

ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ АНГИОГЕНЕЗ В ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ КОНЕЧНОСТЕЙ

Каргин В.Д., Бессмельцев С.С., Солдатенков В.Е., Бураков В.В., Волошин С.В.,
Глазанова Т.В., Чубукина Ж.В.

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии
Федерального медико-биологического агентства»

Санкт-Петербург, 191024

Телефон (812) 717-44-55

Факс (812) 274-92-27

e-mail: RNIINT@mail.ru

РЕЗЮМЕ: В лечении с применением хирургической реваскуляризации и медикаментозной терапии прогрессирующих ишемических поражений нижних конечностей в настоящее время достигнут некий предел. Увеличение инвалидизации работоспособной популяции населения, обусловленной заболеваниями периферических артерий, актуализирует поиск альтернативных технологий лечения указанных заболеваний. Одним из новых направлений лечения является терапевтический ангиогенез, представляющий собой стимуляцию естественных процессов неоваскуляризации, в частности, с помощью трансплантации аутологичных предшественников эндотелиальных клеток. В данной статье рассмотрены результаты экспериментальных исследований и клинического применения клеточной терапии в лечении нарушений кровообращения дистальных сегментов конечностей.

Ключевые слова: заболевания периферических артерий, хроническая ишемия нижних конечностей, неоангиогенез, гемопоэтические стволовые клетки, костный мозг, ростовые эндотелиальные и колониестимулирующие факторы, аферез.

THE THERAPEUTIC ANGIOGENESIS IN THE TREATMENT OF THE CHRONIC ISCHEMIC DISEASES OF LOW EXTREMITIES

Kargin V.D., Bessmeltsev S.S., Soldatenkov V.E., Burakov V.V., Voloshin S.V.,
Glazanova T.V., Chebukina Zh.V.

FGBU "Russian Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of the Federal Medical and Biological Agency"

SUMMARY: Certain limit has been achieved in the treatment of progressive ischemic diseases of low extremities by means of surgical revascularization and medical drug treatment.

Diseases of peripheral arteries are associated with invalidity of hard-working population that is why the search for the alternative technologies of treatment is very actual.

The therapeutic angiogenesis by means of stimulation of natural processes of neovascularisation is one of the new and perspective directions in the treatment of the diseases of peripheral arteries.

This article presents the results of experimental studies as well as clinical implementation of cell therapy with the use of autologous transplantation of endothelial cell precursors.

Key words: diseases of peripheral arteries, chronic ischemia of low extremities, neoangiogenesis, hematopoietic stem cells, bone marrow, growth endothelial factors, colony-stimulating factors, apheresis.

Актуальность проблемы лечения прогрессирующей ишемии нижних конечностей обусловлена растущей частотой окклюзионных заболеваний периферических артерий (ОЗПА) конечностей и их социальной значимостью. Начальными стадиями ОЗПА (перемежающая хромота) в России страдает до 4 260 000 пациентов в год.

По результатам исследования Российского консенсуса по диагностике и лечению ОЗПА [1], Европейского консенсуса (1999), [2] частота критической ишемии нижних конечностей (КИНК), свидетельствующей о полной декомпенсации кровообращения, составляет 500-1000 больных на 1 млн. населения в год. По прогнозам ВОЗ, в ближайшие годы число пациентов с окклюзионными заболеваниями нижних конечностей будет возрастать в год на 5-7% с увеличением смертности с 25% до 60-70% [3].

Распространенность ОЗПА и высокая инвалидизация лиц трудоспособного возраста свидетельствуют о высокой медико-социальной значимости рассматриваемой проблемы.

До настоящего времени реконструктивно-восстановительные операции являются единственным эффективным видом лечения данной категории больных. Однако адекватная реваскуляризация артериального русла нижних конечностей на практике оказывается возможной лишь у 37- 58% пациентов [4]. Отмечается сомнительным успех изолированной хирургической реваскуляризации у пациентов с мультифокальным атеросклеротическим поражением артерий нижних конечностей [5, 6, 7].

