

## ВЛИЯНИЕ КЛЕТОЧНОЙ И ГЕННОЙ ТЕРАПИИ НА ЗАЖИВЛЕНИЕ ТРОФИЧЕСКИХ ЯЗВ У ПАЦИЕНТОВ С НЕЙРОИШЕМИЧЕСКОЙ ФОРМОЙ СИНДРОМА ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ

А. А. КОЦЛОВА<sup>1,2</sup>, Т. Д. ВЛАСОВ<sup>1</sup>, В. В. ДАВЫДЕНКО<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «ПСПБГМУ имени академика И.П. Павлова», Санкт-Петербург

<sup>2</sup>СПб ГБУЗ «Городская больница №14», Санкт-Петербург

### Сведения об авторах:

**Коцлова Анна Аликовна** – очный аспирант кафедры патофизиологии с курсом клинической патофизиологии ГБОУ ВПО «ПСПБГМУ имени академика И.П. Павлова» Минздрава РФ; врач-хирург отделения лечения хирургических осложнений сахарного диабета, курирует работу Лаборатории исследований периферического кровообращения СПб ГБУЗ «Городская больница №14» - Городской Центр по лечению хирургических инфекций, г. Санкт-Петербург, e-mail: paulownia@gmail.com

**Власов Тимур Дмитриевич** – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой патофизиологии с курсом клинической патофизиологии ГБОУ ВПО «ПСПБГМУ имени академика И.П. Павлова» Минздрава РФ, г. Санкт-Петербург, e-mail: tvlasov@yandex.ru

**Давыденко Владимир Валентинович** – д.м.н., профессор, ответственный за научную работу кафедры Госпитальной хирургии №2 с клиникой ГБОУ ВПО «ПСПБГМУ имени академика И.П. Павлова» Минздрава РФ, г. Санкт-Петербург, e-mail: kuzet@mail.ru

Синдром диабетической стопы (СДС) - осложнение сахарного диабета (СД), часто встречается при нейроишемической форме, когда у больного имеется микроангиопатия и макроангиопатия, подтвержденные данными ультразвукового исследования или ангиографии. В работе проведено сравнительное исследование состояния микроциркуляции в области пораженной конечности и скорости заживления трофических язв у пациентов с нейроишемической формой синдрома диабетической стопы. Обследовано 80 больных нейроишемической формой СДС. Которые были разделены на исследовательские группы в зависимости от характера проводимого лечения: стандартное лечение – 44 пациента, стандартное лечение, дополненное инъекциями в икроножную мышцу мононуклеарной фракции клеток аутологичного костного мозга (МФАКМ) в сочетании с аппликацией на рану дермального эквивалента (ДЭ) – 28 пациентов, стандартное лечение, дополненное инъекциями в икроножную мышцу генотерапевтического препарата «неоваскулген» - 8 пациентов; и 20 здоровых лиц (контроль) для определения эталонных показателей микроциркуляции. У больных исследуемых групп изучена скорость эпителизации ран с помощью цифровой фотосъемки, перкутанное напряжение кислорода, реактивность кровотока. Дополнение стандартного лечения методами клеточной и генной терапии достоверно улучшало микроциркуляцию, оксигенацию и скорость заживления трофических язв.

**Ключевые слова:** синдром диабетической стопы, трофические язвы, диабетические язвы, сахарный диабет 2 типа, транскутанное измерение напряжения кислорода, дермальный эквивалент, стволовые клетки, генная терапия, терапевтический ангиогенез, клеточная терапия, забор костного мозга.

### Введение

По данным руководства международной рабочей группы по диабетической стопе в настоящее время наблюдается широкая распространенность и неуклонный рост числа больных сахарным диабетом (СД): в 2011 году – у 8,3%, а к 2030 году – у 9,9% населения планеты [5]. СД приводит к развитию целого ряда серьезных осложнений, одно из которых – синдром диабетической стопы (СДС), встречающийся у 25% пациентов с СД [5, 7]. СДС характеризуется возникновением хронических гнойно-некротических процессов (трофических язв) на стопе с поражением кожи, мягких тканей и костно-суставного аппарата, вследствие патологических изменений в периферической нервной системе (диабетическая нейропатия) и в сосудистой системе (диабетическая ангиопатия). При этом у всех больных СДС имеет место микроангиопатия, когда повреждается система микрососудов, а у части больных к тому же отмечается макроангиопатия – преимущественное поражение артерий голени и стопы с постепенным диффузным развитием окклюзии их просвета за счет медиакальциноза, впервые описанного Йоганном Менкебергом в 1903 г. [6, 7]. В клинической практи-

ке различают нейропатическую и нейроишемическую формы СДС. Нейроишемическая форма СДС подразумевает наличие у больного не только микроангиопатии, но и макроангиопатии, подтвержденной данными ультразвукового исследования или ангиографии.

