Исаев А.А. Мировой опыт и тенденции генотерапии ишемических заболеваний. *Ангиология и сосудистая хирургия*. 2011;2: с.145-154

23. Деев Р.В., Калинин Р.Е., Червяков Ю.В. и др. Результаты применения генотерапевтического препарата «Неоваскулген» у пациентов с хронической ишемией нижних конечностей: 1 год наблюдений. *Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова*. 2011;6(4): с.20-24.

24. Деев Р.В., Червяков Ю.В., Калинин Р.Е., Исаев А.А. Теоретические и практические аспекты применения препарата на основе нуклеиновой кислоты, кодирующей эндотелиальный сосудистый фактор роста. *Электронный журнал «Ангиология.ру»* 2011:1.

25. Зудин А.М., Засорина М.А., Орлова М.А. Эпидемиологические аспекты хронической критической ишемии нижних конечностей. *Ж.: Хирургия*, 2014;10: с.91-95

26. Константинов Б.А., Бочков Н.П., Гавриленко А.В., Воронов Д.А., Тарантул В.З., Хайдарова Н.В., Народицкий Б.С., Авдеева С.В., Шереметьева Г.Ф., Кочарян Е.З. Экспериментальные и клинические результаты использования генно-инженерных конструкций с геном ангиогенина в лечении хронической ишемии нижних конечностей. *Медицинская генетика*. – 2005;4(7): с.327-331.

27. Мжаванадзе Н.Д., Калинин Р.Е., Исаев А.А., Деев Р.В. Становление и развитие метода терапевтического ангиогенеза в российской сердечно-сосудистой хирургии. *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия*. 2015; 6: с.91-97

28. Национальные рекомендации по ведению пациентов с патологией артерий нижних конечностей. *Ангиология и сосудистая хирургия*. 2013; 19 (2): с.1-67

29. Покровский А.В. и др. «Клиническая ангиология. Руководство для врачей в 2-х томах» – М., 2004
30. Рекомендации Российского общества ангиологов и сосудистых хирургов. «Диагностика и лечение больных с заболеваниями периферических артерий». М., 2007; 135 с.
31. Рекомендации Российского общества ангиологов и сосудистых хирургов. «Национальные рекомендации по ведению пациентов с заболеваниями артерий нижних конечностей» - М., 2013
32. Российский консенсус «Диагностика и лечение больных с критической ишемией нижних конечностей». М., 2002
33. Российский консенсус «Рекомендуемые стандарты для оценки результатов лечения пациентов с хронической ишемией нижних конечностей». – М., 2001
34. Савельев В.С., Кошкин В.М. Критическая ишемия нижних конечностей. М.: Медицина. 1997, 40 стр.
35. Савельев В.С., Кошкин В.М., Каралкин А.В. Патогенез и консервативное лечение тяжелых стадий облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей: руководство для врачей. М.: Медицинское информационное агенство. 2010, 214 стр.
36. Сапелкин С.В., Харазов А.Ф. Современные позиции в консервативной терапии пациентов с заболеваниями периферических артерий. Хирургия. 2013;4: с.68-73.
37. Трактуев Д.О., Марч К.П., Ткачук В.А., Парфенова Е.В. Стромальные клетки жировой ткани – мультипотентные клетки с терапевтическим потенциалом для стимуляции ангиогенеза при ишемии тканей. Ж.: Кардиология, 2006;48(2): с.53-63.
38. Чазов Е.И., Ткачук В.А., Ширинский В.П. Перспективы генной терапии сердечно-сосудистых заболеваний. Ж.: Вестник Российской Академии Наука. 1999; 69(1): с.16-31.

39. Червяков Ю.В., Власенко О.Н. Качество жизни у пациентов с атеросклерозом нижних конечностей при использовании стандартного лечения и терапевтического ангиогенеза. Ж.: Терапевтический архив. 2017; 89(9): с.97-92.
40. Червяков Ю.В., Староверов И.Н., Власенко О.Н., Исаев А.А., Деев Р.В. Современные возможности лечения хронических облитерирующих заболеваний артерий нижних конечностей в амбулаторных условиях. Ж.: Трудный пациент. 2017; 15(3): с.32-37
41. Червяков Ю.В., Староверов И.Н., Нерсесян Е.Г. и др. Терапевтический ангиогенез в лечении больных с хроническими облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей. Ближайшие и отдаленные результаты. Ангиология и сосудистая хирургия. 2012;18(3): с.19-27.
42. Чернявский А.М., Ларионов П.М., Караськов А.М. Направленный ангиоваскулогенез при хирургическом лечении ишемической болезни сердца. Монография, 2011, 151 стр.
43. Шумаков В.И., Казаков Э.Н., Онищенко Н.А., Гуреев С.В. с соавт. Первый опыт клинического применения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга для восстановления сократительной функции миокарда. Ж.: Российский кардиологический журнал, 2003;8(5): с.42-50.
44. Alitalo K., Ferrana N., Clinical applications of angiogenic growth factors and their inhibitors. Nat. Med. 1999; 5: p.1359-1364
45. Anghel A, Taranu G, Seclaman E. et.al. Safety of vascular endothelial and hepatocyte growth factor gene therapy in patients with critical limb ischemia. Curr Neovasc Res. 2011; 8(3): p.183-189
46. Annex BH. Therapeutic angiogenesis for critical limb ischaemia. J. Nature reviews, Cardiology. 2013; 10(7): p.387-396.

47. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, Witzenbichler B, Schatteman G, Isner JM. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *J. Science*. 1997;275(5302): p.964-967.
48. Attinger CE, Evans KK, Bulan E. et.al. Angiosomes of the foot and ankle and clinical implications for limb salvage: reconstruction, incisions, and revascularization. *Plast Reconstr Surg*. 2006 Jun;117(7 Suppl): p.261-293
49. Baffour R, Berman J, Garb JL, Rhee SW, Kaufman J, Friedmann P. Enhanced angiogenesis and growth of collaterals by in vivo administration of recombinant basic fibroblast growth factor in a rabbit model of acute lower limb ischemia: dose-response effect of basic fibroblast growth factor. *J Vasc Surg*. 1992;16: p.181-191
50. Aviles RJ, Annex BH, Lederman RJ. Testing clinical therapeutic angiogenesis using basic fibroblast growth factor (FGF-2). *J Br Pharmacology*. 2003;140(4): p.637-646
51. Baumgartner I, Rauh G, Pieczek A, et.al. Lower-extremity edema associated with gene transfer of naked DNA encoding vascular endothelial growth factor. *Ann Intern Med* 2000; 132(11): p.880-884
52. Belch J, Hiatt WR, Baumgartner I et.al. TAMARIS Committees and Investigators. Effect of fibroblast growth factor NV1FGF on amputation and death: a randomized placebo-controlled trial of gene therapy in critical limb ischemia. *Lancet*. 2011 June 4; 377(9781): p.1929-1937
53. Collinson D, Donnelly R. Therapeutic angiogenesis in peripheral arterial disease: can biotechnology produce an effective collateral circulation? *European Journal Vascular and Endovascular Surgery* 2004; July; 28: p.9-23
54. Deev R.V., Bozo I.Y, Isaev A.A. et. al. PCMV- VEGF165 Intramuscular gene transfer is an effective method of treatment for patients with chronic lower limb ischemia. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*. 2015; 20(5): p.473-482.

55. Dohmen A., Eder S., Euringer W., Zeller T., Beyersdorf F. Chronic critical limb ischemia. *Deutsches Arzteblatt International*. 2012; 109:6: p.95-101
56. Epstein S., Fuchs S. et.al. Therapeutic interventions for enhancing collateral development by administration of growth factors: basic, principles, early results and potential hazards. *Cardiovascular Res*. 2001; 49(3): p.532-542
57. Epstein S., Kornowski R. et.al. Angiogenesis therapy: amidst the hype, the neglected potential for serious side effects. *Circulation* 2001;104: p.115-119
58. Fadini GP, Agostini C, Avogaro A. Autologous stem cell therapy for peripheral arterial disease metaanalysis and systematic review of the literature. *Atherosclerosis*. 2010; 209:1: p.10-17
59. Folkman J. Angiogenesis and its inhibitors. Important advances in oncology. Philadelphia JB Lippincott, 1985; p.42-62
60. Gowdak L., Poliakov L., Xiaotong W. Adenovirus-mediated VEGF121 Gene transfer stimulates angiogenesis in normoperfused skeletal muscle and preserves tissue perfusion after induction of ischemia. *Circulation*; 2000; 102: p.565-571
61. Grines C.L., Watkins M.W., Mahmarian J.J. et. Al. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of Ad5FGF-4 gene therapy and its effect on myocardial perfusion in patients with stable angina. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42: p.1339-1347
62. Gupta R, Tongers J, Losordo DW. Human studies o angiogenic gene therapy. *Circ Res*. 2009; 105(8): p.724-736
63. Hedman M., Hartikainen J., Syvanne M. et.al. Safety and fesiability of catheter-based local intracoronary vascular endothelial growth factor gene transfer in the prevention of postangioplasty and in-stent restenosis and in the treatment of chronic myocardial ischemia: phase II results of the Kuopio Angiogenesis Trial (KAT). *Circulation* 2003; 107: p.2677-283

