



Алексеев С.А.¹✉, Роговой Н.А.¹, Кривенко С.И.², Жаворонок И.П.³

¹ Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

² Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии, Минск, Беларусь

³ Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

Особенности применения клеточной терапии у пациентов с критической ишемией нижних конечностей

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Алексеев С.А., Роговой Н.А. – сбор литературы и дизайн исследования, анализ материалов, написание статьи и редактирование; Кривенко С.И., Жаворонок И.П. – сбор и анализ материалов и полученных данных, редактирование текста.

Подана: 12.05.2025

Принята: 25.09.2025

Контакты: commonsurg@bsmu.by

Резюме

Введение. Основным методом лечения хронической артериальной недостаточности, сопровождающейся синдромом критической ишемии нижних конечностей, является васкуляризация кровотока, применяемая у пациентов в 60–70% случаев. При отсутствии технической возможности одной из альтернатив является применение клеточной терапии, включающей местное использование отдельных ангиогенных факторов роста, генетических рекомбинантных препаратов, их активирующих, и стволовых клеток. При этом необходима детализация показаний, противопоказаний, путей и доз введения медицинских препаратов, относящихся к данным направлениям.

Цель. Изучить особенности клинического применения гемопоэтических и мезенхимальных стволовых клеток, препаратов генно-инженерных конструкций у пациентов с критической ишемией нижних конечностей (КИНК).

Материалы и методы. Оценены результаты имплантационного применения клеточной терапии при КИНК согласно 502 публикациям в электронных базах SCOPUS, PubMed, Science Direct, Clinical Trials от 2025 года, из которых отобраны контролируемые многоцентровые рандомизированные методы с обязательным плацебо-контролем либо включавшие сравнение двух клеточных продуктов. Оценены интегральные показатели их результативности в сутки и по итогам наблюдения в течение 2–12 месяцев и более с учетом изменения стадий или классов хронической артериальной недостаточности (ХАН), объективных критериев, в том числе ампутаций конечности и летальности.

Результаты. Введение отдельных ангиогенных факторов роста эндотелия не обладает длительным клиническим эффектом у пациентов с КИНК ввиду быстрой биодеградации при введении среднетерапевтических доз, в то время как повторное введение либо повышение концентрации сопровождалось выраженными местными и общими осложнениями. Результаты местного применения рекомбинантных генно-инженерных концентраций, за исключением препарата неоваскулген, в Российской



Федерации показали высокую частоту побочных эффектов или недостаточную эффективность при КИНК. Максимально выраженные эффекты, направленные на неоваскулогенез, были достигнуты применением двух видов стволовых клеток – мезенхимальных и гемопоэтических.

Заключение. Основные эффекты применения стволовых клеток при КИНК обусловлены встраиванием предшественников в стенку капилляров, трансформацией в зрелые эндотелиоциты; подключением резерва незадействованных коллатералей при ишемии; выраженным паракринным воздействием, созданием локального баланса про- и противовоспалительных цитокинов, разработкой и выбором конкретных клеточных препаратов, их доз, частоты и путей введения в зависимости от ситуации ХАН и длительности ишемии.

Ключевые слова: критическая ишемия нижних конечностей, клеточная терапия, стволовые клетки, неоваскулогенез, отдаленные результаты

Alekseev S.¹✉, Rogovoy N.¹, Krivenko S.², Zhavoronok I.³

¹ Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

² Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology, Minsk, Belarus

³ Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Cell Therapy Features in Patients with Critical Lower Limb Ischemia

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Alekseev S., Rogovoy N. – literature review and research design, materials analysis, text writing and editing; Krivenko S., Zhavoronok I. – collection and analysis of materials and data obtained, text editing.

Submitted: 12.05.2025

Accepted: 25.09.2025

Contacts: commonsurg@bsmu.by

Abstract

Introduction. The main treatment method for chronic arterial insufficiency accompanied by the syndrome of critical ischemia of the lower extremities is blood flow vascularization, used in 60–70% of patients. Given the lack of technical feasibility, one of alternatives is cell therapy, which includes the topical use of individual angiogenic growth factors, genetically engineered recombinant drugs that activate them, and stem cells. A detailed description of indications, contraindications, routes of administration, and doses of medicinal products related to these fields is required.