Стандартное лечение нейроишемической формы СДС включает в себя медикаментозную терапию и сосудистую реконструкцию – как правило, эндоваскулярные вмешательства на пораженных артериях голени и стопы (баллонирование, стентирование), местное лечение трофической язвы. Однако, эффект эндоваскулярного хирургического вмешательства носит временный характер – в пределах полгода – двух лет, что объясняется диффузным характером поражения артерий и сохраняющейся микроангиопатией [10]. Заживление трофической раны при нейроишемической форме СДС часто представляет сложную задачу, из-за сохраняющихся нарушений микроциркуляции и резкого снижения местных репаративных процессов. Значительное количество пациентов (25%) с СДС, поэтому подвергаются ампутациям конечности, становясь инвалидами, а многие из них (30–40%) погибают [13] Это делает

актуальным поиск новых методов лечения при этой патологии. Одним из перспективных направлений для решения этой задачи может быть использование продуктов клеточных и генных технологий, которые появились в арсенале медицины в последнее время. Так, в целом ряде работ показана возможность улучшения перфузии тканей при СДС за счет технологии терапевтического ангиогенеза на основе использования внутримышечного/внутриартериального введения (в мышцы голени) различных клеток, чаще всего выделенной из аутологичного костного мозга мононуклеарной фракции (МФАКМ) или культивированных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) [11, 14, 24]. МФАКМ предпочтительнее ММСК [17, 19].

Применение геннотерапевтических конструкций безопасно, эффективно и достоверно по данным ангиографии демонстрирует неоангиогенез [4, 22, 23, 25, 24]. В частности, в Российской Федерации (ОАО «Институт стволовых клеток человека», Москва), был создан и в 2011 году зарегистрирован для клинического применения первый в мире лицензированный генно-терапевтический препарат с геном VEGF-A165. Этот препарат эффективен для терапевтического ангиогенеза при лечении неоперабельных форм хронической ишемии нижних конечностей [4, 27]. Для ускорения заживления трофических язв было предложено использование (апликацию на рану) тканеинженерных конструкций, являющихся эквивалентом дермы (ДЭ) или кожи [1, 16, 18, 20], которые хорошо зарекомендовали себя при лечении трофических язв венозной этиологии [1, 12, 18]. Однако, сведения об эффективности этих методов, при лечении нейроишемической формы СДС еще немногочисленны и противоречивы [15], мало изучена динамика микроциркуляции при этом, что делает актуальным дальнейшее исследование в этом направлении.

**Целью исследования** является оценка влияния клеточной терапии (МФАКМ и ДЭ) и генной терапии («Неоваскулген») на скорость заживления ран и состояние микроциркуляции в области стопы и нижней трети голени у пациентов с нейроишемической формой синдрома диабетической стопы.

#### Материалы и методы

Обследовано 80 пациентов нейроишемической формой СДС, которые были разделены на исследуемые группы в зависимости от характера проводимого лечения и 20 здоровых лиц (контроль) для определения эталонных показателей микроциркуляции. Выделяли 4 исследуемые группы: Группа А (n=20) – стандартное консервативное лечение и местное лечение ран. Группа В (n=24) – стандартное консервативное лечение, местное лечение ран и эндоваскулярная хирургическая реконструкция. Группа С (n=28) – стандартное консервативное лечение, местное лечение ран, внутримышечное введение (в мышцы голени) МФАКМ, наложение дермального эквивалента. Группа D (n=8) – стандартное консервативное лечение, местное лечение ран, внутримышечное введение (в мышцы голени) «Неоваскулген».

Распределение по полу и возрасту в каждой группе было практически идентично. По Техасской классификации степень

поражения СДС – DII-DIII, а по Вагнеру 2-4 ст. Всеми пациентами были подписаны информированные согласия при поступлении в стационар. Контрольную группу составили здоровые лица (20 человек, 9 мужчин, 11 женщин), (средний возраст 55±12 лет), которые не имели сердечно-сосудистых заболеваний и СД.

Взятие красного костного мозга (ККМ) (миелоэкспузию) в условиях общей анестезии проводили из единого доступа на задней поверхности обеих крыльев подвздошных костей с использованием трепан – иглы путем многократных проколов кости. Извлечение ККМ проводили в объеме 320±10 мл (+32 мл NaCl 0,9%/гепарин). Повязка антисептиком.

В результате седиментации получали аутоэритроциты в объеме 70±15 мл., которые затем возвращали пациенту в/в. Конечный объем МФАКМ составлял 60±10 мл. Из них CD 34+ составляли 0,56±0,4%, а NC 3,5-4,2\*10<sup>9</sup> клеток/мл.