64. Henry T, Annex B, McKendall G. et al. Vascular endothelial growth factor in ischemia for vascular angiogenesis (the VIVA trial). *Circulation*, 2003; 107: p.1359-1365
65. Henry T., Hirsch AT, Goldan J et.al. Safety of non-viral plasmid encoding dual isoforms of hepatocyte growth factor in critical limb ischemia patients: a phase I study. *Gene Therapy*, 2011 18(8): p.788-794
66. Isner JM. Arterial gene transfer of naked DNA for therapeutic angiogenesis: early clinical results. *J: Advanced Drug Delivery reviews*, 1998;30(1-3): p.185-197.
67. Isner J.M. Myocardial gene therapy. *Nature*. 2002; 415: p.234-239
68. Isner JM, Vale PR, Symes JF, Losordo DW. Assessment of risks associated with cardiovascular gene therapy in human subjects. *Circ Res*. 2001; 89(5): p.389-400
69. Isner JM, Walsh K, Symes J, Pieczek A, Takeshita S, Lowry J, Rossow S, Rosenfield K, Weir L, Brogi E. Arterial gene therapy for therapeutic angiogenesis in patients with peripheral artery disease. *J. Circulation*, 1995; 101(4): p.2687-2692.
70. Kornowski R, Fuchs S, Leon MB, Epstein SE. Delivery strategies to achieve therapeutic myocardial angiogenesis. *J. Circulation*. 2000;101(4): p.454-458.
71. Kusumanto YH, van Weel V., Mulder NH. et.al. Treatment with intramuscular vascular endothelial growth factor gene compared with placebo for patients with diabetes mellitus and critical limb ischemia: a double-blind randomized trial. *Hum Gene Ther* 2006; 17: p.683-691
72. Lakshmanan R., Ukani G., Rishi MT, Maulik N. Trimodal rescue of hind limb ischemia with growth factors, cells, and nanocarriers: fundamentals to clinical trials. *Canadian journal of physiology and pharmacology*. 2017; 95(10): p.1125-1140

73. Lara-Hernandez R., Lozano-Vilardell P., Blanes P. et.al. Safety and efficiency of therapeutic angiogenesis as a novel treatment in patients with critical lower limb ischemia. *Ann Vasc Surg.* 2010; 24(2): p.287-294
74. Lasala GP, Silva JA, Gardner PA et.al. Combination stem cell therapy for the treatment of severe limb ischemia: safety and efficacy analysis. *Angiology*; 2010; 61(6): p.551-556
75. Lawall H, Bramlage P, Amann B. Stem cell and progenitor cell therapy in peripheral artery disease. A critical appraisal. *J. Thrombosis and Haemostasis.* 2010;103(4): p.696-709.
76. Madonna R, Geng YJ, De Caterina R. Adipose tissue-derived stem cells: characterization and potential for cardiovascular repair. *J. Atherosclerosis, thrombosis and vascular biology*, 2009;29(11): p.1723-1729.
77. Masaki I., Yonemitsu Y. Angiogenic gene therapy for experimental critical limb ischemia. *Circulation Research*; 2002; 90: p.966-973
78. Murohara T., Ikeda H, Duan J, Shintani S, Sasaki Ki, Eguchi H, Onitsuka I, Matsui K, Imaizumi T. Transplanted cord blood-derived endothelial precursor cells augment postnatal neovascularization. *Journal of Clinical Investigations*, 2000;105(11): p.1527-1536
79. Niagara MI, Haider HKh, Ye L, Koh VS, Lim YT, Poh KK, Ge R, Sim EK. Autologous skeletal myoblasts transduced with a new adenoviral bicistronic vector for treatment of hind limb ischemia. *Journal of vascular surgery*, 2004;40(4): p.774-785.
80. Niebuhr A., Henry T., Goldman J. et.al. Long-term safety of intramuscular gene transfer of non-viral FGF1 for peripheral arterial disease. *Gene Ther* 2012; 19(3): p.264-270
81. Nikol S, Baumgartner I, Van Belle E et.al. TALISMAN 201 investigators. Therapeutic angiogenesis with intramuscular NV1FGF improves amputation-free survival in patients with critical limb ischemia. *Mol Ther.* 2008; 16(5): p.972-978