Purpose. To study features of clinical application of hematopoietic and mesenchymal stem cells and genetically engineered preparations in patients with critical limb ischemia (CLI).

Materials and methods. The results of implantable cell therapy for CLI were evaluated based on 502 publications in the SCOPUS, PubMed, Science Direct, and Clinical Trials electronic databases dated 2025, from which controlled multicenter randomized methods with mandatory placebo control or including a comparison of two cell products were selected. Integral indicators of their effectiveness per day and based on the results

of 2–12 months or more follow-up were evaluated, taking into account changes in the stages or classes of chronic arterial insufficiency (CAI), and objective criteria, including limb amputations and mortality.

Results. The administration of single angiogenic endothelial growth factors does not provide a long-term clinical effect in patients with CLI due to their rapid biodegradation when administered at medium therapeutic doses, while re-administration or increased concentrations were accompanied by pronounced local and systemic complications. The results of topical application of recombinant genetically engineered concentrations, except for Neovasculgen drug, in the Russian Federation demonstrated a high frequency of side effects or insufficient efficacy in CLI. The most pronounced effects aimed at neovasculogenesis were achieved by using two types of stem cells: mesenchymal and hematopoietic ones.

Conclusion. The main effects of stem cell application in CLI are due to precursors embedding into the capillary wall and transforming into mature endotheliocytes; activating the reserve of unused collaterals in ischemia; pronounced paracrine effects, creating a local balance of pro- and anti-inflammatory cytokines, and elaborating and selecting specific cellular products, their doses, frequency, and routes of administration depending on CAI condition and ischemia duration.

Keywords: critical lower limb ischemia, cell therapy, stem cells, neovasculogenesis, long-term results

■ ВВЕДЕНИЕ

Облитерирующие заболевания артерий нижних конечностей (ОЗАНК) характеризуются присоединением синдрома хронической артериальной недостаточности (ХАН) и встречаются у 3–10% общей популяции взрослых жителей [1]. В случае присоединения факторов риска процент заболеваемости может увеличиваться до 25–32% [2]. У 20–30% пациентов с ХАН уже через 5–7 лет развивается синдром критической ишемии нижней конечности (КИНК), что в течение ближайшего года после его установления сопровождается ампутациями конечности у 40% пациентов при 20% летальности [3].

По поводу осложнений КИНК в мире ежегодно выполняют более 2 млн ампутаций, из них в РФ 30 000–40 000, в Республике Беларусь – до 2000 операций [4].

Оптимальным выбором лечения КИНК, возникающей при IIIБ–IV стадиях ХАН, являются реконструктивно-восстановительные вмешательства путем прямой реваскуляризации, которые могут быть применены лишь у 60–70% пациентов с поражением дистального сосудистого русла [5]. В тех случаях, когда выполнение прямых реваскуляризирующих вмешательств невозможно из-за отсутствия технических условий, прибегают к непрямой васкуляризации, процент которой ограничен 12–20%, а отдаленные 2–3-летние результаты являются неудовлетворительными [6].

Альтернативой непрямой васкуляризации при ХАН является клеточная терапия [7, 8].

Ее биологическая и патофизиологическая основа состоит в ремоделировании кровеносных сосудов в постнатальном периоде за счет экзогенного поступления клеток-предшественников эндотелия в стенки сосудов, а также активации роста коллатералей в зоне ишемии [9].



Основными направлениями клеточной терапии при КИНК являются: имплантация отдельных ангиогенных факторов роста (VEGF, FGF, ГМ-КСФ, ТФР-β и др.); введение генетических рекомбинантных препаратов, созданных на основе плазмид, активирующих отдельные ангиогенные факторы [10–13]; местное введение различных видов стволовых клеток.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить особенности клинического применения гемопоэтических и мезенхимальных стволовых клеток, препаратов генно-инженерных конструкций у пациентов с критической ишемией нижних конечностей (КИНК).