Введение МФАКМ проводили в день забора ККМ. Временной интервал составлял 4-5 часов. Введение производили с помощью множественных (40±10) внутримышечных инъекций (игла 29G) в массив мышц голени начиная от зоны хорошего кровоснабжения, двигаясь в дистальном направлении [19].

Дермальный эквивалент (ДЭ) – комплексный биотехнологический продукт, включающий в себя культивированные *in vitro* дермальные фибробласты (ФБ) человека, заключенные в гель из коллагена первого типа. Культивирование ФБ и приготовление из них ДЭ осуществлялось в Отделе клеточных культур Института цитологии РАН, в соответствии с модифицированной методикой Bell E. (1979). Пересадка ДЭ в условиях чистой перевязочной, в асептических условиях. Транспортировка клеточных культур производилась в герметичных чашках Петри, в сосуде Дьюара, с поддержанием температуры 15°C, в максимально щадящем для клеточных культур режиме, исключая механическое и термическое воздействие. Доставку производили в день наложения ДЭ. Наложение производили в стадию очищения раны, полностью покрывая площадь раны. Накладывали асептическую повязку и следили за отсутствием соприкосновения с ДЭ и повязки, стремились к предотвращению высыхания ДЭ, поддерживали влажную среду в ране [1].

Препарат «Неоваскулген» производится ПАО «Институт Стволовых клеток человека», г. Москва. На базе Гематологического научного центра (ФГБУ ГНЦ) МЗ РФ, г. Москва. Препарат прошел все необходимые доклинические и клинические исследования, и на основании их результатов 28 сентября 2011 г. был включен в государственный реестр лекарственных средств для медицинского применения РФ. Регистрационное удостоверение на препарат получено Компанией 7 декабря 2011 г. (РУ № ЛП-000671). Он включен в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов (ЖНВЛП) для медицинского применения на 2016 год в соответствии с распоряжением Правительства РФ от 26 декабря 2015 года № 2724-р. Препарат вошел в список под группировочным наименованием Дезоксирибонуклеиновая кислота плазмидная [сверхскрученная кольцевая двуцепочечная]. Неоваскулген разработан в Ин-

ституте Стволовых Клеток Человека (ПАО «ИСКЧ», г. Москва) и является первым в мире препаратом с механизмом действия, стимулирующим терапевтический ангиогенез (лечебный рост сосудов). Препарат применяется для лечения ишемии нижних конечностей и представляет собой плазмидную ДНК, несущую человеческий ген VEGF 165, кодирующий синтез фактора роста эндотелия сосудов [4].

Измерение напряжения кислорода (TcPO<sub>2</sub>) и фотографирование для определения площади язв проводилось до начала лечения (2-3-й день госпитализации), через 2 недели и через 3 месяца после лечения.

Измерение TcPO<sub>2</sub> пораженной нижней конечности проводилось в области тыльной поверхности стопы и верхней трети голени с равномерным капиллярным ложем без крупных артерий и вен, язвенных дефектов или волосяного покрова при использовании транскутанного двухканального оксимонитора (Radiometer, Дания). Пациент во время исследования находился в положении лежа на спине в спокойном и расслабленном психоэмоциональном состоянии. Температура в помещении, в котором проводили измерение, была 21 – 23°С. Перед началом измерения проводили калибровку электрода атмосферным воздухом. Электрод устанавливался в фиксирующее кольцо на коже после предварительной обработки антисептическим раствором. Полость фиксирующего кольца предварительно заполнялась раствором электролита (2-3 капли). Затем датчик устанавливался в фиксирующее кольцо на кожу. Регистрация показателей TcPO<sub>2</sub> после установки датчика на кожу проводилась после их стабилизации через 10-15 минут и достижения температуры кожи 43°С. [2].

Площадь повреждения ран и оценку скорости эпителизации определяли с помощью фотографирования ран, в каждом кадре была сантиметровая линейка для стандартизации процесса. Оценка площади повреждения ран и скорости эпителизации проводилась в стадию очищения. Последующая обработка фотографий проводилась в программном каталоге для анализа изображений (оценка площади трофических язв) MMC Multimeter (MultiMedia Catalog) (MMC Soft, Санкт-Петербург, РФ). Этот метод является нашей разработкой и, в отличие от метода контактной планиметрии (Юпатов, 1975), [9] способствует более детальному исследованию раны, осуществляет фотодокументирование, оценивается скорость эпителизации.

