

На правах рукописи

КРЫЛОВ АНДРЕЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ

**СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ЛЕЧЕНИЮ ПАЦИЕНТОВ
С КРИТИЧЕСКОЙ ИШЕМИЕЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ
АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОГО ГЕНЕЗА
ПРИ ФОНОВОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ**

14.01.26 – сердечно-сосудистая хирургия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Рязань – 2018

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент **Сучков Игорь Александрович**

Научный консультант:

кандидат медицинских наук **Деев Роман Вадимович**

Официальные оппоненты:

Кудыкин Максим Николаевич – доктор медицинских наук, Общественная организация «Ассоциация ангиологов, флебологов и сосудистых хирургов Нижегородской области», исполнительный директор.

Кательницкий Иван Иванович – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра хирургических болезней № 1, заведующий кафедрой.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тверской государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «06» июля 2018 года в 12.00 на заседании объединенного диссертационного совета Д 999.052.02, созданного на базе ФГБУ «Национальный медико-хирургический Центр им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, ГБУЗ Московской области «Московский областной научно-клинический институт им. М.Ф. Владимирского» (по адресу: 105203, Москва, Нижняя Первомайская, 70).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института усовершенствования врачей ФГБУ «Национальный медико-хирургический Центр им. Н.И. Пирогова» Минздрава России (по адресу: 105203, Москва, Нижняя Первомайская, 70) и на сайте www.pirogov-center.ru

Автореферат разослан «_____» _____ 2018 года

Ученый секретарь объединенного
диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор

Матвеев Сергей Анатольевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Сердечно - сосудистые заболевания (ССЗ) являются основной причиной смерти во всем мире. Ежегодно в России от ССЗ умирает более 1 млн 200 тысяч человек, из них – около 100 тысяч человек трудоспособного возраста [Всемирная организация здравоохранения, 2015]. Хроническая ишемия нижних конечностей (ХИНК) в 85-90% случаев возникает по причине атеросклеротического поражения периферических артерий [N.W. Shamma et al., 2007]. Прогрессирующее поражение сосудов приводит к постепенному уменьшению проходимого расстояния и появлению болей покоя – критической ишемии нижних конечностей (КИНК), являющейся предиктором возникновения трофических нарушений и требующей решения вопроса об оперативном вмешательстве.

Сахарный диабет (СД) во всем мире признан одним из наиболее важных неинфекционных заболеваний, распространенность которого приобрела характер пандемии [О.В. Маслова и др., 2011]. СД повышает риск развития заболеваний артерий нижних конечностей в 2-4 раза, имеется у 12-20% пациентов с патологией периферических артерий и служит фактором, ухудшающим отдаленные результаты артериальных реконструкций при ишемии конечности [L. Prompers et al., 2008].

Методом выбора для лечения пациентов с КИНК является оперативное вмешательство, а наиболее удовлетворительные результаты лечения получены у пациентов, которым проводилась прямая реваскуляризация с помощью открытых, либо эндоваскулярных методик [А.В. Покровский и др., 2017]. Несмотря на многочисленные способы лечения критической ишемии нижних конечностей, объем оперативного пособия при поражении дистальных сосудов крайне ограничен, а консервативная терапия обеспечивает эффект в пределах не более нескольких месяцев [В. Toursarkissian et al., 2003]. К сожалению, лишь половине пациентов с верифицированным диагнозом проводится реваскуляризация конечности, 25% получают консервативное лечение, остальным выполняют первичную ампутацию [Национальные рекомендации по ведению пациентов с патологией артерий нижних конечностей, 2013].

Одним из дополнительных методов лечения является стимуляция эндогенных процессов ангиогенеза [М. Zhang et al., 2008; Л.А. Бокерия и др.,

2011]. Клинические исследования препарата на основе VEGF-165 показали отсутствие побочных и нежелательных явлений и продемонстрировал хорошие результаты лечения у пациентов со IIА- III стадией заболевания по классификации А.В. Покровского-Фонтейна [Л.А. Бокерия и др., 2013; Р.В. Деев и др, 2017]. В то же время отсутствуют данные о результатах лечения КИНК на фоне СД с использованием терапевтической индукции. Нет сравнения эффективности стандартной сосудистой терапии в монокомпоненте и её сочетания с генной индукцией неоангиогенеза у этой группы больных. Учитывая вышеизложенное, актуальным видится решение вопроса о включении в стандартные схемы лечения пациентов с КИНК и СД методики терапевтического ангиогенеза для оценки возможного улучшения кровообращения в ближайшем и отдаленном периоде. Таким образом, выбранная тема исследования является актуальной проблемой лечения больных с критической ишемией нижних конечностей атеросклеротического генеза при фоновом сахарном диабете.

Цель исследования: улучшение результатов лечения пациентов с критической ишемией нижних конечностей атеросклеротического генеза при фоновом сахарном диабете.

Задачи исследования

1. Оценить эффективность применения геннотерапевтической индукции ангиогенеза для заживления модельных дефектов кожи (язв) экспериментальных животных на фоне искусственной гипергликемии.

2. Провести оценку безопасности и эффективности комплексного подхода, включающего в себя стандартную консервативную терапию с дополнительной геннотерапевтической индукцией ангиогенеза в лечении пациентов с критической ишемией нижних конечностей атеросклеротического генеза при фоновом сахарном диабете.

3. Выявить результаты комбинированного подхода к лечению пациентов с КИНК и СД, сочетающего в себе реваскуляризацию пораженной конечности с послеоперационной геннотерапевтической индукцией ангиогенеза.