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В результате клинического применения клеточной терапии при КИНК СК согласно данным электронных баз SCOPUS, PubMed, Science Direct, Clinical Trials в 2025 г., научных исследований и обзоров были включены 502 публикации. Из них были исключены 74 незавершенных клинических исследования. По результатам прочтения всех аннотаций из 428 работ были отобраны 56. Из этих работ после полного прочтения по ряду причин (отсутствие адекватной модели лечения, несоответствие диагноза, разнородность в выборках пациентов; различие по введенным дозам и путям введения используемых клеточных препаратов; различия в оценке ближайших и отдаленных результатов) исключено 31 исследование. Оставшиеся 25 исследований были включены нами в дальнейший обзор, из которых всего 10 были отнесены к контролируемым многоцентровым рандомизированным, включавшим обязательный плацебо-контроль (n=6) либо контроль по сравнению со стандартным лечением (n=4). Сравнительные исследования по оценке введения СК с помощью различных методик либо двух различных клеточных продуктов (МСК и плазмы, обогащенной тромбоцитарными факторами; МСК и эндотелиальных клеток-предвестников; МСК и Г-КСФ) приведены в 3 случаях. В остальных 7 случаях исследования не носили строго контролируемой направленности.

В абсолютном большинстве проанализированных публикаций, вошедших в представленный обзор, критериями включения явились: присутствие контрольной группы пациентов (в том числе с дополнительной группой плацебо-контроля), однократность внутримышечного введения клеточного препарата в ишемизированную конечность путем веерной имплантации из нескольких точек; техническая невозможность проведения прямой васкуляризации; определение эффективности из расчета оценки интегральных промежуточных (2–6 месяцев) и окончательных (6–12 месяцев) результатов; статистическая достоверность по отношению к группе контроля.

Интегральные показатели результативности в сроки от 2 до 12 и более месяцев наблюдения (максимально до 10 лет) включали: изменение боли в конечности в покое, увеличение дистанции безболевой ходьбы, снижение градаций стадий ХАН по Фонтейну – Покровскому либо классов по Рутенфорду, заживление имеющихся язвенных дефектов, уменьшение числа ампутаций конечности более чем в 2 раза и снижение летальных исходов.

Во всех проанализированных обзорах после введения клеточных препаратов отмечены: улучшение показателей транскутанной оксиметрии ТСО₂ и лодыжечно-плечевого индекса (ЛПЧ); 60–100% эффективность заживления язвенных дефектов

по сравнению с 0–13% в контрольной группе, снижение болевого синдрома в 70–100% наблюдений, снижение частоты ампутаций и летальных исходов на 10–25%. В ряде исследований установлена недостаточность однократного введения клеточных препаратов для достижения стойкого продолжительного эффекта. Для дополнительной визуализации кровотока у части пациентов выполнялась КТ-ангиография нижних конечностей, реже – проводилась оценка микроциркулярного русла с задействованием трехфазной сцинтиграфии, дополненная однофотонной эмиссионной компьютерной томографией (ОФЭКТ), совмещенной с КТ-ангиографией нижних конечностей. Оценка неоваскулогенеза с учетом иммуногистохимических критериев, а также оценка эндотелиальных маркеров дисфункции не проводилась.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

I. Особенности применения ангиогенных факторов и рекомбинантных биоинженерных препаратов при лечении КИНК

Рандомизированные исследования не подтвердили длительного клинического эффекта при КИНК после местного введения отдельных ангиогенных факторов – в частности клеточных факторов роста эндотелия (VEGF). Была выявлена быстрая биodeградация и реабсорбция клеточных факторов, вводимых в среднетерапевтических дозах, в то время как их повторное введение или повышение доз сопровождалось токсическими нарушениями – парезом капилляров и артериол, вазодилатацией и системной гипотензией, реже – образованием сосудистых гемангиом [14, 15].

Не получено также достоверных и однозначно положительных результатов после местного введения рекомбинантных, генетически созданных на основе плазмид человека препаратов в лечении КИНК, предложенных для применения в 1996 г. [12]. И только в единичных работах, проведенных с учетом рандомизированных плацебо-контролируемых исследований в США и странах Европы при лечении пациентов с КИНК такими рекомбинантными препаратами, содержащими ген VEGF, получено улучшение васкуляризации с учетом 15%-го роста лодыжечно-плечевого индекса (ЛПИ) и ускорения эпителизации в случаях имеющих артериальных трофических язв [16, 17]. Более существенные положительные результаты получены при лечении пациентов с окклюзионными заболеваниями интраингвинальной зоны после применения плазмидного генно-инженерного препарата неоваскулген с учетом 10-летнего срока наблюдения только в отдельных исследованиях, проведенных в РФ [18, 19]. В других работах, где использовались другие рекомбинантные генетические конструкции, например, ген роста фибробластов (FGF), отмечена высокая частота побочных эффектов или их недостаточная эффективность (опубликованные исследования «TALISMAN» и «TRAFFIC») [20, 21]. Кроме того, дальнейшие перспективы использования рекомбинантных генетических конструкций при КИНК ограничены такими их недостатками, как: повышенный риск развития ангиогенно детерминированных новообразований; отсутствие контроля за возможностью избыточного синтеза клеточных ростковых факторов, поступающих в системный кровоток реципиента [22]; появление гипериммунного ответа вплоть до анафилактического шока на белок, синтезируемый плазмидами [24].