Статистическая обработка данных выполнялась с использованием определения распределения на «нормальность» (тест Колмогорова-Смирнова). Если данные, не соответствовали нормальному распределению, они логарифмировались. Статистическая достоверность определялась для независимых выборок при помощи непараметрического критерия Краскелла-Уоллиса. Сравнение между тремя точками исследования (до, 2 нед., 3 мес.) для каждой группы проводилось при помощи непараметрического критерия Вилкоксона. Достоверными считались значения  $M \pm \sigma$ , при  $p \leq 0,05$ .

## Результаты

Скорость эпителизации ран, у пациентов групп С и D (0,2±0,04 и 0,3±0,02 см<sup>2</sup>/сутки, соответственно) достоверно выше ( $p < 0,05$ ), чем у пациентов группы А и В (0,08±0,02 и 0,1±0,07 см<sup>2</sup>/сутки, соответственно). Достоверное уменьшение площади раны в группе С наблюдали раньше других групп, уже через 2 недели (12±2,7 см<sup>2</sup>) после лечения. Наиболее выраженное уменьшение площади ран отмечали через 3 месяца в группах С и D (3,4±1,3 и 2,2±0,6 см<sup>2</sup>, соответственно). Между группами А и В достоверных различий не обнаружено, однако, наблюдаются достоверные различия между группами А и В в площади заживления ран (23,2±4,8 и 5,1±2,1 см<sup>2</sup>, соответственно) через 3 месяца после лечения, за счет увеличения зоны краевой эпителизации и увеличения числа грануляционной ткани, что свидетельствует об эффективности эндоваскулярной хирургической реконструкции в отличие от стандартного консервативного лечения (табл. 1).

Для определения эталонных показателей TcPO<sub>2</sub> в области тыльной поверхности стопы получили 48,1±2,1 мм рт.ст. в контрольной группе, что соответствует литературным данным [1, 19, 26]. В группе пациентов, получавших только консервативное лечение (группа А) (29,9±4,8 мм рт.ст.) через 3 месяца после лечения нет достоверных различий по сравнению с данными (26,2±4,9 мм рт.ст.), полученными до лечения. При сочетании консервативного и оперативного лечения через 3 месяца отмечались достоверные различия ( $p \leq 0,05$ ) с группой А (29,9±4,8 мм рт.ст.) во всех остальных исследуемых группах: В (38,2±6,9 мм рт.ст.), С (44±0,9 мм рт.ст.), D (47,04±2,1 мм рт.ст.). Показатели TcPO<sub>2</sub> в группах С и D достигали уровня контрольных значений через 3 месяца после лечения (табл. 2).

Для определения эталонных показателей TcPO<sub>2</sub> в области верхней трети голени получили 58,6±0,7 мм рт.ст. в контрольной группе, что соответствует литературным данным [1,19, 26]. При использовании генной терапии (группа D) (48,4±1,6 мм рт.ст.) через 2 недели после лечения отмечались достоверные различия ( $p \leq 0,05$ ) с группой А (37,4±7,4 мм рт.ст.). При сочетании консервативного и оперативного лечения через 3 месяца отмечались достоверные различия ( $p \leq 0,05$ ) с группой А (40,4±6,3 мм рт.ст.) во всех остальных исследуемых группах: В (50,4±9,2 мм рт.ст.), С (49,4±4,6 мм рт.ст.), D (57,8±3,1 мм рт.ст.). Через 3 месяца после лечения показатели в группах С и D достигали уровня эталонных показателей (табл. 3).

## Обсуждение

Известно, что факторами риска развития микро- и макроангиопатий являются гипергликемия, инсулинорезистентность и гиперинсулинемия, гипер- и дислипидемия, артериальная гипертензия, повышение свертываемости крови и агрегации тромбоцитов, снижение фибринолиза, нарушение функции эндотелия сосудов [7]. Повреждение эндотелия приводит к дефициту выработки сосудистых факторов, таких как сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), который связываясь с рецепторами (VEGF-R2 и VEGF-R1) клеток эндотелия сосудов, участвующих в неоангиогенезе, обеспечивает миграцию клеток



Таблица 1

## Площадь повреждения ран и скорость эпителизации у пациентов с нейроишемической формой синдрома диабетической стопы

Группы	S, см			Скорость эпителизации см <sup>2</sup> /сутки
	До лечения	После лечения		
		Через 2 недели	Через 3 месяца	
Группа А	31,2±5,3	27,1±4,9	23,2±4,8	0,08±0,02
Группа В	24,3±4,3	17,6±4,3	5,1±2,1	0,1±0,07
Группа С	22,4±4,6	12±2,7	3,4±1,3	0,2±0,04
Группа D	26,6±1,8	14,7±1,3	2,2±0,6	0,3±0,02
P (B-A)	0,396	0,141	0,027	0,377
P (C-A)	0,193	0,012	0,0001	0,012
P (D-A)	0,760	0,373	0,001	0,001

Обозначения: S, см – площадь; P (B-A) – статистическое сравнение группы В с группой А; P (C-A) – статистическое сравнение группы С с группой А; P (D-A) – статистическое сравнение группы D с группой А.

