

ОБЗОРЫ

© Деев Р.В., Мжаванадзе Н.Д., 2013  
УДК 616.137.8/9-005.4-08

**ОСНОВНЫЕ ТЕНДЕНЦИИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО НЕОАНГИОГЕНЕЗА  
В ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ  
(ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)**

*Р.В. ДЕЕВ<sup>1</sup>, Н.Д. МЖАВАНАДЗЕ<sup>2</sup>*

ОАО «Институт Стволовых Клеток Человека», г. Москва (1)  
Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,  
г. Рязань (2)

**MAJOR TRENDS IN THERAPEUTIC NEOANGIOGENESIS  
IN TREATMENT OF CHRONIC LOWER LIMB ISCHEMIA  
(LITERATURE REVIEW)**

*R.V. DEEV<sup>1</sup>, N.D. MZHAVANADZE<sup>2</sup>*

OJSC Human Stem Cells Institute, Moscow (1)  
Ryazan State I.P. Pavlov University, Ryazan (2)

*В современной литературе искусственную индукцию новообразования сосудов принято называть терапевтическим неоангиогенезом. Данный процесс представляет собой тактику улучшения перфузии ишемизированных тканей с помощью усиления естественных процессов новообразования сосудов и регулируется сложным взаимодействием различных проангиогенных факторов. Главные направления терапевтического неоангиогенеза – это генная терапия, клеточная терапия, применение генномодифицированных клеток и постгеномные технологии (применение рекомбинантных факторов роста). Методы, использующие геннотерапевтические конструкции для индукции новообразования сосудов, являются наиболее изученными и зарегистрированными и рекомендованными к применению в ряде стран, в то время как постгеномные и клеточные технологии в лечении хронической ишемии нижних конечностей находятся большей частью в стадии экспериментальных исследований, либо 1-2а фазы клинических испытаний. Данная статья представ-*

ляет собой обзор литературы, посвященный основным тенденциям принципиально нового направления современной ангиологии и сосудистой хирургии - терапевтического неоангиогенеза.

**Ключевые слова:** терапевтический неоангиогенез, хроническая ишемия нижних конечностей, генная терапия, клеточная терапия, постгеномные технологии.

*Artificial induction of novel formation of vessels is referred to as therapeutic neoangiogenesis, i.e. a strategy of improvement of perfusion of ischemic tissues due to enhanced natural angiogenesis which is upregulated by a number of angiogenic factors. There are certain technologies used for therapeutic neoangiogenesis, such as gene therapy, cell therapy, genetically modified cell therapy and post-genomic technologies (recombinant growth factors). Genetic constructions are widely researched and are registered in several countries for treatment of chronic lower limb ischemia while cell therapy and post-genomic technologies are currently researches in experiment or phase 1-2a clinical trials. Hereby is a literature review of current trends in therapeutic neoangiogenesis.*

**Key words:** therapeutic neoangiogenesis, chronic lower limb ischemia, gene therapy, cell therapy, post-genomic technologies.

Развитие хронической ишемии, то есть состояние недостатка кислорода, является стимулом к ангиогенезу per se. У человека существует врожденная способность образовывать коллатерали, естественные шунты при артериальных гемодинамически значимых стенозах и окклюзиях. Эта способность может быть выражена по-разному, что объясняет неодинаковую реакцию на окклюзии артерий конечности у разных людей: развитие перемежающейся хромоты или асимптомное течение у одних лиц и тяжелую, вплоть до необратимой декомпенсации кровообращения у других [1, 2, 3]. Знание патогенеза хронической ишемии и факторов, ответственных за коллатеральное кровообращение и адаптацию тканей к ишемии, являются основополагающими в разработке новых методов лечения хронической ишемии нижних конечностей (ХИНК).

Терапевтический ангиогенез представляет собой направленную индукцию новообразования капилляров от посткапиллярных венул, активацию эндотелиальных клеток, экспрессию в них протеаз, деградацию внеклеточного матрикса, пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток, образование ими первичных высокопроницаемых сосудистых структур, последующую стабилизацию и aging - "взросление" этих структур с привлечением перицитов и гладкомышечных клеток и организации их в сложную трехмерную сосудистую сеть [4]. Индуцировать новообразование сосудов возможно, применяя различные методы и технологии: постгеномные, клеточные и генные. У всех из вышеперечисленных методов есть свои преимущества и недостатки, речь о которых пойдет далее.