II. Особенности применения стволовых клеток при КИНК

Основным направлением клеточной терапии при КИНК остается локальная трансплантация стволовых клеток (СК), получившая клиническое распространение в последние десятилетия [23–25].

Установлено, что максимально выраженное патогенетически направленное воздействие на неоангиогенез при окклюзионных заболеваниях артерий НК оказывают два вида СК – мезенхимальные и гемопоэтические [26].

Особенности применения гемопоэтических стволовых клеток у пациентов с КИНК. Проведенными исследованиями подтверждена основная особенность гемопоэтических клеток мононуклеарной фракции костного мозга при ишемии – возможность формирования микрососудов посредством миграции эндотелиальных клеток в периферический кровоток и далее в зоны ишемии [27–29]. Также доказано, что после развития ишемии резко увеличивается количество имплантированных клеток-предшественников [30] с последующим встраиванием их в стенку капилляров, где они дифференцируются в зрелые эндотелиоциты. Кроме того, эндотелиальные клетки-предшественники посредством выделения ими ряда ангиогенных факторов активируют микрокрушение и, в частности, резидентные до этого клетки эндотелия в ишемизированных тканях [31]. Считается, что такая активация сопровождается развитием запасных и не действующих до этого коллатеральных артериол и капилляров, которые включаются в периферический кровоток при усилении нагрузки на фоне ишемии [32]. Кроме того, любые СК, в т. ч. и гемопоэтические, при локальной трансплантации обладают выраженным противовоспалительным и иммуносупрессивным эффектами [33], так как подавляют реакции клеточного звена и имеющийся дисбаланс гуморального звена иммунитета в месте введения [34]. Учитывая данные обстоятельства, до выполнения их имплантации необходимо четкое представление о соотношении репаративных (противовоспалительных) и воспалительных процессов в ишемизированных тканях.

Кроме того, необходимо учитывать факт неоваскулогенеза посредством ветвления капилляров в мышцах; а также активацию микроциркуляции в участках антерогенного поражения сосудов либо потенциальный риск появления тромбоэмболических последствий [35] из-за повышенной адгезивности СК в случаях повышения их концентрации [36].

Особенности применения мезенхимальных стволовых клеток у пациентов с КИНК. Мезенхимальные СК представляют собой плюрипотентные клетки, выделенные из стромы различных тканей (костного мозга, скелетных мышц, жировой ткани (стромальные клетки жировой ткани – СКЖТ)). С трансплантацией СКЖТ, локализованных в стенках артериол и капилляров [37], экспрессирующих поверхностные антигены и обладающих плюрипотентностью (способностью к дифференцировке как в клетки мезодермы, так и в кардиомиоциты и эндотелиальные клетки), связывают перспективу в репаративных технологиях при тканевых повреждениях [38].

Кроме того, имплантация СКЖТ способствует образованию ангиогенно-адипозных центров [39], стимулирующих выработку широкого спектра как активаторов ангиогенеза, так и ингибиторов. В их числе – ингибитор активации плазминогена, молекулы тромбоспондина и эндостатина [40]. Опытами *in vitro* доказано, что активация ангиогенеза за счет СКЖТ при КИНК обусловлена рядом механизмов: паракриной регуляцией и секрецией ангиогенных факторов [41]; встраиванием их в сосуды

с дальнейшей дифференцировкой в артериальном направлении [42]; активацией синтеза нейротрофических факторов (NGF; BDNF; GDNF), стимулирующих нервные волокна и рецепторы; иммуносупрессивным эффектом за счет отсутствия HLA-DR, что имеет существенное значение при аллогенной трансплантации.