Таблица 2

## Транскутанная оксиметрия в области тыльной поверхности стопы при нейроишемической форме синдрома диабетической стопы

Группы	TcPO <sub>2</sub> , мм рт. ст			P (PO <sub>2</sub> 1 - PO <sub>2</sub> 2)	P (PO <sub>2</sub> 1 - PO <sub>2</sub> 3)	P (PO <sub>2</sub> 2- PO <sub>2</sub> 3)
	До лечения	Через 2 недели после лечения	Через 3 месяца после лечения			
Контроль	48,1±2,1					
Группа А	26,2±4,9	28,9±4,6	29,9±4,8	0,027	0,005	0,058
Группа В	21,2±3,9	31,4±5,7	38,2±6,9	0,0001	0,0001	0,0001
Группа С	21,9±2,9	30,4±3,8	44±0,9	0,0001	0,0001	0,0001
Группа D	17,6±1,6	35,4±0,99	47,04±2,1	0,008	0,005	0,008
P (B-A)	0,027	0,066	0,0001			
P (C-A)	0,415	0,786	0,008			
P (D-A)	0,415	0,786	0,008			

Обозначения: TcPO<sub>2</sub> – чрезкожное измерение напряжение кислорода; P (B-A) – статистическое сравнение группы В с группой А; P (C-A) – статистическое сравнение группы С с группой А; P (D-A) – статистическое сравнение группы D с группой А; P (PO<sub>2</sub>1 - PO<sub>2</sub>2) – статистическое сравнение напряжения кислорода в ткани, полученным через 2 недели после лечения с данными, зарегистрированными до лечения; P (PO<sub>2</sub>1 - PO<sub>2</sub>3) – статистическое сравнение данных, зарегистрированных через 3 месяца после лечения с данными, зарегистрированными, до лечения; P (PO<sub>2</sub>2- PO<sub>2</sub>3) – статистическое сравнение данных, зарегистрированных через 2 недели и через 3 месяца после лечения.

эндотелия в зону повреждения. Быстрое внедрение клеток в зону неоангиогенеза ускоряет восстановление сосудов, позволяет избежать потенциальных сосудистых осложнений: вторичного тромбоза и гипоксии. Восстановление кровоснабжения в ишемизированных тканях нижних конечностей зависит от баланса между образованием кровеносных и лимфатических сосудов. Применение стволовой или генной терапии стимулирует выработку VEGF, который ускоряет восстановление функции ишемизированной нижней конечности посредством увеличения скорости образования лимфатических и кровеносных микрососудов и уменьшением отека [26, 28]. Предполагается, что при клеточной терапии МФАКМ в неоваскуляризации участвуют предшественники эндотелиоцитов (ПЭ) CD34+ фракции стволовых клеток периферической крови взрослых после

их мобилизации из красного костного мозга (ККМ) [11, 25].

Критическим показателем TcPO<sub>2</sub> считается уровень менее 20 мм рт.ст. (в норме 50-80 мм рт.ст.). Благоприятное заживление ран находится в диапазоне от 20 до 55 мм рт.ст. [8]. Согласно рекомендациям TASC II, у всех пациентов с клиническими признаками и симптомами ишемии конечности регистрируются показатели TcPO<sub>2</sub> менее 30 мм рт.ст. [21]. Пациентам, которым применяли генную терапию препаратом «Неоваскулген» после 2-х недель наблюдения, наблюдали улучшение состояния микроциркуляции и уменьшение площади раны. Пациентам, которым применяли сочетание стандартной консервативной терапии, клеточной терапии МФАКМ, генной терапии препаратом «Неоваскулген» через 3 месяца после лечения отмечали улучшение состояния микроциркуляции и практически

Таблица 3

## Транскутанная оксиметрия в области верхней трети голени у пациентов с нейроишемической формой синдрома диабетической стопы