4. Сравнить эффективность включения генной индукции ангиогенеза в различные варианты лечения пациентов с критической ишемией нижних конечностей атеросклеротического генеза при фоновом сахарном диабете.

5. Сформировать алгоритм ведения пациентов с критической ишемией нижних конечностей при фоновом сахарном диабете с позиции возможности дополнительной стимуляции ангиогенеза.

Научная новизна

1. Впервые проведено экспериментальное исследование динамики заживления индуцированных язвенных дефектов у животных на фоне стойкой гипергликемии под воздействием генно-терапевтического индуктора VEGF-165.

2. Впервые в составе комплексного и комбинированного лечения пациентов с критической ишемией нижних конечностей атеросклеротического генеза и сахарным диабетом, применялась геннотерапевтическая индукция неоангиогенеза.

3. Впервые произведено сравнение безопасности и эффективности современных подходов к лечению вышеуказанной категории пациентов для определения оптимальной тактики ведения пациентов.

Научно-практическая значимость работы

1. Проведенная оценка эффективности дополнительной генной стимуляции ангиогенеза для лечения пациентов с критической ишемией нижних конечностей при фоновом сахарном диабете позволяет расширить подходы к лечению пациентов данной группы.

2. Сравнение эффективности включения геннотерапевтической индукции в состав комбинированного и комплексного лечения позволило сформировать оптимальную тактику ведения больных с данной нозологией.

3. Результаты исследования позволяют расширить показания к применению препарата на основе pVEGF-165 не только для II-III стадии хронической ишемии по классификации А.В. Покровского-Фонтейна, но и для лечения критической ишемии, диабетической ангиопатии и улучшения динамики заживления язвенных дефектов.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту

1. Геннотерапевтическая стимуляция ангиогенеза препаратом на основе плазмиды с геном VEGF-165 позволяет улучшить результаты лечения пациентов с критической ишемией нижних конечностей атеросклеротической этиологии при фоновом сахарном диабете как в составе комбинации с оперативным вмешательством, так и в составе комплексной консервативной терапии.

2. Оптимальной тактикой ведения пациентов с критической ишемией нижних конечностей на фоне сахарного диабета является проведение прямой реваскуляризации с послеоперационной генной индукцией ангиогенеза.

3. Результаты консервативной терапии в сочетании с генной индукцией ангиогенеза у пациентов с критической ишемией нижних конечностей на фоне сахарного диабета сопоставимы с результатами хирургического лечения.

4. Геннотерапевтическая индукция ангиогенеза плазмидной конструкцией pVEGF-165 не вызывает развития местных и системных воспалительных реакций, а также нежелательных побочных явлений и является безопасным методом лечения.

Внедрение результатов исследования в практику и учебный процесс

Основные положения диссертации внедрены в клиническую практику и лечебный процесс отделений сосудистой хирургии ГБУ РО «Областной клинический кардиологический диспансер» и ГБУЗ МО «Коломенская ЦРБ», отделений гнойной хирургии ГБУ РО «Областная клиническая больница» и ГБУ РО «Больница скорой медицинской помощи», а так же в учебный процесс кафедры сердечно-сосудистой рентгенэндоваскулярной, оперативной хирургии и топографической анатомии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

Апробация работы

Основные результаты диссертационной работы были доложены и обсуждены на VIII и IX Всероссийской научно-практической конференции с Международным участием: «Актуальные вопросы диагностики, лечения и профилактики синдрома диабетической стопы» (Казань, 2016 и 2017); XXI Ежегодной сессии НЦССХ им А.Н. Бакулева РАМН (Москва, 2017); XXXIII Международной конференции Российского Общества ангиологов и сосудистых хирургов (Сочи, 2017); Междисциплинарной межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Комплексный подход к лечению язвенно-некротических поражений конечностей сосудистого генеза» (Челябинск, 2017); Первом Съезде хирургов Центрального федерального округа Российской Федерации (Рязань, 2017); XXIII Всероссийском съезде сердечно-сосудистых хирургов (Москва, 2017).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 28 печатных работ, из них 5 в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России для публикации научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 173 страницах и включает следующие разделы: оглавление, список сокращений, введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственного исследования (экспериментальная и клиническая часть) и их обсуждение, заключение, выводы, практические рекомендации, список использованной литературы, включающий 207 источников (108 отечественных и 99 зарубежных). Материал иллюстрирован 45 рисунками, 29 таблицами и 4 клиническими примерами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено на базе вивария и кафедры сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной, оперативной хирургии и топографической анатомии ФГБОУ ВО Рязанского государственного медицинского университета Минздрава России в период 2014-2018 гг.

Работы была разделена на экспериментальную и клиническую части. Экспериментальная часть выполнялась на 24 белых крысах линии Wistar, разделенных на 3 группы. После постановки аллоксановой модели гипергликемии крысам наносили хирургическую рану кожи размером 8×8 мм в межлопаточной области. Животным контрольной группы в края раны вводили 200 мкл воды для инъекций (n=8). Крысам в экспериментальных группах в края раны внутрикожно был введен раствор 60 мкг (группа 2, n=8) или 200 мкг (группа 3, n=8) плазмиды pCMV-VEGF165 в 200 мкл воды для инъекций.