Постгеномные технологии: исследования показали, что применение рекомбинантных факторов - сосудистого эндотелиального фактора роста VEGF [5] и основного фактора роста фибробластов FGF [6], стимулирует рост коллатеральных сосудов и способствует улучшению перфузии ишемизированных конечностей в экспериментах на животных. Первые клинические исследования у больных с ХИНК, в которых использовали вышеуказанные рекомбинантные ангиогенные факторы роста дали весьма обнадеживающие предварительные результаты [110]. Дальнейшие клинические исследования разнообразных факторов роста, включая VEGF, FGF-1, фактор роста гепатоцитов FNG в лечении больных ХИНК показали, что подобный подход является безопасным, но недостаточно эффективным: новообразованные сосуды и пролиферативные свойства несосудистых клеток были довольно сомнительными [4, 7]. Проведено крупное исследование TRAFFIC (терапевтический ангиогенез с рекомбинантным фактором роста фибробластов 2 у больных с перемежающей хромотой), результаты которого вселили некоторый оптимизм относительно возможности использования рекомбинантного FGF-2, что однако не открыло дорогу широкому применению фактору роста фибробластов 2 [4]. В исследовании RAVE (регионарный ангиогенез с помощью VEGF) положительных результатов получено не было [8]. В сфере применения рекомбинантных ангиогенных факторов роста требуются дополнительные исследования в отношении

показателей безопасности и эффективности, а также оптимизация сочетаний и режимов введения ангиогенных белков, что может в конечном итоге способствовать повышению их эффективности в лечении хронической ишемии нижних конечностей [9].

Клеточная терапия: следующее направление терапевтического ангиогенеза в лечении хронической ишемии конечностей [10, 11, 12]. Контролируемые исследования показали положительные результаты применения клеточных технологий в улучшении перфузии ишемизированных тканей, как в отношении ХИНК, так и ишемии миокарда [11, 13]. Экспериментальная клеточная терапия в разные периоды своего развития имела различные векторы: в 2004 году сообщалось об эффективности скелетных миобластов в лечении сердечно-сосудистых заболеваний, однако, несмотря на положительные результаты, широкого распространения скелетные миобласты в лечении хронической ишемии нижних конечностей не получили [14]. Большое количество (более 800) экспериментальных и клинических исследований в сфере лечения ХИНК основывались на использовании прогениторных эндотелиальных клеток (ПЭК) [15]. В условиях ишемии, созданной экспериментально, доказано увеличение числа циркулирующих ПЭК с их внедрением в капилляры и артериолы с дальнейшей дифференцировкой в клетки эндотелия с последующим новообразованием сосудов [16]. В условиях ишемии ангиогенные факторы роста (VEGF, FGF) связываются с соответствующими

щими рецепторами и обеспечивают миграцию ПЭК в зону ишемического повреждения. Не менее перспективными к использованию являются мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки, обладающие высоким пролиферативным потенциалом и способностью к самообновлению, а также способностью секретировать широкий спектр ангиогенных и антиапоптотических факторов роста [17]. Одним из перспективных направлений клеточной терапии является использование жировой ткани, полученной при выполнении липосакции, с выделением из нее клеток стромально васкулярной фракции (стромальные клетки жировой ткани), способных дифференцироваться в адипоциты, эндотелиальные клетки, хондробласты, остеобласты и миоциты [18]. Оптимистичные результаты получены в отношении использования мононуклеаров костного мозга, в свою очередь в отношении мононуклеаров периферической крови были получены обратные результаты [19]. Перспективным является использованием в стволовых клетках предшественниц пуповинной крови, обладающих высокой пролиферативной способностью [20], а также использование эндометриальных регенеративных клеток [21]. В настоящее время клеточная терапия ХИНК не вошла в клиническую практику, что связано с гибелью значительного количества клеток после трансплантации в поврежденную и ишемизированную ткань, а также трудностями в получении достаточного количества клеток для клинических целей, отсутствием данных об отдаленной безопасности.

Генетически модифицированные клетки: в настоящее время проводятся экспериментальные исследования по созданию оптимальных генетически модифицированных клеток для лечения ХИНК, что предусматривает получение и использование клеток, экспрессирующих и гиперэкспрессирующих ангиогенные факторы, что позволит в будущем уменьшить необходимую для трансплантации терапевтическую дозу клеток и повысить эффективность клеточной терапии [4].