Группы	ТсРО <sub>2</sub> , мм.рт.ст			P (PO <sub>2</sub> 1 - PO <sub>2</sub> 2)	P (PO <sub>2</sub> 1 - PO <sub>2</sub> 3)	P (PO <sub>2</sub> 2- PO <sub>2</sub> 3)
	До лечения	Через 2 недели после лечения	Через 3 месяца после лечения			
Контроль	58,6±0,7					
Группа А	38,3±4,3	37,4±7,4	40,4±6,3	0,074	0,330	0,873
Группа В	37,3±6,8	36,9±6,7	50,4±9,2	0,0001	0,0001	0,0001
Группа С	36,8±3,9	44,3±1,5	49,4±4,6	0,705	0,0001	0,0001
Группа D	25,9±0,3	48,4±1,6	57,8±3,1	0,157	0,157	0,157
P (B - A)	0,011	0,013	0,0001			
P (C - A)	0,839	0,943	0,006			
P (D - A)	0,823	0,165	0,07			

Обозначения: ТсРО<sub>2</sub> – чрезкожное измерение напряжения кислорода; P (B-A) – статистическое сравнение группы В с группой А; P (C-A) – статистическое сравнение группы С с группой А; P (D-A) – статистическое сравнение группы D с группой А; P (PO<sub>2</sub>1 - PO<sub>2</sub>2) – статистическое сравнение напряжения кислорода в ткани, полученным через 2 недели после лечения с данными, зарегистрированными до лечения; P (PO<sub>2</sub>1 - PO<sub>2</sub>3) – статистическое сравнение данных, зарегистрированных через 3 месяца после лечения с данными, зарегистрированными, до лечения; P (PO<sub>2</sub>2- PO<sub>2</sub>3) – статистическое сравнение данных, зарегистрированных через 2 недели и через 3 месяца после лечения.

полное заживление язвенных дефектов. Пациентам, которым применяли только стандартную консервативную терапию, даже после 3-х месяцев наблюдения отмечали терминальные показатели ТсРО<sub>2</sub> в области тыльной поверхности стопы. В этой области значения ТсРО<sub>2</sub> определяются в большей степени проходимость передней большеберцовой артерии (ПББА) и тыльной артерией стопы (ТАС) [2]. В ходе нашего наблюдения генная терапия препаратом «Неоваскулген» оказывает ранний эффект, уже через 2 недели после введения, однако, клеточная терапия МФАКМ позже, через 3 месяца после лечения, показывает достоверные улучшения состояния микроциркуляции и заживление раневых дефектов.

#### Выводы

1. Клеточная терапия МФАКМ, ДЭ и генная терапия препаратом «Неоваскулген» улучшают показатели микроциркуляции, улучшают состояние эндотелия, стимулируют заживление язвенных дефектов.

2. Генная терапия препаратом «Неоваскулген» показывает более ранний эффект, через 2 недели после введения, в отличие от клеточной терапии МФАКМ и ДЭ, которая отвечает через 3 месяца после введения.

#### Список литературы

1. Блинова М.И., Юдинцева Н.М., Александрова О.И., Баллюзек М.Ф., Хабарова И.Г., Маркин С. М., Чагунава О.Л. Клинический опыт заживления трофических язв с использованием клеточного продукта «ЭКВИ-ВАЛЕНТ ДЕРМАЛЬНЫЙ ЭД» // Здоровье основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения. 2015. Т. 10. № 2. С. 690-694.
2. Бондаренко О.Н., Аюбова Н.Л., Галстян Г.Р., Дедов И.И. Транскутанная оксиметрия в динамическом наблюдении за пациентами с сахарным диабетом и критической ишемией нижних конечностей // Сахарный диабет. 2013. №1. С. 33-42.

3. Бублик Е.В., Галстян Г.Р. Эпидемиология и патогенетические факторы синдрома диабетической стопы у больных с терминальной стадией хронической почечной недостаточности, находящихся на диализе. // Сахарный диабет. 2007. 3. С. 10-18.

4. Гавриленко А.В., Олейник Е.М., Воронов Д.А. Отдаленные результаты применения генно-инженерных конструкций на основе сосудистого эндотелиального фактора роста VEGF165 «НЕОВАСКУЛГЕН» в комплексном лечении хронической ишемии нижних конечностей // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. 2015. Т. 8. № 3. С. 39-43.

5. Косенков А.Н., Удовиченко С. В. Хроническая критическая ишемия нижних конечностей у больных сахарным диабетом: патогенез, классификация, диагностика (обзор литературы) // Хирургическая практика. 2012. №3. С. 15-21.

6. Коцлова А.А., Волков В.А., Зинченко А.В., Митрейкин В.Ф., Давыденко В.В., Власов Т.Д. Дистантные изменения в оценке состояния микроциркуляции при нейропатической и нейроишемической формам синдрома диабетической стопы // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2015. Т.14. № 4 (56). С. 51-59.

7. Рундо А.И. Современные аспекты этиологии и патогенеза синдрома диабетической стопы // Новости хирургии. 2015. Т.23. №1. С. 97-104.