Всем животным на сроках 3, 6 и 10 суток после операции выполняли планиметрию заживления кожной раны. После выведения животных из эксперимента на 10-е сутки изготавливали гистологические срезы. Измерялась протяженность раны, не покрытой эпителием. Раздельно для центральной части раны и краевых участков, оценивали количество αГМА-положительных сосудов (артериолы, венулы) в поле зрения и число нейрофиламент-положительных структур.

Клиническая часть исследования включала в себя 140 пациентов с критической ишемией нижних конечностей и сахарным диабетом, разделенных на 4 группы. Все пациенты были распределены на 2 потока в зависимости от принятой тактики лечения. Пациентам I и III группы проводилась прямая реваскуляризация открытым или эндоваскулярным методом. При невозможности проведения реконструктивного вмешательства проводился курс консервативной терапии согласно Национальным рекомендациям по лечению пациентов с заболеваниями артерий нижних конечностей (II и IV группа).

Пациенты исследуемых групп (III и IV) дополнительно получали индукцию ангиогенеза путем введения геннотерапевтического препарата. В III группе введение препарата выполнялось на 7 и 21 сутки после операции. В IV группе введение препарата выполнялось в последний день прохождения курса консервативной терапии и через 14 суток после первой инъекции.

Всем пациентам подбиралась гипогликемическая терапия, и коррекция сопутствующей патологии в индивидуально подобранном режиме и дозировке.

Период наблюдения за пациентами составил 1 год с момента первого введения геннотерапевтического препарата с двумя контрольными визитами на сроках 3 и 6 месяцев на которых оценивались объективные и инструментальные параметры эффективности лечения. Далее, еще через 6 месяцев, в рамках постклинического наблюдения, производилась оценка основных критериев эффективности: количество летальных исходов, сохранность конечности и степень компенсации кровообращения в отдаленном периоде (1 год) (рис. 1).

Всем пациентам, включенным в исследование, проводились исследования с помощью лабораторных и инструментальным методов.

Лабораторные методы включали в себя: анализ крови клинический; анализ крови биохимический; коагулограмма; общий анализ мочи. Из инструментальных методов обследования использовались: ультразвуковое дуплексное сканирование (УЗДС) артерий нижних конечностей (при выполнении УЗДС так же измерялась линейная скорость кровотока (ЛСК)); ультразвуковая доплеросфигмоманометрия (УЗДСММ) с определением лодыжечно-плечевого индекса (ЛПИ); транскутанное напряжение кислорода (ТКНК); ангиографическое исследование периферических артерий нижних конечностей; тредмил-тест; оценка тяжести диабетической полинейропатии с помощью Мичиганского опросника, и шкалы NSS (Neurological Symptoms Score).

Для статистической обработки использован пакет офисных программ Statistica for Windows 10.0, Microsoft Word и Microsoft Excel 2013. Все анализы осуществлялись с использованием методов описательной статистики. Суммарная статистика включает: количество (N), среднее, стандартное отклонение (STD), медиану, минимум (min) и максимум (max) для непрерывных переменных и абсолютную частоту (n) и процент (%) для категориальных переменных. Для оценки статического различия показателей использовались параметрические и непараметрические статистические критерии с уровнем значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты экспериментального исследования

Результаты планиметрии у животных трех групп были различными. В контрольной группе у одного животного в течение 10 суток произошла полная эпителизация кожного дефекта. Среди животных 2 группы – у трех, а в 3 группе у 5 животных (62,5%) констатировано полное заживление (рис. 1).

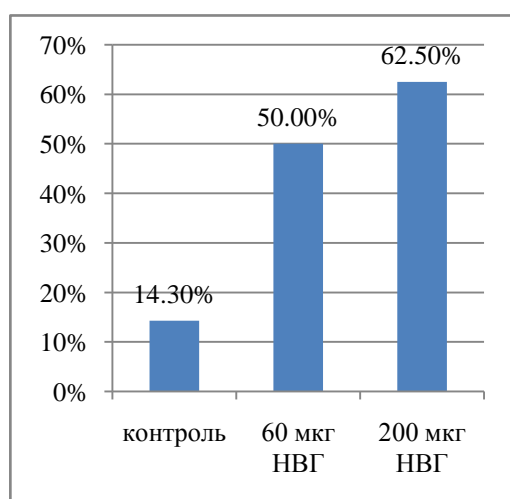


Рис. 1. Доля животных (в %), у которых в течение 10 суток произошла полная эпителизация раневого дефекта кожи

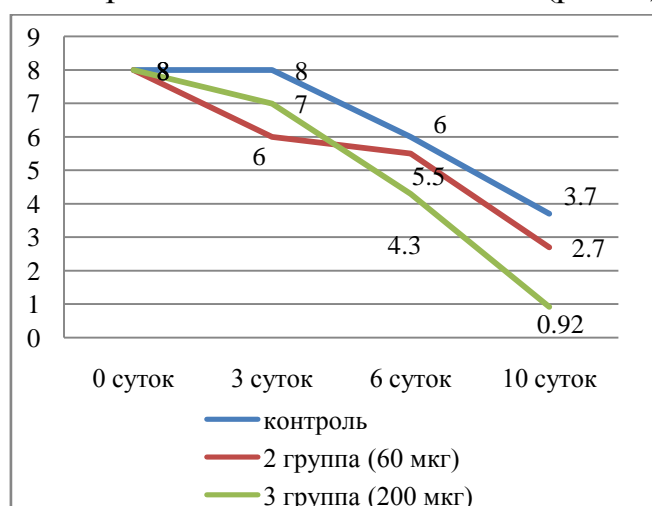


Рис. 2. Размеры кожной раны у животных различных групп (мм²): синяя кривая – контроль, красная – 2 группа, зеленая – 3 группа

При посуточной планиметрии в контрольной группе к 10 суткам средний размер дефекта составил $3,7 \pm 0,5$ мм. У животных получивших 60 мкг плазмиды – $2,7 \pm 0,6$, а в третьей группе – $0,92 \pm 0,7$ мм ($p = 0,038$ для 3 группы по сравнению с группой контроля) (рис. 2).