Особенности активности СК в зависимости от путей и места введения. Экспериментальными исследованиями, в т. ч. с применением «радиометок», подтверждено распределение мезенхимальных СК в тканях после их интраваскулярного и внутривенного введения. При этом установлено, что СК задерживаются после этих видов введения на 92% на прекапиллярном уровне сосудистой сети, однако в 50–60% могут сопровождаться вторичной блокадой микроциркуляторного русла [43].

При сравнительном анализе в экспериментах через 1 час после интракардиального введения доза гемопоэтических СК составляет только около 11% от введенной, после интракоронарного введения при активном кровотоке снижается до 2–3% [44].

Наиболее оптимальные результаты получены при внутримышечном введении, по сравнению с миокардиальным, в икроножные мышцы голени мышей. В этих тканях даже через 24 часа сохранилось до 50–70% от введенной дозы СКЖТ, а через 7 суток – уже 5–10% [45]. Также подтвержден факт того, что аллотрансплантация, по сравнению с ксенотрансплантацией, резко увеличивает сохранность МСК. Экспериментально выявлены незначительные различия в сохранности имплантированных клеток как в нормальных, так и в ишемизированных мышцах, что позволяет рекомендовать их применение при КИНК.

Первые результаты клинического применения аутологических гемопоэтических СК при лечении КИНК опубликованы коллективом сотрудников японского университета Кансай в 2002 г. [46]. Авторы через 1 месяц и затем на протяжении последующих 6 месяцев после местной имплантации в ишемизированные мышцы пациентов отметили уменьшение выраженности болевого синдрома на фоне увеличения дистанции безболевой ходьбы и уровня парциального давления кислорода в тканях. Детальный метаанализ использования клеточной терапии при окклюзионных заболеваниях периферических артерий в 2010 г. привел G.P. Fadini и соавт. [47], исходя из 108 публикаций, 42 из которых составили контролируемые исследования. В 38 случаях авторами были детально рассмотрены результаты клеточной терапии, в трех – применение гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ), еще в одном – сравнение имплантации Г-КСФ и СК.

Для изготовления гемопоэтических СК наиболее часто использовали аферез мононуклеарной фракции клеток костного мозга (МФККМ) либо из периферической крови после предварительного введения в течение 4–5 суток Г-КСФ в дозе 200–4900 мг. Данная методика обуславливала дополнительную мобилизацию СК в периферическую кровь из костного мозга. Реже для активации ростковых и репаративно-регенераторных факторов при КИНК применяли изолированную местную имплантацию Г-КСФ, способствующую мобилизации в кровяной ток гемопоэтических СК.

Для введения СК использовали три метода введения – непосредственно в область икроножных мышц голени из 10–30 точек [48], в бедренную артерию или сочетанное их применение.

Средняя доза имплантированных гемопоэтических СК и МФККМ составила соответственно $5,0 \pm 2,48 \times 10^7$ и $3,56 \pm 2,81 \times 10^9$ КОЕ. Ближайшими точками исследования служили: отсутствие или уменьшение болевого синдрома в покое; увеличение



дистанции безболевой ходьбы; показатели тредмил-теста; объективные критерии повышения лодыжечно-плечевого индекса (ЛПИ) и транскутанно измеренного парциального давления кислорода; особенности визуализированного сосудистого русла после компьютерной ангиографии или магнитно-резонансной томографии. Отдаленными результатами явились сроки заживления трофических язв, сохранение конечности либо ампутация в течение 6 месяцев после трансплантации.

Установлено, что практически все случаи использования любых видов биоклеточных препаратов являются эффективными. В отдельных работах подтверждена результативность после введения МФКМ с удовлетворительным применением Г-КСФ как более высокая, чем после введения СК. Также в отдельных случаях отмечена разноточная эффективность монотерапии Г-КСФ и МФКМ.

В единичных публикациях приведены данные о низкой эффективности введения МФКМ или выделенных из них гемопоэтических СК на заживление трофических язв у пациентов с КИНК [49].

Дальнейшие плацебо-контролируемые исследования и тщательно проведенный метаанализ подтвердили, что результаты лечения пациентов с развившимися трофическими нарушениями при КИНК статистически не различались после внутриартериального и внутримышечного путей имплантации клеточных продуктов. Вместе с тем после многолетних исследований появился и ряд публикаций, отражающих некоторые отрицательные аспекты применения гемопоэтических СК при КИНК, обусловленных особенностями забора костного мозга (болевыми ощущениями, анемия легкой степени) и побочными реакциями на их введение (включающими лихорадку, миалгию, остеоартралгию, боль за грудиной, фибрилляции желудочков, кровоизлияния в сетчатку глаза, реже – присоединение анафилактического шока) [50].