82. Norgren L., Hiatt WR, Dormandy JR, Nehler MR, Harris KA, Fowkes FG. Inter-society consensus for the management of peripheral artery disease (TASC II). *J. Vasc Surg.* 2007;45: p.5-67.
83. Norman PE, Eikelboom JW, Hankey GJ. Peripheral arterial disease prognostic significance and prevention of atherothrombotic complications. *Med. J Aust.* 2004; 181(3): p.150-154
84. Powell RJ, Goodney P., Mendelsohn FO et.al. Safety and efficacy of patient specific intramuscular injection of HGF plasmid gene therapy on limb perfusion and wound healing in patients with ischemic lower extremity ulceration: results of the HGF-0205 trial. *J Vasc Surg.* 2010; 52(6): p.1525-1530
85. Prather WR, Toren A, Meiron M, Ofir R, Tschope C, Horwitz EM. The role of placental-derived adherent stromal cell (PLX-PAD) in the treatment of critical limb ischemia. *J. Cell Therapy*, 2009;11(4): p. 427-434
86. Rajagopalan S, Mohler ER, Lederman RJ, Mendelsohn FO, Saucedo JF, Goldman CK, Blebea J, Macko J, Kessler PD, Rasmussen HS, Annex BH. 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. *J. Circulation.* 2003;108(16): p.1933-1938.
87. Raval Z, Losordo DW. Cell therapy of peripheral arterial disease: from experimental findings to clinical trials. *J. Circulation Research.* 2013;112(9): p.1288-1302.
88. Rosova I, Dao M, Capoccia B, Link D, Nolte JA. Hypoxic preconditioning results in increased motility and improved therapeutic potential of human mesenchymal stem cells. *J. Stem cells*, 2008;26(8): p.2173-2182
89. Rutherford RB, Baker JD, Ernst C, Johnston KW, Porter JM, Ahn S., Lones DN. Recommended standards for reports dealing with lower extremity ischemia. *J. Vasc Surg.* 1997;26: p.516-538

90. Sae Hee Ko, Dennis F. Therapeutic angiogenesis for critical limb ischemia. *Seminars in vascular_surgery*, 2014; 27(1): p.23-31
91. Springer ML. A balancing act: therapeutic approaches for the modulation of angiogenesis. *J. Current Opinion in Investigational Drugs*. 2000;7(3): p.243-250.
92. Takahashi T, Kalka C, Masuda H, Chen D, Silver M, Kearney M, Magner M, Isner JM, Asahara T. Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *J. Natural Medicine*, 1999;5(4): p.434-438.
93. Takeshita S, Zheng LP, Brogi E, Kearney M, Pu LQ, Bunting S, Ferrara N, Symes JF, Isner JM. Therapeutic angiogenesis. *J Clin Invest*. 1994 Feb;93(2): p.662-670.
94. Timmermans F, Plum J, Yoder MC, Ingram DA, Vanderkerckhove B, Case J. Endothelial progenitor cells: identity defined? *Journal of cellular and molecular medicine*, 2009;13(1):p.87-102
95. Tsafrir A, Brautbar C, Nagler A, Elchatal U, Miller K, Bishara A. Alloreactivity of umbilical cord blood mononuclear cells: specific hyporesponse to non-inherited maternal antigens. *J. Human Immunology*, 2000;61(6): p. 548-554
96. Ylä-Herttuala S, Rissanen TT, Vajanto I, Hartikainen J. Vascular endothelial growth factors: biology and current status of clinical applications in cardiovascular medicine. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49(10): p.1015-1026.
97. Yoshida M, Horimoto H, Mieno S, Nomura Y, Okawa H, Nakahara K, Sasaki S. Intra-arterial bone marrow cell transplantation induces angiogenesis in rat hindlimb ischemia. *J. European surgical research*, 2003;35(2): p.86-91.
98. Zhang D., Gai L., Fan R. et.al. Efficacy and safety of therapeutic angiogenesis from direct myocardial administration of an adenoviral vector expressing vascular endothelial growth factor 165. *Chin Med J (Engl)* 2002; 115: p.643-648

99. Zou Z, Zhang Y, Hao L, Wang F, Liu D, Su Y, Sun H. More insight into mesenchymal stem cells and their effects inside the body. *J.: Expert opinion on biological therapy*, 2010;10(2): p.215-230.

100. Zhong Z., Patel AN, Ichim TE, Riordan NH, Wang H. et. al. Feasibility investigation of allogenic endometrial regenerative cells. *Journal of translational medicine*, 2009;7: p.15.

101. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, Benhaim P, Lorenz HP, Hedrick MH. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *J.: Tissue engineering*, 2001;7(2): p.211-228.