В группах животных после применения препарата гистологическая картина соответствовала типичной картине заживления большой по площади кожной раны, при этом в большинстве случаев процесс находился на более

зрелой стадии по сравнению с контрольной группой. Дефект эпителия или не выявлялся, или был незначительных размеров. «Цветущая» грануляционная ткань сохранялась преимущественно в центральных участках раневого дефекта. Ей были присущи все типичные характеристики – богатое кровоснабжение, полиморфноклеточная лейкоцитарная инфильтрация, большое число молодых фибробластов. Центробежно наблюдалось уменьшение лейкоцитарной инфильтрации, скученно расположенных сосудов, соединительнотканых клеточных элементов, которые в наиболее «зрелых» участках были представлены уже в основном префиброцитами и фиброцитами (рис. 3).

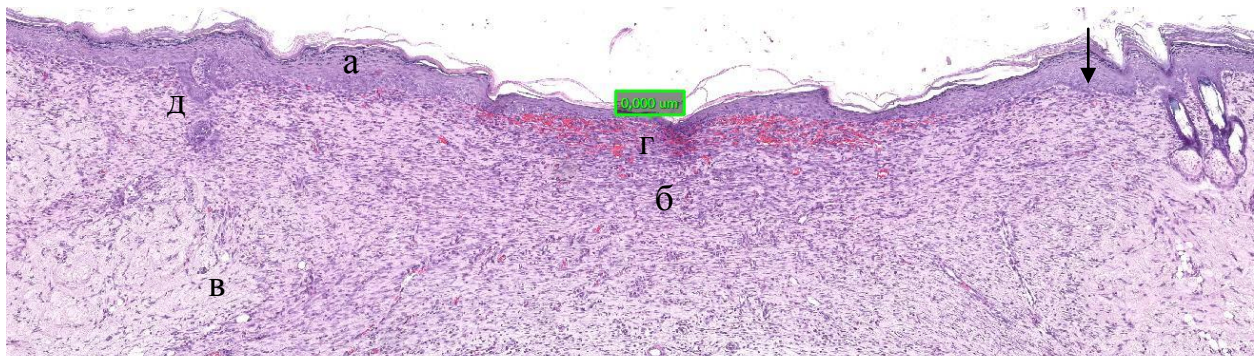


Рис. 3. Кожная рана у животных группы, получившей 200 мкг rCMV-VEGF165: а – многослойный плоский эпителий кожи; б – инфильтрированная полиморфноядерными лейкоцитами грануляционная ткань; в – новообразованная соединительная ткань с незначительной инфильтрацией; г – участки ангиоматоза; д – участок дифференцировки придатков кожи; дефект эпителия отмечен зеленым отрезком; черная стрелка – уровень неповрежденной кожи с придатками; Окраска: гематоксилин и эозин. Ув. $\times 100$.

Стратификация эпителиального пласта была восстановлена на большей части площади восстановленного эпителия, в большинстве участков легко различить базальный, шиповатый, зернистый и роговой слои, лишь в центральных участках стратификация редуцирована до трех слоев (рис. 3).

При морфометрическом анализе установлено, что в центральных участках, где у большинства групп сохраняется грануляционная ткань или в виде островков, или в виде массивов при самостоятельном заживлении дефекта (вода для инъекций) количество сосудов в поле зрения составило $6,15 \pm 2,2$ (рис. 4 (А)). В группах получивших препарат в ранее указанных дозах – $8,2 \pm 2,2$ и $11,4 \pm 2,7$ соответственно. Различия по данному показателю оказались статистически значимы между контролем и группой 3 ($p = 0,038$).

Для периферической части регенерата оказалась справедлива та же закономерность, а именно, количество сосудов в поле зрения в группе

контроля $5,1 \pm 1,9$; в группе 2 - $8 \pm 4,4$; в группе 3 - $7,8 \pm 1,7$ (рис. 4 (Б)). При сравнении групп 1 и 3 различия оказались статистически значимы ($p = 0,046$).

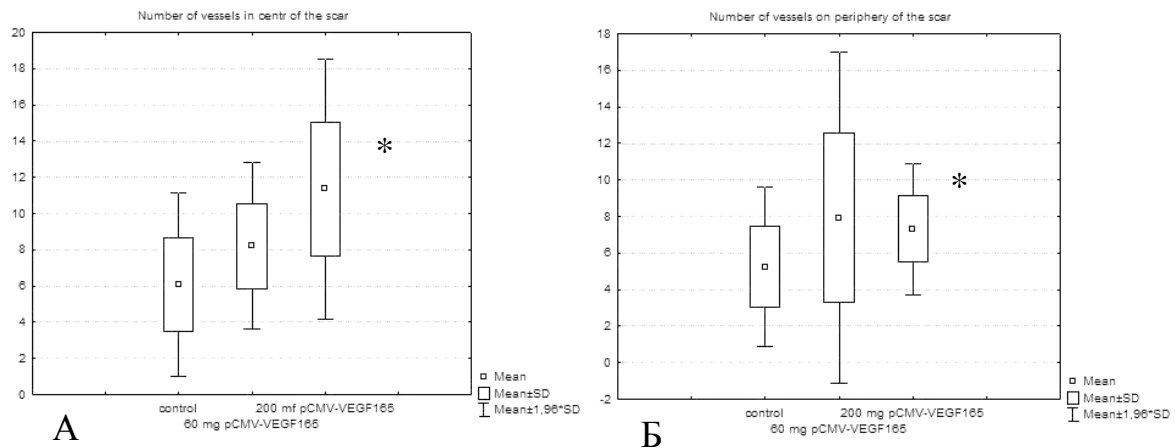


Рис. 4. Результаты морфометрической оценки развитости сосудистого русла в центральной части (А) и периферической части кожного регенерата (Б) (шт).