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Клеточная терапия у пациентов с КИНК – перспективное направление лечения в случаях отсутствия возможностей выполнения прямых реваскуляризирующих вмешательств.

Основными эффектами имплантированных СК при КИНК являются: возможность встраивания экзогенных эндотелиальных клеток-предшественников в стенку капилляров с последующей трансформацией в зрелые эндотелиоциты; подключение резерва функционально не задействованных коллатералей на III–IV стадиях ишемии вследствие выраженного паракринного эффекта; создание необходимого баланса про- и противовоспалительного цитокинов в клетках ишемизированных тканей.

Опубликованные результаты исследований свидетельствуют о достижении в абсолютном числе случаев клинического улучшения состояния, возможности заживления трофических дефектов, уменьшении числа ампутаций конечности и снижении летальности при наличии минимального количества осложнений и нежелательных реакций.

В литературе отсутствуют полноценные исследования, где была бы приведена оценка безопасности клеточной терапии в отдаленном периоде (через несколько лет после введения). Кроме того, учитывая наличие выраженных кардиоваскулярных факторов риска из-за имеющейся коморбидной патологии у пациентов с КИНК после клеточной терапии необходим дополнительный анализ появления тромбогемокоагуляционных и других видов осложнений.

Также остается не до конца решенной проблема определения выбора конкретного клеточного биопрепарата, расчет его дозы, исходя из массы тела, частоты и путей введения в зависимости от стадии ХАН и длительности заболевания КИНК.