Эффект оперативной реваскуляризации сохраняется в течение 1 года в 49-72% наблюдений при реконструкциях выше коленного сустава и лишь в 10-39% при различных вариантах дистальных шунтирований [2,6]. У пациентов с прогрессирующей ишемией конечностей при отсутствии условий для «прямой» реваскуляризации стандартная консервативная терапия малоэффективна. В ближайшие сроки от начала лечения положительный результат отмечается лишь у половины пациентов, треть больных является кандидатами на ампутацию, так как не решается главная проблема – отсутствие адекватного кровоснабжения в дистальных отделах пораженной конечности [7]. Сложилось впечатление, что в хирургическом и фармакологическом лечении хронической ишемии нижних конечностей (ХИНК) достигнут определенный предел [8,9, 10].

В связи с вышесказанным оправдан поиск более эффективных методов лечения хронической ишемии нижних конечностей при ЗПА. В настоящее время разработки ангиологии связаны с изучением «терапевтического ангиогенеза», который называют биологическим шунтированием. Одним из таких направлений является стимуляция васкулогенеза с применением клеточных и генных технологий, целью которого является улучшение перфузии ишемизированных тканей за счет роста коллатералей [9]. В последние годы были проведены исследования, которые показали, что образование кровеносных сосудов в постнатальном периоде обусловлено наличием эндотелиальных клеток-предшественники (ЭКП) в стенках сосудов [10]. Есть все основания полагать, что эти клетки-предшественники могут сохраняться на протяжении всей жизни организма и принимать участие в обновлении кровеносных сосудов [11,12,13,14], в реализации компенсаторных механизмов за счет развития коллатералей. В неоваскуляризации участвуют ЭКП с маркерами CD34+ стволовых клеток периферической крови взрослых после их мобилизации из костного мозга (КМ) [13].

Сосудистая травма или ишемия тканей активирует каскад молекулярно - генетических реакций, главным результатом которых является мобилизация из КМ и других источников

предшественников эндотелиальных клеток, обеспечивающих реваскуляризацию за счет образования новых сосудов [12,15].

Тканевая ишемия приводит к включению сосудистого эндотелиального фактора и фактора роста фибробластов (VEGF, FGF), которые связываясь с рецепторами VEGF-R2 и VEGF-R1 клеток, участвующих в неоангиогенезе, обеспечивают миграцию ЭПК в зону повреждения. VEGF оказывает митогенное действие на эндотелиальные клетки, активируя их пролиферацию и дифференцировку, реализуя, тем самым, ангиогенный эффект [15,16]. Отсюда обоснованным является создание препаратов VEGF с целью использования для индукции неоангиогенеза методом генотерапии.

В экспериментальных исследованиях показано достоверное улучшение перфузии дистального русла конечностей, развитие коллатералей, рост уровня тканевого напряжения кислорода (PO_2) по данным транскутанного мониторинга после введения стволовых клеток (СК), полученных из костного мозга, или мобилизованных эндотелиальных прогениторных клеток CD34+ периферической крови.

Таблица 1

Результаты экспериментальных исследований (моделирование ишемии перевязкой бедренной артерии)

Авторы	Вид клеток	животные	эффект
Iba O., 2002	PBMNC	крысы	формирование коллатералей
Napoli C., 2005	BMC	мыши	усиление кровотока, коллатерализация
Tacagi Y., 2005	BMC	крысы	ускорение неоваскуляризации
Kobayashi K., 2006	BMC	кролики	Повышение плотности капилляров, рост ТКРО2, заживление трофических язв
Kim S., 2006	PBMNC	мыши	коллатерализация, внедрение клеток в периваскулярное пространство
Kinnaird T. et. al, 2004	MSC	мыши	Внедрение клеток в периваскулярное пространство, улучшение кровотока

Примечание: PBMNC – МНК CD34+ мобилизованные мононуклеарные клетки периферической крови; BMC – клетки костного мозга, MSC – мезинхимальные стволовые клетки.