* - различия статистически значимы при сравнении с контролем.

В экспериментальных группах так же отмечено более плотное расположение сосудов, причем их диаметр был в основном мельче чем при самостоятельном заживлении. Следует предположить, что интенсивнее протекающие процессы ангиогенеза обратно пропорциональны диаметру сосудов.

Результаты клинического исследования

За время клинического исследования не было зарегистрировано случаев местной или системной аллергической или воспалительной реакции, значимых колебаний со стороны общеклинических лабораторных показателей, и фактов выявления новообразований при прохождении пациентами повторных осмотров.

Эффективность лечения в группах с оперативным вмешательством (I, III) оценивалось в первую очередь по числу летальных исходов и сохранности конечности в ближайшем (3, 6 мес.) и отдаленном (1 год) периоде. Дополнительными критериями эффективности служили: дистанция безболевого ходьбы, проходимость зоны реконструкции, купирование критической ишемии и изменение стадии заболевания по ходу исследования.

Для пациентов в группах комплексного терапевтического подхода эффективность терапии оценивалась в первую очередь так же по количеству летальных исходов и сохранности конечности. Дополнительными методами для оценки эффективности лечения служили уменьшение площади некрозов, купирование критической ишемии, показатели ТКНК, ДБХ, ЛСК, и изменение тяжести диабетической нейропатии.

Оценка причин летальных исходов

Таблица 1

Количество ампутаций и летальных исходов в динамике исследования

Показатель	Летальные исходы			Количество ампутаций		
	3 мес.	6 мес.	1 год	3 мес.	6 мес.	1 год.
Время наблюдения						
I (опер.) (n =45)	-	5 (11,1%)	8 (17,7%)	7 (15,6%)	13 (28,8%)	17 (37,8%)
III (опер.+НВГ) (n =30)	-	1 (3,3%)	4 (13,3%)	1 (3,3%)	3 (10%)	5 (16,7%)
pI-III	1,000	0,223	0,430	0,094	0,032	0,041
II (конс.) (n=40)	3 (7,5%)	6 (15%)	10 (25%)	10 (25%)	17 (42,5%)	24 (60%)
IV (конс.+НВГ) (n=25)	1 (4%)	2 (8%)	4 (16%)	2 (8%)	5 (20%)	9 (36%)
pII-IV	1,000	0,165	0,296	0,082	0,041	0,0496

В I группе через 3 месяца летальных исходов зарегистрировано не было, через 6 месяцев наблюдения было зарегистрировано 5 летальных исходов – 11,1%, а через 1 год данный показатель составил 17,7% (8 человек). В III группе не было выявлено летальных исходов за первые 3 месяца наблюдения. Через 6 месяцев выявлен 1 случай - 3,3%, а через 1 год 4 случая – 13,3%.

В группе стандартной консервативной терапии (II) через 3 месяца выявлено 3 летальных исхода, что составило 7,5%. Через полгода зарегистрировано 6 случаев – 15%, а через 1 год наблюдения 10 случаев – 60%. В группе комбинированной терапии (IV) зарегистрирован один летальный случай через 3 месяца от начала исследования – 4%, через 6 месяцев данный показатель составил 8% (2 человека), а через 1 год – 16% (4 человека).

Суммарно из всех пациентов, включенных в исследование (n=140), осложнения, повлекшие смерть пациента, возникли в 26 случаях (18,5%). При этом в 21 случае (80,8%) из 26 имелась прямая связь с прогрессированием основного заболевания, и только 5 смертельных случаев были связаны с сопутствующей кардиальной патологией – инфарктом миокарда.

Сохранность конечности

Для пациентов I группы процент утраты конечности через 3 месяца наблюдения составил 15,6% (7 ампутаций), через 6 месяцев наблюдения 28,8% (13 случаев), а через 1 год – 37,8% (17 случаев). В III группе через 3 месяца наблюдения зарегистрирован 1 случай ампутации – 3,3%, через 6 месяцев наблюдения процент утраты конечности составил 10% (3 ампутации), а через 1 год – 16,7% (5 случаев) (рис. 5). В группе стандартной консервативной терапии (II) через 3 месяца наблюдения выполнено 10

ампутаций – 25%, через 6 месяцев наблюдения зарегистрировано 17 аналогичных исходов, что составило 42,5%. Через 1 год данный показатель составил 60% (24 случая). В группе комплексной терапии (IV) через 3 месяца наблюдения зарегистрировано 2 ампутации – 8%, через 6 месяцев после начала исследования утрата конечности отмечена в 5 случаях – 20%, а через 1 год было выявлено 9 аналогичных исходов – 36% (рис. 5).