Генная терапия: появление технологии рекомбинантной ДНК в 1990-е сделала возможным применение генной терапии. Более 15 лет проводятся экспериментальные и клинические исследования, посвященные возможности использования генетических конструкций в лечении хронической ишемии нижних конечностей [22]. Для разработки геннотерапевтических конструкций в лечении хронической ишемии используются гены наиболее известных в отношении проангиогенных свойств факторов, таких как: сосудистый эндотелиальный фактор роста, фактор роста фибробластов, гепатоцитарный фактор роста; фактор, полученный из стромальных клеток, ангиопоэтин, индуцированный гипоксией фактор-1а [23]. Наиболее мощным в отношении индукции новообразования сосудов и исследованным, как экспериментально, так и клинически, геном на данный момент является ген фактора VEGF. VEGF активирует пролиферацию и дифференцировку эндотелиоцитов, то есть влияет на развитие новых кровеносных сосудов (ангиоге-

нез) и выживание незрелых кровеносных сосудов (сосудистая поддержка). Более того, VEGF индуцирует экспрессию антиапоптотических белков bcl-2 и A1 в сосудистых эндотелиальных клетках. Таким образом, VEGF играет центральную роль в процессе ангиогенеза [24]. Исследование различных конструкций, как с вирусными векторами, так и плазмидными ДНК, несущие ген VEGF, проводились в разное время, как за рубежом, так и в России. Результаты экспериментальных и клинических исследований российских исследователей дали основание к получению в 2011 году государственной регистрации на территории России, а далее и Украины, геннотерапевтического индуктора неоангиогенеза - препарата на основе ДНК-плазмид с геном сосудистого эндотелиального фактора роста VEGF под названием «Неоваскулген». В настоящее время геннотерапевтический ангиогенез является новым подходом к лечению ХИНК, в особенности при невозможности проведения пациенту реконструктивного вмешательства на артериях нижних конечностей.

В настоящее время существует множество методов терапевтического неоангиогенеза, способствующих улучшению перфузии ишемизированных тканей. Некоторые из этих методов, такие как клеточные и постгеномные технологии, требуют продолжения экспериментальных и клинических исследований, другие – такие, как геннотерапевтическая индукция неоангиогенеза, требуют проведения крупных многоцентровых рандомизированных плацебо-контролируемых

клинических исследований эффективности и безопасности, которые определяют роль и место терапевтического неоангиогенеза в стандартизированных алгоритмах лечения хронической ишемии нижних конечностей.

### Литература

1. Национальные рекомендации по ведению пациентов с патологией артерий нижних конечностей [Текст] // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2013. – Т. 19, № 2 (Прил.). – С. 1-67.
2. Шойхет Я.Н. Клеточные технологии в лечении заболеваний периферических артерий [Текст] / Я.Н. Шойхет, Н.Г. Хореев // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2011. – Т. 6, № 3. – С. 15-23.
3. Grundmann S. Arteriogenesis: basic mechanisms and therapeutic stimulation [Text] / S. Grundmann [et al.] // Eur J Clin Invest. – 2007. – Vol. 37, № 10. – P. 755-766.
4. Парфенова Е.В. Терапевтический ангиогенез: достижения, проблемы, перспективы [Текст] / Е.В. Парфенова, В.А. Ткачук // Кардиологический вестник. – 2007. – Т. 2. – С. 5-15.
5. Therapeutic angiogenesis: a single intraarterial bolus of vascular endothelial growth factor augments revascularization in a rabbit ischemic hind limb model [Text] / S. Takeshita [et al.] // J Clin Invest. – 1994. – Vol. 93. – P. 662-670.
6. 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

[Text] / R. Baffour [et al.] // J Vasc Surg. – 1992. – Vol. 16. – P. 181-191.

7. Springer M.A. Balancing act: Therapeutic approaches for the modulation of angiogenesis [Text] / M.A. Springer // Curr Opin Invest Drugs. – 2006. – Vol. 7. – P. 243-250.

8. Rajagopalan S. Regional angiogenesis with vascular endothelial growth factor in peripheral arterial disease: a phase II randomized, double-blind, controlled study of adenoviral delivery of vascular endothelial growth factor 121 in patients with disabling intermittent claudication [Text] / S. Rajagopalan, E.R. Mohler III, R.J. Lederman // Circulation. – 2003. – Vol. 108. – P. 1933-1938.