Отсутствуют клинические протоколы проведения клеточной терапии при КИНК с учетом местной имплантации различных видов стволовых клеток (МСК, СКЖТ, гемопоэтических), препаратов генно-инженерных конструкций, отдельных комбинаций клеточных факторов либо многокомпонентных препаратов с включением прогениторных клеток, которые бы способствовали выработке необходимых трофических и ростковых факторов.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Catalano M. Epidemiology of critical limb ischemia: north Italian data. *Eur. J. Med.* 1993;2(1):11–14.
2. Samodov V., Parkhisenko Yu. *Non-standard surgery for critical ischemia of lower extremities*. M: MIA; 2009;240. (in Russian)
3. Pokrovsky A., Kazakov Yu., Lukin I. *Critical ischemia of the lower extremities. Infra-lingual lesion*. Tver: Ed.-publishing Center of Tver State University. 2018;225. (in Russian)
4. Yanushko V., Pisachkin D., Turlyuk D., Ladygin P. *Critical ischemia of the lower extremities*. Mn.: Biznesofset; 2014;232. (in Russian)
5. *International vascular guidelines for the treatment of chronic limb-threatening ischemia*. Moscow. 2019;160. (in Russian)
6. Sukovatykh B., Orlova A., Artyushkova E. Effectiveness of treatment of critical lower limb ischemia by indirect revascularization methods. *Angiology and vascular surgery*. 2020;26(2):34–39. (in Russian)
7. Kapustin M., Burnos S. The use of stem cells for the treatment of patients with critical lower limb ischemia. *Bulletin of Surgery named after I.I. Grekov*. 2015;174(1):104–108. (in Russian)
8. Orekhov P., Troitskiy A., Chupin A. Biological aspects and clinical use of stem cells in critical lower limb ischemia. *Angiology and vascular surgery*. 2018;24(2):19–30. (in Russian)
9. Pyko I. Bone marrow mesenchymal stem cells: properties, functions, and the possibility of use in regenerative and restorative therapy. *Medical Journal*. 2007;4:11–14. (in Russian)
10. Isner J.M., Walsh K., Symes J. Arterial gene transfer for therapeutic angiogenesis in patients with peripheral artery disease. *Hum. Gene Ther.* 1996;7(8):959–988.
11. Khan T.A., Sellke F.W., Laham R.J. Gene therapy progress and prospects: therapeutic angiogenesis for limb and myocardial ischemia. *Gene Ther.* 2003;10:285–291.
12. Manlik N. NV1FGF, a pCO₂ plasmid-based angiogenic gene therapy for the treatment of intermittent claudication and critical limb ischemia. *Current opinion in investigational drugs*. 2009;10(3):259–268.
13. Rajagopalan S., Mohler E.R., Lederman R.J., Mendelsohn F.O., Saucedo J.F., Goldman C.K. 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. *Circulation*. 2003;108:1933–1938.
14. Marknien K., Mannien H., Hedman M., Matsi P., Musalo H., Alhava E. Increased vascularity detected by digital subtraction angiography after VEGF gene transfer to human lower limb artery: a randomized, placebo-controlled, double-blinded phase ii study. *Mol. Ther.* 2002;6:127–133.
15. Isner J.M., Walsh K., Symes J. Arterial gene transfer for therapeutic angiogenesis in patients with peripheral artery disease. *Hum. Gene Ther.* 1996;7(8):959–988.
16. Kusumanto Y.H., Van Weel V., Mulder N.H., Smit A.J., Van den Dungen J.J., Hooymans J.M. Kusumato 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;17:683–691.
17. Testa U., Pannitteri G. Vascular endothelial growth factors in cardiovascular medicine. *Cardiovasc Med.* 2008;8(12):1190–1221.
18. Chervyakov Yu., Staroverov N., Mosyuvsky I., Lonchakova M., Istomin A. Ten-year results of conservative treatment of patients with atherosclerosis of the arteries of the infrainguinal zone using a plasmid genetically engineered structure based on VEGF-165. *Cardiology and cardiovascular surgery*. 2024;17(1):94–101. (in Russian)
19. Chugan G.S., Lundup A.V., Bondarenko O., Galstyan G.R. The use of cellular preparations for the treatment of critical lower limb ischemia in patients with diabetes mellitus: a review of the literature. *Problems of endocrinology*. 2024;70(4):4–14. doi: 1014341 prol. 13481 (in Russian)
20. Comerota A.J., Throm R.C., Miller K.A., Henry T., Chronos N., Laird J. Niced plasmid DNA encoding fibroblast growth factor type 1 for the treatment of end-stage unreconstructible lower extremity ischemia: Preliminary results of a phase I trial. *J. Vasc. Surg.* 2002;35:930–936.
21. Leppänen P., Kholová I. Short and long-term effects of hVEGF-A165 in creactivated transgenic mice. *Plos One*. 2006;1:13.
22. Tang D.C., DeVit M., Johnston S.A. Genetic immunization is a simple method for eliciting an immune response. *Nature*. 1992;356:152–154.
23. Palteev A. (ed.) *Biology of stem cells and cellular pathologies*. Moscow: Medicine. 2009;2:75–96. (in Russian)
24. Streckfuss-Bomeke K., Wolf F., Azizian A. Comparative study of human-induced pluripotent stem cells derived from bone marrow cells, hair keratinocytes, and skin fibroblasts. *European heart J.* 2012;33:21–22.
25. Lawall H., Bramlage P., Amman B. Stem cell and progenitor cell therapy in peripheral artery disease. *Tromb. Haemost.* 2010;103:696–709.
26. Armstrong L., Lako M., Buckley N., Lappin T.R., Murphy M.J., Nolte I.A. Our top 10 developments in stem cell biology over the last 30 years. *Stem Cells*. 2012;30(1):2–9.
27. Takahashi T., Kalka C., Masuda H., Chen D., Silver M., Kearney M. Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat. Med.* 1999;5:434–438.
28. Shintani S., Murohara T., Ikeda H., Ueno T., Sasaki K., Duan J., Imaizumi T. Augmentation of postnatal neovascularization with autologous bone marrow transplantation. *Circulation*. 2001;103:897–903.