8. Рязанов А.Н., Нохрин С. П., Сорока В.В., Петриевский С. В., Белосусов Е.Ю. Значение неинвазивного исследования микроциркуляции в конечности при оценке уровня ампутации у пациентов с критической ишемией (краткий обзор литературы). // Вестник Новых медицинских технологий электронный журнал. 2014. №1. С. 45-48.

9. Савченко Ю.П., Федосов С. Р. Методы определения размеров раневой поверхности. // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. 2007. Т.166. №1. С. 102-105.

10. Смолянинов А.Б., Пыхтин Е.В., Булгин Д.В., Томонага М. Клеточные технологии в лечении терминальной стадии хронической ишемии нижних конечностей // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2007. Т. II. №3 С. 40-46.

11. Bartsch T., Brehm M., Falke T., Kögler G., Wernet P., Strauer B.E. Rapid healing of a therapy-refractory diabetic foot after transplantation of autologous bone marrow stem cells // Med. Klin. (Munich). 2005. Vol.15. №100(10). P. 676-680.

12. Curran M.P., Plosker G.L. Bilayered bioengineered skin substitute (Apligraf): a review of its use in the treatment of venous leg ulcers and diabetic foot ulcers // *BioDrugs*. 2002. Vol.16. №6. P. 439-455.
13. Doros G., Jaff M.R., Dorros A.M. et al. Tibioperoneal (outflow lesion) angioplasty can be used as primary treatment in 235 patients with critical limb ischemia: five year follow up. // *Circulation*. 2001. №104. P. 2057-2062.
14. Dubsky M., Jirkovska A., Bem R., Fejfarova V., Pagacova L., Sixta B., Varga M., Langkramer S., Sykova E., Jude E.B. Both autologous bone marrow mononuclear cell and peripheral blood progenitor cell therapies similarly improve ischaemia in patients with diabetic foot in comparison with control treatment // *Diabetes Metab. Res. Rev.* 2013. №29 (5). P. 369-376.
15. Hammer A, Steiner S. Gene therapy for therapeutic angiogenesis in peripheral arterial disease a systematic review and meta-analysis of randomized, controlled trials. // *Vasa*. 2013. Vol. 42. №5. P. 331-339.
16. Karr J.C. Retrospective comparison of diabetic foot ulcer and venous stasis ulcer healing outcome between a dermal repair scaffold (PriMatrix) and a bilayered living cell therapy (Apligraf) // *Adv. Skin Wound Care*. 2011.- Vol. 24. №3. P. 119-125.
17. Kirana S., Stratmann B., Prante C., Prohaska W., Koerperich H., Lammers D., Gastens M.H., Quast T., Negrean M., Stirban O.A., Nandreaan S.G., Götting C., Minartz P., Kleesiek K., Tschoepe D. Autologous stem cell therapy in the treatment of limb ischaemia induced chronic tissue ulcers of diabetic foot patients. // *Int. J. Clin. Pract.* 2012. Vol. 66. №4.- P. 384-393.
18. Landsman A.S., Cook J., Cook E., Landsman A.R., Garrett P., Yoon J., Kirkwood A., Desman E. A retrospective clinical study of 188 consecutive patients to examine the effectiveness of a biologically active cryopreserved human skin allograft (TheraSkin®) on the treatment of diabetic foot ulcers and venous // *Foot Ankle Spec*. 2011. Vol. 4. № 1.- P. 29-41.
19. Lu D., Chen B., Liang Z., Deng W., Jiang Y., Li S., et al. Comparison of bone marrow mesenchymal stem cells with bone marrow-derived mononuclear cells for treatment of diabetic critical limb ischemia and foot ulcer: a double-blind, randomized, controlled trial // *Diabetes Res. Pract.* 2011. vol. 92. №1. P. 26-36.
20. Marston W.A., Hanft J., Norwood P., Pollak R. The efficacy and safety of Dermagraft in improving the healing of chronic diabetic foot ulcers: results of a prospective randomized trial. // *Diabetes Care*. 2003. Vol.26. №6. p.1701-1705.
21. Norgren L, Hiatt WR, Dormandy JA, Nehler MR, Harris KA, Fowkes FG; TASC II Working Group, Bell K, Caporusso J, Durand-Zaleski I, Komori K, Lammer J, Liapis C, Novo S, Razavi M, Robbs J, Schaper N, Shigematsu H, Sapoval M, White C, White J, Clement D, Creager M, Jaff M, Mohler E 3rd, Rutherford RB, Sheehan P, Sillesen H, Rosenfield K. Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASC II). // *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2007. №33. Suppl 1. S1-75.
22. Osawa H., Orii K., Terunuma H., Abraham S.J. Combining autologous peripheral blood mononuclear cells with fibroblast growth factor therapy along with stringent infection control leading to successful limb salvage in diabetic patient with chronic renal failure and severe toe gangrene // *Int. J. Stem Cells*. 2014. Vol. 7. № 2. P. 158-161.
23. Ozturk A., Kucukardali Y., Tangi F., Eriksi A., Uzun G., Bashekim C. et al. Therapeutical potential of autologous peripheral blood mononuclear cell transplantation in patients with type 2 diabetic critical limb ischemia // *J. Diabetes Complications*. 2012. Vol.26. P. 29-33.
24. Ruiz-Salmeron R. et al. Angiographic demonstration of neoangiogenesis after intraarterial infusion of autologous bone marrow mononuclear cells in diabetic patients with critical limb ischemia // *Cell Transplant*. 2011. Vol 112. №4. P. 54-61
25. Skóra J., Baré P., Pupka A., Dawiskiba T., Korta K., Albert M., Szyber P. Transplantation of autologous bone marrow mononuclear cells with VEGF gene improves diabetic critical limb ischaemia // *Endokrynol Pol*. 2013.- Vol.64. № 2. P. 129-138.
26. Szuba A., Skobe M., Karrainen M.J. et al. Theuropic lymphangiogenesis with human recombinant VEGF C. // *Faseb J*. 2002. №16. P. 1985-1987.
27. Tateishi-Yuyama E., Matsubara H., Murohara T., et al. Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and randomized controlled trial. // *Lancet*. 2002. Vol. 360. P. 427-435.
28. Yoon Y.S, Murayama T., Gravereaux E. et al. VEGF-C gene therapy augments postnatal lymphangiogenesis and ameliorates secondary lymphedema // *J. Clin. Invest*. 2003. Vol. 111 P. 717-25.