9. Shyu K.G. Synergistic effect of angiopoietin-1 and vascular endothelial growth factor on neoangiogenesis in hypercholesterolemic rabbit model with acute hind limb ischemia [Text] / K.G. Shyu, H. Chang, J.M. Isner // Life Sciences. – 2003. – Vol. 73. – P. 563-579.

10. Гольдберг Е.Д. Современные взгляды на проблему использования стволовых клеток и возможности их использования в медицине [Текст] / Е.Д. Гольдберг, А.М. Дыгай, В.В. Жданов // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2005. – № 4. – С. 184-189.

11. Lawall H. Stem cell and progenitor cell therapy in peripheral artery disease [Text] / H. Lawall, P. Bramlage, B. Amann // Thromb. Haemost. – 2010. – Vol. 103. – P. 696-709.

12. Our top 10 developments in stem cell biology over the last 30 years [Text] / L. Armstrong [et al.] // Stem Cells. – 2012. – Vol. 30, №1. – P. 2-9.

13. Intramuscular transplantation of G-CSF-mobilized CD34(+) cells in

patients with critical limb ischemia: a phase I/IIa, multicenter, single-blinded, dose-escalation clinical trial [Text] / A. Kawamoto [et al.] // Stem Cells. – 2009. – Vol. 27, №11. – P. 2857-2864.

14. Autologous skeletal myoblasts transduced with a new adenoviral bicistronic vector for treatment of hind limb ischemia [Text] / M.I. Niagara [et al.] // J. Vasc. Surg. – 2004. – Vol. 40. – P. 774-785.

15. Endothelial progenitor cells: identity defined? [Text] / F. Timmermans [et al.] // J. Cell Mol. Med. – 2009. – Vol. 13. – P. 87-102.

16. Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction [Text] / S. Shintani [et al.] // Circulation. – 2001. – Vol. 103. – P. 2776-2779.

17. More insight into mesenchymal stem cells and their effects inside the body [Text] / Z. Zou [et al.] // Expert Opin Biol Ther. – 2010. – Vol. 10, №2. – P. 215-230.

18. Early translation of adipose-derived cell therapy for cardiovascular disease [Text] / R. Sanz-Ruiz [et al.] // Cell Transpl. – 2009. – Vol. 18. – P. 245-254.

19. Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomized controlled trial [Text] / E. Tateishi-Yuyama [et al.] // Lancet. – 2002. – Vol. 360. – P. 427-435.

20. Murohara T. Therapeutic vasculogenesis using human cord blood-derived endothelial progenitors [Text] / T. Murohara // Trends Cardiovasc Med. – 2001. – Vol. 11. – P. 303-307.

21. Allogeneic endometrial regenerative cells: An «Off the shelf solution» for critical limb ischemia? [Text] / M.P. Murphy [et al.] // J. Transl. Med. – 2008. – Vol. 6. – P. 45.

22. Gupta R. Human Studies of Angiogenic Gene Therapy [Text] / R. Gupta, J. Tongers, D.W. Losordo // Circ. Res. – 2009. – Vol. 105. – P. 724-736.

23. Belch J. Effect of fibroblast growth factor NV1FGF on amputation

and death: a randomised placebo-controlled trial of gene therapy in critical limb ischaemia [Text] / J. Belch, W.R. Hiatt, I. Baumgartner // Lancet. – 2011. – Vol. 377, № 9781. – P. 1929-1937.

24. VEGF – фактор роста эндотелия сосудов. Информация для медицинских работников. – Электрон. дан. – 2013. – Режим доступа: [http://www.vidal.ru/poisk\\_preparatov/neovasculgen.html](http://www.vidal.ru/poisk_preparatov/neovasculgen.html).

---

#### Сведения об авторах

Деев Роман Вадимович – канд. мед. наук, мед. директор ОАО «Институт стволовых клеток человека», г. Москва.

Мжаванадзе Нина Джансуговна – аспирант кафедры ангиологии, сосудистой, оперативной хирургии и топографической анатомии ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России, г. Рязань.

E-mail: [nina\\_mzhavanadze@mail.ru](mailto:nina_mzhavanadze@mail.ru).