В моделях ишемии конечностей на животных для ангиогенеза были использованы различные типы клеток. Результаты показали, что в неоваскуляризации могут участвовать моноклеарные клетки (МНК) костного мозга [24, 25], гемопоэтические стволовые клетки [26], мобилизованные эндотелиальные прогениторные клетки [27], клетки стромы костного мозга [28]. Выявлено, что эндотелиальные прогениторные клетки внедряются в капилляры и артериолы, дифференцируются в клетки эндотелия, формируя новые сосуды.

С начала 2000 г. с целью стимуляции терапевтического ангиогенеза с применением клеточной терапии хронической ишемии нижних конечностей выполнено много пилотных, рандомизированных клинических исследований. В основном это были пациенты с критической ишемией (КИНК), у которых хирургическая реваскуляризация была не выполнима. Одними из первых пересадку аутологичных стволовых клеток в лечении КИНК применили в 2002 г. Tateishi-Yuyama E. и соавт. [29]. В пилотное рандомизированное исследование были включены 2 группы больных. Из 500 мл аспирата костного мозга пациента была выделена фракция МНК CD34+, которые были введены посредством 40 инъекций по 0,75 мл. в икроножные мышцы ишемизированной конечности с лодыжечно-плечевым индексом (ЛПИ) $< 0,6$. Число инъецированных клеток составило $0,7-2,8 \times 10^9/\text{л}$ (в среднем $1,6 \pm 0,6 \times 10^9/\text{л}$). Пациентов разделили на 2 группы. 25 пациентам первой группы с унилатеральным поражением вводили МНК, выделенные из костного мозга. На контрольных визитах от 4 до 24 недель выявлено купирование болей в покое, у 16 человек увеличение дистанции безболевого ходьбы, у 13 из 20 больных рост транскутанного напряжения PO_2 и ЛПИ. Во второй группе из 22 больных с билатеральной ишемией в икроножные мышцы одной конечности вводили МНК из костного мозга, а в мышцы другой вводили ГСК, полученные из периферической крови больного без стимуляции гранулоцитарным колониестимулирующим фактором (Г-КСФ). На стороне инъекций нестимулированных СК периферической крови, в отличие от пересадки СК костного мозга, положительных эффектов не наблюдалось, что авторы связывают с 500-кратным превышением числа введенных CD 34+ ГСК в случае применения СК костного мозга.

По результатам литературных публикаций доля CD 34+ ГСК обычно составляет от 0,6% 2,4% от общего числа пересаженных МНК. Однако в настоящее время нет убедительных данных, доказывающих корреляцию между концентратом введенных CD 34+ клеток и лечебным эффектом. Число исследований, посвященных индукции ангиогенеза при различных ишемических болезнях с применением клеточной технологии постоянно

увеличивается [30]. Ведется поиск методов прямых доказательств новообразования коллатералей при терапевтическом ангиогенезе. Миогистологическими исследованиями показана активация пролиферации и дифференцировки мышечной ткани в ишемизированной конечности после клеточной терапии [31].

В 2004 Huang. P. et al. [32] провели индукцию ангиогенеза пересадками МНК, мобилизованных в периферическую кровь посредством Г-КСФ. В исследовании приняли участие 5 пациентов с атеросклерозом артерий нижних конечностей III-IV степени. У некоторых больных имелись трофические нарушения в виде язв или гангрены пальцев стопы. Этим пациентам в течение 5 дней подкожно вводился Г-КСФ в дозе 600 мг/сутки.

С целью профилактики потенциального риска тромботических осложнений на фоне введения Г-КСФ применялся стандартный гепарин по 5000 ед/сутки. Ростовая стимуляция позволила увеличить содержание CD34+ клеток в периферической крови в 100 раз. После мобилизации из крови пациента ЭСК помощью афереза была получена суспензия 300 мл, содержащая фракцию МНК, обогащенную CD34+. Через 3 месяца у более половины пролеченных пациентов отмечалось купирование критической ишемии, ангиографически усиление коллатерального кровотока.