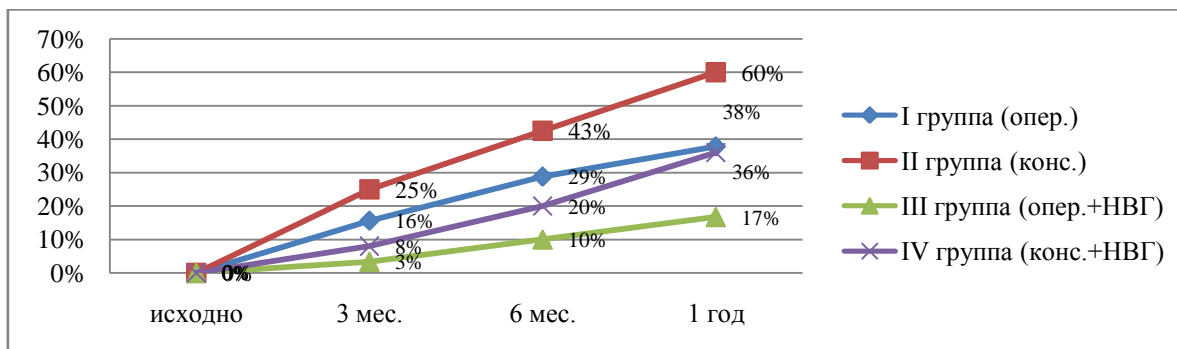


Рис. 5. Динамика количества ампутаций за время исследования

При сопоставлении полученных данных и анализе между группами пациентов с хирургическим (I и III группы) подходом была получена достоверная разница по прогнозу сохранности конечности через 6 мес. ($p=0,032$) и 1 год ($p=0,041$) наблюдения. Так же достоверные различия были получены между группами с консервативным подходом (II и IV группы) в срок 6 мес. ($p=0,041$) и 1 год ($p=0,0496$) наблюдения (таблица 1).

Дистанция безболевого ходьбы

В I группе средний показатель с $4,6 \pm 1,1$ м увеличился через 3 месяца до $126 \pm 10,7$ м, а к 6 месяцам наблюдения составил $151,7 \pm 10,8$ м. Для пациентов с дополнительной послеоперационной генной индукцией (III группа) ДБХ планомерно увеличивалась с $8,2 \pm 2,5$ м до $100,3 \pm 12,6$ м к 3 мес., и до $132,1 \pm 14,3$ м к 6 мес. наблюдения (таблица 2). Во II группе к 3 мес. ДБХ составила $26,9 \pm 4,6$ м, а к окончанию исследования $48,5 \pm 4,9$ м. Для группы с дополнительной генной индукцией (IV) данный показатель составил $42,3 \pm 6,5$ м и $72,9 \pm 9,2$ м для 3 и 6 мес. наблюдения соответственно (таблица 2).

При межгрупповой оценке результатов лечения пациентов, которым проводилась реваскуляризация конечности (I и III группа), не было выявлено достоверных различий по данному критерию, не зависимо от включения в схему терапии $rVEGF-165$. При оценке показателя ДБХ между группами с консервативным подходом к лечению (II и IV группы) был получен достоверный лучший результат прироста ДБХ при дополненной генной индукции (IV группа) на сроке в 6 мес.

Сводные данные по показателю ДБХ (м)

Группа	показатель	Срок наблюдения		
		исходно	3 мес.	6 мес.
I (опер.) (n=45)	Число наблюдений	45	38	29
	Среднее	4,6 м	126 м	151,7 м
	Станд. ошибки	1,1	10,7	10,8
внутригрупповое значение р		p0-3 мес.<0,001	p3-6 мес.=0,225	p0-6 мес.<0,001
III (опер.+НВГ) (n=30)	Число наблюдений	30	30	29
	Среднее	8,2 м	100,3 м	132,1 м
	Станд. ошибки	2,5	12,6	14,3
внутригрупповое значение р		p0-3 мес.<0,001	p3-6 мес.=0,03	p0-6 мес.<0,001
межгрупповое значение р I-III		0,625	0,090	0,240
II (конс.) (n=40)	Число наблюдений	40	29	20
	Среднее	0 м	26,9 м	48,5 м
	Станд. ошибки	0	4,6	4,9
внутригрупповое значение р		p0-3 мес.<0,001	p3-6 мес.=0,009	p0-6 мес.<0,001
IV (конс.+НВГ) (n=25)	Число наблюдений	25	22	19
	Среднее	0 м	42,3 м	72,9 м
	Станд. ошибки	0	6,5	9,2
внутригрупповое значение р		p0-3 мес.<0,001	p3-6 мес.<0,001	p0-6 мес.<0,001
межгрупповое значение р II-IV		1,000	0,084	0,032

Проходимость зоны реконструкции и последствия ее окклюзии

Проходимость зоны оперативного вмешательства составила для пациентов I группы 66,7% (30 человек) и 70% (21 человек) для второй группы. В I группе из 15 пациентов, с неработающей зоной реконструкции у 13 была выполнена ампутация конечности – 86,7%. В III группе из 9 пациентов, было выполнено 3 ампутации (33,3%).