29. Chu K., Kim J.J., Chae S.H., Jeong S.W., Kang K.S., Jung K.H. Distribution and in situ proliferation patterns of intravenously injected immortalized human neural stem-like cells in rats with focal cerebral ischemia. *Neurosci. Res.* 2004;50(4):459–465.
30. Kalka C., Masuda H., Takahashi T., Kalka-Moll W., Silver M., Kearney M. Transplantation of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000;97:3422–3427.
31. Kamihata H., Matsubara H., Nishiue T., Fujiyama S., Tsutsumi Y., Ozono R. Implantation of bone marrow mononuclear cells into ischemic myocardium enhances collateral perfusion and regional function via side supply of angioblasts, angiogenic ligands, and cytokines. *Circulation.* 2001;104:1046–1052.
32. Asahara T., Murohara T., Sullivan A., Silver M., van der Zee R., Li T. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science.* 1997;275:964–967.
33. Waterman R.S., Betancourt A.M. Treating Chronic Pain with Mesenchymal Stem Cells: A Therapeutic Approach Worthy of Continued Investigation. *Journal of Stem Cell Research & Therapy.* 2011;2:1–9.
34. Samodai V., Parkhisenko Yu., Ivanov A. *Non-standard surgery of clinical ischemia of the lower extremities.* M.: Medical Information Agency. 2009;240. (in Russian)
35. Dimmlee S., Zeiher A.M. Vascular repair by circulating endothelial progenitor cells: the missing link in atherosclerosis? *J. Mol. Med.* 2005;82: 671–677.
36. Ogawa R., Oki K., Hyakusoku H. Vascular tissue engineering and vascularized 3D tissue regeneration. *Regenerative Medicine.* 2007;2(5):831–837.
37. Lin G., Garcia M. Defining stem and progenitor cells within adipose tissue. *Stem Cells. Dev.* 2008;17(6):1053–1063.
38. Zurk P.A., Zhu V., Ashjian P., De Ugarte D.A., Huang C.J., Mizuno H. Human stem cells. *Mob. Biol. Cell.* 2002;13:4279–4295.
39. Peroni D., Scambi J., Pasini A., Lisi V., Bitani F., Krampera M. Stem molecular signature of adipose-derived stromal cells. *Exp. Cell. Res.* 2008;314: 603–615.
40. Neon M.H., Kim S.J., Kim J.J., Kim S.J., Lee J.B., Bac J.C. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells improve postnatal neovascularisation in a mouse model of hindlimb ischemia. *Cell Physiol. Biochem.* 2006;17:279–290.
41. Planat-Benard V., Menard C., Andre M., Puceat M., Perez A., Garcia-Vrdugo J.M. Spontaneous cardiomyocyte differentiation from tissue stromal cell. *Circ. Res.* 2004;94:223–229.
42. Toma C., Wagner W.R., Boury S., Schwartz A., Villanueva F. Fate of cultured-expanded mesenchymal stem cells in the microvasculature: in vivo observation of cell kinetics. *Circ. Res.* 2009;104(3):398–402.
43. Furlani D., Ugurlucur M., Org L., Bieback K., Pittermann E., Westien J. Is the intravascular administration of mesenchymal stem cells safe? Mesenchymal stem cells and intravital microscopy. *Microvasc. Res.* 2009;77(3):370–376.
44. Li S.H., Lai T.J. Tracking cardiac engraftment and distribution of implanted bone marrow cells: Comparing intra-aortic, intravenous and intramyocardial delivery. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2009;137(5):1225–1233.
45. Tkachuk V. (ed.) *Autologous stem cells. Experimental research and prospects of clinical application: a guide for doctors.* Moscow: Litera. 2009;448. (in Russian)
46. Tateishi-Yuyama E., Matsubara H., Murohara T., Ikeda U., Shintani S., Masaki H. Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomised controlled trial. *Lancet.* 2002;360(9331):427–435.
47. Fadini G.P., Agostini C., Avogaro A. Autologous stem cell therapy for peripheral arterial disease meta-analysis and systematic review of the literature. *Atherosclerosis.* 2010;209(1):10–17.
48. Sugihara S., Yamamoto Y., Matsubara K. Autoperipheral blood mononuclear cell transplantation improved giant ulcers due to chronic arteriosclerosis obliterans. *Heart Vessels.* 2006;21:258–262.
49. Van Royen N., Ubbink D., Buschmann E.E. SMART Trial: a pilot study on stimulation of arteriogenesis using subcutaneous application of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor as a new treatment for peripheral vascular disease. *Circulation.* 2005;112:1040–1046.
50. Arai M., Misao I., Nagai H., Sogawa I., Sawabe H., Higa I. Quality of the improvement and long term effects of peripheral blood mononuclear cells transplantation for severe arteriosclerosis obliterans in diabetic patients on dialysis. *Circ. J.* 2007;71:1193–1198.