Важным фактом является существенное снижение количества циркулирующих эндотелиальных предшественников и их функциональной потенции лиц пожилого возраста, что вероятно следует расценивать как влияние старения организма, это обстоятельство учитывать при оценке эффективности клеточной терапии [33].

Приведенные в таблице 2 данные, подтверждают высокую ангиогенную эффективность пересадок мобилизованных Г-КСФ ГСК CD34+ периферической крови (СКПК), сравнимую с пересадками МНК CD34+ костного мозга.

Таблица 2

Результаты исследований по клиническому применению мобилизованных МНК периферической крови для лечения ЗПА

Ссылка	Исследования	Больные	ЛПИ	ТсРО ₂	Боль	А	Общий результат
Huang P., 2004 [36]	2	5 (ЗПА)	0	▲	▼		+
Kawamura A., 2005 [35]	2	30 (ЗПА, КИ)	▲	▲	▼	▼	+
Lenk K., 2005. [36]	2	7 (КИ)	▲	▲	▼		+
Huang P., 2005 [37]	1	28 (КИ, СВ)	▲	▲	▼	▼	+
Istuda A., 2005. [38]	2	6 (ОТ)	▲	▲	▼		+
Kawamura A., 2006 [39]	2	75(КИ)	▲	▲	▼	▼	+
Huang P., 2006 [40]	1	76 (ЗПА)	▲	▲	▼		+
Мавликеев М.О. и соавт., 2010 [41]	1	30 (ЗПА)					+

Примечание: ЗПА – заболевания периферических артерий; СД- сахарный диабет; ОТ - облитерирующий тромбангиит; КИ - критическая ишемия; ЛПИ - плече-лодыжечный индекс; ТсРО₂ – транскутанное напряжение О₂; А- ампутации. 1 - контролируемое; 2- неконтролируемое; ▲ – возрастание показателя; ▼ - снижение результата.

Это важное обстоятельство, так как относительная простота, доступность (по сравнению с получением ГСК из костного мозга) и эффективность являются теми критериями, которые обеспечивают перспективу внедрения лечебного метода в практику. Предпочитается преимущественно интрамускулярный, реже внутриаартериальный или сочетанный способы трансплантации [42]. С учетом окклюзии или выраженного стеноза бедренного сегмента технически выполнение пункции пораженной артерии с целью введения МНК затруднительно. К тому же при мультифокальных стенозах или окклюзиях артерий значительная часть клеточного материала за счет шунтирования будет уходить в системный кровоток, лишая ишемические проблемные зоны концентрированного насыщения регенеративным материалом.

По результатам исследований ТАСТ трехлетняя выживаемость (74 больных с ЗПА) после аутологичной клеточной терапии составила 80%, показатель сохранения конечности 60%. Неблагоприятных последствий не наблюдалось [43]. Отмечается существенное

снижение количества циркулирующих эндотелиальных предшественников и их функциональной потенции при периферическом атеросклерозе, что вероятно следует расценивать как влияние возраста пациентов и учитывать при оценке эффективности клеточной терапии [44]. Установлено снижение секреции VEGF и фактора роста гепатоцитов, мезинхимальных клеток жировой ткани человека в зависимости от возраста доноров [45].

Обосновано предположить, что у пациентов с ЗПА после 60 лет требуется более длительный режим ростовой стимуляции, в частности 5-дневный и более (практикуется обычно 3-5 суточный) по 10 мг/кг подкожно с целью мобилизации большего числа СГК и предшественников эндотелиальных клеток из костного мозга в периферическую кровь. С другой стороны, для коррекции паракринного дефицита ангиогенных факторов целесообразно сочетанное применение заместительной генотерапии препаратами VEGF. Кроме того, существуют данные о том, что лишь от 0,44% до 10% трансплантированных интрамускулярно аутологичных СГК сохраняются около 4-х суток [46, 47]. Именно в этот период для ускорения и удлинения репаративного васкулогенеза показано применение генных индукторов.