Таблица 3

Проходимость зоны реконструкции и исходы при ее окклюзии через 6 мес

Показатель	I группа (опер.) (n=45)	III группа (опер+НВГ) (n=30)	pI-III
Проходимость зоны реконструкции	30 (66,7%)	21 (70%)	0,482
Исход при окклюзии	n - 15	n - 9	
Ампутация	13 (86,7%)	3 (33,3%)	0,013
Гангрена конечности	2 (13,3%)	-	
Регресс к IV стадии	-	4 (44,4%)	
Регресс к III стадии	-	1 (11,1%)	
ПБ стадия	-	1 (11,1%)	

Дополнение к оперативному лечению в виде генной индукции ангиогенеза не влияет на проходимость зоны оперативного вмешательства в течение 6 мес. ($p=0,482$), однако достоверно улучшает прогноз по сохранности конечности и компенсации кровообращения при непроходимости зоны реконструкции: 86,7% ампутаций при окклюзии зоны вмешательства в I группе и 33,3% в III группе ($p=0,013$) (таблица 3).

Динамика заживления некрозов

Статистически достоверные различия по уменьшению площади некрозов для II и IV групп были получены при анализе данных на момент 3 и 6 мес. наблюдения по сравнению с исходным. Для IV группы, кроме того, получена достоверная разница в регрессе некрозов между визитами в 3 и 6 месяцев (таблица 4). При межгрупповом сравнении не было выявлено достоверных различий для всех временных интервалов (таблица 4).

Таблица 4

Динамика заживления некрозов (мм^2) сводные данные

Группа	показатель	Срок наблюдения		
		исходно	3 мес.	6 мес.
II группа (конс.) (n=40)	Число наблюдений	40	29	20
	Среднее	120,8 мм^2	61,4 мм^2	15 мм^2
	Станд. ошибки	14,5	14,9	7,3
внутригрупповое значение p		p0-3 мес.=0,016	p3-6 мес.=0,093	p0-6 мес.<0,001
IV группа (конс.+НВГ) (n=25)	Число наблюдений	25	22	19
	Среднее	165,4 мм^2	43,7 мм^2	24,2 мм^2
	Станд. ошибки	36,1	17,9	16,8
внутригрупповое значение p		p0-3 мес.=0,003	p3-6 мес.=0,043	p0-6 мес.<0,001
межгрупповое значение p II-IV		0,857	0,330	0,708

Отсутствие различий при межгрупповом сравнении и положительная динамика обусловлена выбыванием большого количества пациентов II группы, у которых при прогрессировании заболевания и отрицательной динамики выполнялась ампутация нижней конечности (n=17).

Лодыжечно-плечевой индекс

Изменение показателя лодыжечно-плечевого индекса во время исследования было сопоставимо в обеих группах, прирост среднего значения ЛПИ для II группы составил 0,11 за время исследования ($0,36 \pm 0,03$ на момент включения, $0,4 \pm 0,04$ через 3 мес. и $0,47 \pm 0,04$ через 6 мес. наблюдения). В IV

группе прирост показателя составил 0,1 (0,4±0,04 на момент включения, 0,5±0,05 через 3 мес. и 0,5±0,06 через 6 мес.) (таблица 5).

Таблица 5

Динамика ЛПИ сводные данные

Группа	показатель	Срок наблюдения		
		исходно	3 мес.	6 мес.
II группа (конс.) (n=40)	Число наблюдений	40	29	20
	Среднее	0,36	0,40	0,47
	Станд. ошибки	0,03	0,04	0,04
внутригрупповое значение p		p 0-3 мес.=0,005	p 3-6 мес.=1,000	p 0-6 мес.=0,002
IV группа (конс.+НВГ) (n=25)	Число наблюдений	25	21	19
	Среднее	0,40	0,50	0,50
	Станд. ошибки	0,04	0,05	0,06
внутригрупповое значение p		p 0-3 мес.=0,002	p 3-6 мес.=1,000	p 0-6 мес.<0,001
межгрупповое значение p II-IV		0,274	0,077	0,569

При внутригрупповых сравнениях в обеих группах получен прирост показателей при сравнении данных на момент включения в исследование с 3 и 6 мес. наблюдения. Между сроками наблюдения в 3 и 6 мес. статистически достоверных отличий не выявлено. Так же не было выявлено достоверных различий и при межгрупповых сравнениях пациентов исследуемой и контрольной групп по показателю ЛПИ (таблица 5).

Транскутантное напряжение кислорода

Прирост ТКНК для II группы к окончанию исследования составил 17,2%. В начале исследования средний показатель ТКНК составил 33,7±0,6 мм.рт.ст., далее наблюдалось его увеличение до 36,8±0,8 мм.рт.ст. к 3 мес. наблюдения (прирост 9,2%) и до 39,5±0,8 мм.рт.ст. к окончанию исследования (прирост 7,3%). В IV группе общий прирост показателя ТКНК составил 32,4%. Его динамика за время исследования выглядела следующим образом: в начале исследования – 33,3±1,2 мм.рт.ст; через 3 мес. – 41,2±1,4 мм.рт.ст. (23,7% прироста); через 6 мес. 44,1±1,6 мм.рт.ст. (7% прироста) (рис. 6).

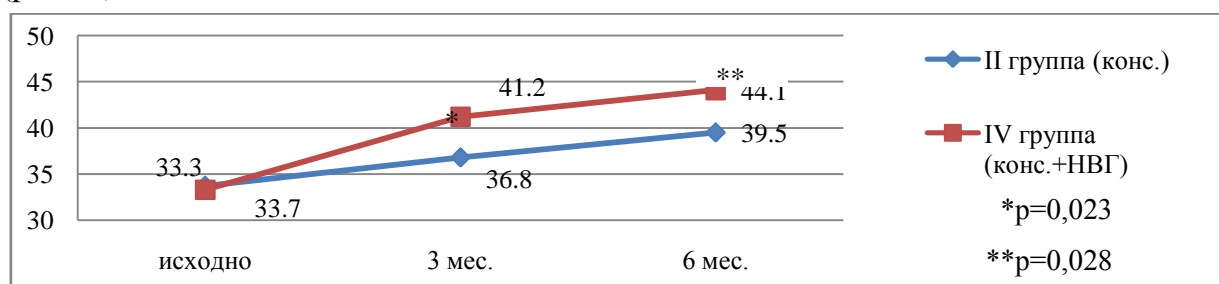


Рис. 6. Динамика показателя ТКНК (мм.рт.ст.)