## THE EFFECT OF CELL AND GENE THERAPY ON THE HEALING OF ULCERS IN PATIENTS WITH NEUROISCHEMIC FORM OF DIABETIC FOOT SYNDROM

A. A. KOTSLOVA<sup>1,2</sup>, T. D. VLASOV<sup>1</sup>, V. V. IDAVIDENKO<sup>1</sup>

<sup>1</sup>First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, Saint-Petersburg

<sup>2</sup>St.Petersburg City Hospital №14, Saint-Petersburg

### Information about the authors:

**Kotslova Anna Alikovna** – intramural post-graduate student of the Department of Pathophysiology with a Course of Clinical Pathophysiology, Medical University named after academician IP Spbgmu Pavlov, Ministry of Health of the Russian Federation; Surgeon separation treatment of surgical complications of diabetes, oversees the work of the Laboratory research of peripheral circulation SPb GBUZ City Hospital №14 - City Center for the treatment of surgical infections, Saint-Petersburg, e-mail: paulownia@gmail.com

**Timur Vlasov D.** – Ph.D., Professor, Head of the Department of Pathophysiology with a Course of Clinical Pathophysiology, Medical University named after academician IP Spbgmu Pavlov, Ministry of Health of the Russian Federation, St.-Petersburg, e-mail: tvlasov@yandex.ru

**Davydenko Vladimir V.** – MD, professor, responsible for the scientific work of the Department of Surgery №2 Hospital with clinic Medical University named after academician IP Spbgmu Pavlov, Ministry of Health of the Russian Federation, St.-Petersburg, e-mail: kuzet@mail.ru

Diabetic foot syndrome (DFS) is a complication of diabetes mellitus (DM), commonly found at the neuroischemic form when patients have microangiopathy and macroangiopathy confirmed by ultrasound or angiography. A comparative study of the microcirculation in the affected limb and speed healing of diabetic ulcers in patients with neuroischemic form of DFS. The study involved 80 patients with neuroischemic form of DFS. Which were divided into research groups according to the nature of the treatment: the standard treatment 44 patients, the standard treatment supplemented with injections in the gastrocnemius muscle mononuclear cell fraction of autologous bone marrow (MFABM) in combination with applique on the wound of the dermagraft – 28 patients, the standard treatment supplemented with injections in the gastrocnemius muscle of the gene-therapy drug neovascugen - 8 patients; and 20 healthy individuals (control) to determine reference parameters of microcirculation. Patients the study groups examined the rate of epithelialization of wounds using digital photography, percutaneous oxygen tension. The addition of the standard treatment methods for cell and gene therapy significantly improved the microcirculation, oxygenation and speed healing of diabetic ulcers.

**Key words:** Diabetic foot syndrome, venous ulcers, diabetic ulcers, diabetes mellitus type 2, transcutaneous oxymetry, dermagraft, stem cells, gene therapy, therapeutic angiogenesis, cellular therapy, bone marrow collection.