Заключение: Результаты проводимых в настоящее время клинических исследований по оценке эффективности клеточной терапии хронической ишемии с использованием аутологичных гемопоэтических стволовых клеток костного мозга или мобилизованных эндотелиальных предшественников СД 34+ из периферической крови свидетельствуют об определенной перспективности выбранной лечебной стратегии. Привлекает практическая применимость метода трансплантации СКПК. Однако для стандартизации лечебной технологии необходимо накопление результатов мультицентровых исследований.

Требуется унификация клинико-инструментальных методов оценки развития ангиогенеза. Нежелательно в фазу прогрессирующей ишемии применение инвазивных способов диагностики (биопсии в зоне пораженной зоны мышечной ткани). Транскутанный мониторинг уровня PO_2 и магнитно-резонансную томографию с ангиографической программой можно рассматривать как объективные методы тестирования эффективности биологической реваскуляризации.

Литература:

1. Савельев В.С., Кошкин В.М.- Критическая ишемия нижних конечностей // М.Медицина, 1997 - 40 с.
2. European Working Group on Leg Ischemia. Second European consensus document on chronic leg ischemia// Circ. - 1991 - Vol. 84. - P. 1-26.
3. Vascular Society of Great Britain and Ireland. //B. J. Surg. - 2007 - Vol 94. - P. 1-13.
4. ICAI Study Group, 1999 - Vol.82 - P. 1-25.
5. Покровский А.В., Зотиков А.Е. Перспективы и действительность в лечении атеросклеротических поражений аорты// М.; Медицина, 1996 – 192 с.
6. Пулин А.Г., Неваш Е.Е., Лутовинова Н.В. и др. Комплексная диагностика состояния артериальной системы нижней конечности при дистальном поражении // Ангиология и сосудистая хирургия. - 2002 - №3 - С. 133-134.
7. Dorros G., Jaff M.R., Dorros A.M. et al. Tibioperoneal (outflow lesion) angioplasty can be used as primary treatment in 235 patient with critical limb ischemia: five-year follow-up. //Circ. - 2001 - Vol. 104 - P. 2057-2062.
8. Савельев В.С., Кошкин В.М., Каралкин А.В., Тарковский А.А. Критическая ишемия нижних конечностей: определение понятия и гемодинамическая характеристика // Ангиология и сосудистая хирургия. - 1996 - №3 - С. 84-98.
9. Adam D.J., Beard J.D., Cleveland T. et al. Bypass versus angioplasty in severe ischemia of the leg (BASIL) multicentre randomised controlled trial// Lancet. 2005 - Vol. 366- P. 1925-1934.
10. Талицкий К.А. и соавт. Эффективность терапевтического ангиогенеза у больных с хронической ишемией нижних конечностей// КТТИ – 2011 - Том VI, №3 - С.89-98.
11. Asahara T., Vurohara T., Aullivan A. et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis//Science – 1997 - Vol. 275. - P. 964-967.
12. Reyes M., Dudek A., Jahagirdar B. et al. Origin of endothelial progenitor in bone marrow// Clin. Invest. – 2002. - Vol.109. - P. 337-346.
13. Folkman J. Therapeutic angiogenesis in ischemic limbs// Circ. 1998 - Vol. 97- P.1108-1110.
14. Nishikawa S.I., Hirashima M. et al.- Progressive lineage analysis by cell sorting and culture identifies FLK-EV-cadherin+cells at a diverging point of endothelial and hemopoietic lineages // 1998. - Vol. 125. - P.1747-1757.
15. Asahara., Murohara H., Takahashi T. et al. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells

- responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization// Circ. Res. – 1999. - Vol. 85. - P. 221-228.
16. Phelps E.A., Garcia A.J. Update on therapeutic vascularization strategies. //Regen Med. – 2009. - Vol. 4. - P. 65-80.
 17. Leung D.W., Cachanes G., Kuang W.J. et al. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen// Science. -1989 - Vol. 246. - P.1306-1309.
 18. Buschman I., Beyersdorf F., Lutter G. Collateral circulation (arteriogenesis)// J. Pathology. - 2000 – Vol. 190 - P. 338-342.
 19. Iba O., Matsubara H., Nozawa Y. et al. Angiogenesis by implantation of peripheral blood mononuclear cells and platelets into ischemic limbs//Circulation. - 2002 - Vol. 106. - P. 2019-2025.
 20. Napoli C., Williams-Ignarro S., de Nigris F. et al. Beneficial effect of concurrent autologous bone marrow cell therapy and metabolic intervention in ischemia induced angiogenesis in mouse hindlimb// PNAS USA. – 2005. - Vol. 102 - P. 17202-17206.
 21. Takagi Y., Omura T., Yoshiyama M. et al. Granulocyte-colony stimulating factor augments neovascularization induced by bone marrow transplantation in rat hindlimb ischemia// J. Pharmacol. Sci. – 2005. - Vol. 99. - P. 45-51.
 22. Kobayashi K., Kondo T., Inoue N., et al. Combination of in vivo angiopoietin-1 gene transfer and autologous bone marrow cell implantation for functional therapeutic angiogenesis// Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2006. - Vol. 26. - P. 1465-1472.
 23. Kinnaird T., Stabile E., Burnett M.S. et al. Marrow-derived stromal cells for enhancing disease animal model//Stem Cells. – 2006. - Vol. 24. - P. 1620-1626.
 24. Kim S.W., Han H., Chae G.T. Successful stem cell for Burger's disease and ischemic limb collateral development: mechanisms, animal data, and initial clinical experiences //Circ. Res. -2004. - Vol. 95. - P. 354-363.
 25. Kaushal S., Amiel G.E., Guleserian K.J. et al. Functional small-diameter neovessels created using endothelial progenitor cells expanded ex vivo // Nat. Med. -2001 - Vol. 7. - P. 1035-1040.
 26. Shintani S., Murohara T., Ikeda H. Et al. Augmentation of postnatal neovascularization with autologous bone marrow transplantation// Circ.- 2001 - Vol. 103 – P. 897-908.
 27. Al-Khaldi A., Al-Sabti H., Alipeau J., Lachapelle K. Therapeutic angiogenesis using autologous bone marrow stromal cells: improved blood flow in a chronic limb ischemia model//Ann. Thorac. Surg. – 2008. - Vol. 75. - P. 204-209.

28. Takahashi T., Kalka C., Masuda H., et al. Ischemia and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularisation// Nat. Med. – 1999. - Vol. 5. - P.434-438.
29. Pesce M., Orlandi A., Iachininoto M.G. et al. Myoendotelial Differentiation of human umbilical cord blood-derived stem cells in ischemic limb tissues// Circ. Res. – 2003. – Vol. 93. - P. 51-62.
30. Tateishi-Yuyama E., Matsubara H., Murohara T. et al. Therapeutic angiogenesis for patient with limb ischemia by autologous transplantation of bone marrow cells: a pilot study and randomized controlled trial // Lancet. – 2002. - Vol. 360. - P. 427-435.
31. Finney M.R., Greco N.J., Haynesworth S.E. et al. Direct comparison of umbilical cord blood versus bone marrow-derived endothelial precursor cells in mediating neovascularization in response to vascular ischemia// Biol. Blood Marrow Transpl. – 2006. - Vol. 12. - P. 585-593.
32. Мавликеев М.О., Андреева Д.И., Газизов И.М. и соавт. Регенерация мышечной ткани и активация миосателлитов при аутотрансплантации стволовых клеток периферической крови пациентам с хроническими облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей //КТТИ. – 2010. - №4. - С.79-84.
33. Huang P.P., Yang X.F., Li S.Z. et al. Randomised comparison of G-CSF- mobilised peripheral blood mononuclear cells versus bone marrow-mononuclear cells for the treatment of patients with lower limb arteriosclerosis Obliterans //Thromb.Haemost. – 2007. - Vol 98. - P. 335-342.
34. Yamamoto K., Kondo T., Suzuki S. et al. Molecular evaluation of endothelial progenitor cells in patients with ischemic limbs: therapeutic effect by stem cell transplantation. //Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2004. - Vol. 24. - P. 192-196.
35. Huang P.P., Li S.Z., Ha M.Z. et al. Autologous transplantation of peripheral blood stem cells as an effective therapeutic approach for severe arteriosclerosis obliterans of lower extremities//Thromb. Haemost. – 2004. - Vol. 791. - P. 606-609.
36. Kawamura F., Horie T, Tsuda I et al. Prevention of limb amputation in patients with limb ulcers by autologous peripheral blood mononuclear cell transplantation. // Ther. Apher. Dial. – 2005. – Vol. 9. - P.559-563.
37. Lenk K., Adams V., Lurz P. et al. Therapeutical potential of blood-derived progenitor cells in patients of peripheral arterial occlusive disease and critical limb ischaemia// Eur. Heart.J. – 2005. - Vol. 26. - P. 1903-1909.

38. Huang P., Li S., Han M. et al. Autologous transplantation of granulocyte colonystimulating factor-mobilized peripheral blood mononuclear cells improves critical limb ischemia diabetes // *Diabetes Care*. – 2005. – Vol. 28. - P. 2155-2160.
39. Istuda A., Dhya Y, Sakuda H. et al. Autologous peripheral blood mononuclear cell implantation for patients with peripheral arterial disease improves limb ischemia// *Circ. J.* – 2005. - Vol. 69. - P. 1280-1285.
40. Kawamura A., Horie H., Tsuda I. et al. Clinical study of therapeutic angiogenesis by autologous peripheral blood stem cell (PBSC) transplantation in 92 patients with critically ischemic limbs// *J. Artif. Organs*. – 2006. - Vol. 9. - P. 226-233.
41. Hudrang P.P., Yang X.F., Li S. et al. Randomised comparison of G-CSF- mobilised peripheral blood mononuclear cells versus bone marrow-mononuclear cells for the treatment of patients with lower limb arteriosclerosis obliterans // *Thromb. Haemost.* - 2007 – Vol. 98 - P. 1335-1342.
42. Мавликеев М.О., Андреева Д.И., Газизов И.М. и соавт. Регенерация мышечной ткани и активация миосателлитов при аутотрансплантации стволовых клеток периферической крови пациентам с хроническими облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей// *КТТИ*. – 2010. - №4 - С. 79-84.
43. Bartsch T., Brehm M., Zeus T. et al. Transplantation of autologous mononuclear bone marrow stem cells in patients with peripheral arterial disease (the TAMPAD study)// *Clin. Res. Cardiol.* – 2007. - Vol. 96. - P. 891-899.
44. Mutoba S., Tatsumi T., Murohara T. et al. Long term clinical outcome after intramuscular implantation of bone marrow mononuclear cells (Therapeutic Angiogenesis By Cell Transplantation [TACT] trial) in patients with chronic limb ischemia// *Am.Heart. J.* - 2008 - Vol. 156. - P. 1010-1018.
45. Шевченко Е.К., Галицкий К.А., Прафенова Е.В. Перспективы повышения эффективности генной и клеточной терапии сердечно-сосудистых заболеваний: генетически модифицированные клетки// *КТТИ*. – 2010. - №2. - С. 19-28.
46. Ефименко А.Ю., Старостина Е.Е., Калинина Н.И., Прафенова Е.В. Влияние возраста на ангиогенные свойства мезинхимальных стволовых клеток жировой ткани// *КТТИ*. – 2011. - №3. - С. 48 - 57.
47. 46. Tran N., Li Y., Mascali F. et al. Short-term heart retention and destruction of intramyocardial delivered mesenchymal cells within necrotic or intact myocardium // *Cell*

transpl. – 2006. - Vol. 5. - P. 15 –51.

48. Шойхет Я.Н., Хореев Н.Г. Клеточные технологии в лечении заболеваний периферических артерий// КТТИ. – 2011. - №3. - С. 15-23.