При внутригрупповых сравнениях были получены статистически достоверные результаты увеличения показателей ТКНК для обеих групп между моментом включения 3 и 6 мес. наблюдения. Так же для группы с добавлением рVEGF-165 достоверный прирост показателя ТКНК был зафиксирован между 3 и 6 мес. наблюдения. При межгрупповом анализе были выявлены достоверные различия показателя ТКНК на сроках наблюдения в 3 ($p=0,023$) и 6 мес. ($p=0,028$) (рис. 6).

Линейная скорость кровотока

Линейная скорость кровотока во II группе за время исследования имела тенденцию к незначительному увеличению с $15,1 \pm 0,6$ см/с до $15,7 \pm 0,8$ см/с к окончанию исследования (прирост 4%). В IV группе на момент включения в исследование средний показатель ЛСК составлял $19,9 \pm 2,2$ см/с, а через 6 мес. $32,9 \pm 9$ см/с (прирост показателя 65,3%) (рис. 7). Показатель линейной скорости кровотока по результатам исследования при межгрупповых сравнениях был достоверно выше в группе с генной индукцией ангиогенеза по результатам 6 мес. наблюдения за пациентами. ($p=0,047$) (рис. 7).

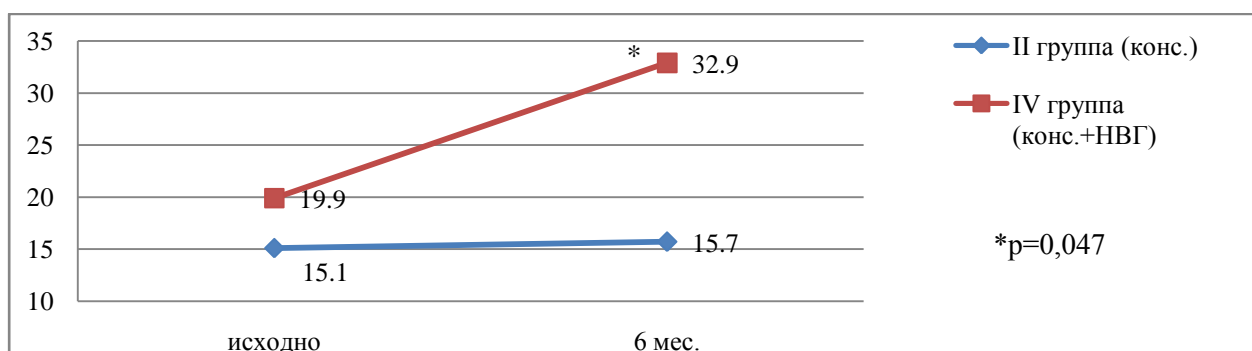


Рис. 7. Динамика показателя ЛСК (см/с)

Оценка динамики диабетической нейропатии

Диабетическая нейропатия, оцененная с помощью заполнения пациентами специального Мичиганского опросника и шкалы неврологических симптомов (NSS), в начале и в конце исследования, напрямую коррелировала со степенью компенсации кровообращения.

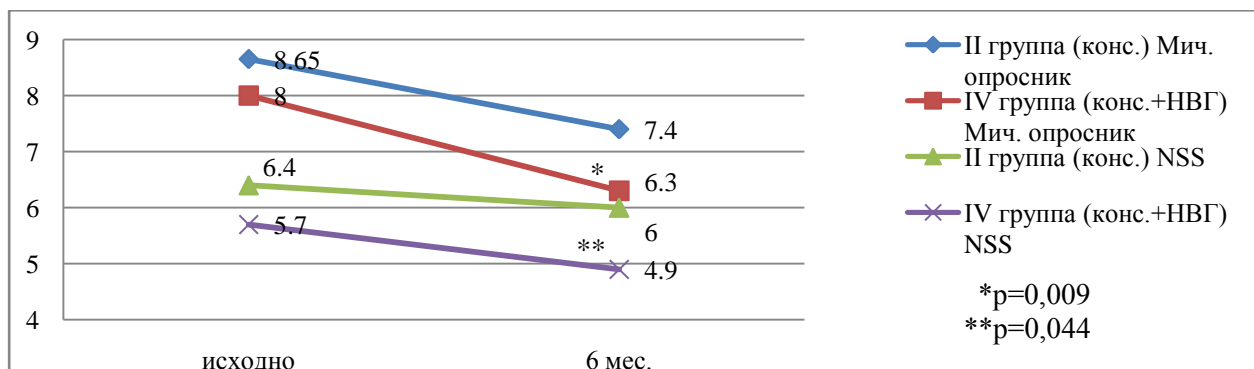


Рис. 8. Динамика течения нейропатии (баллы)

При сравнении данных Мичиганского опросника и шкалы NSS, достоверно выявлена положительная динамика в обеих группах через 6 мес. наблюдения ($p < 0,001$ и $p = 0,004$ соответственно). Так же выявлены достоверные различия по снижению клинических симптомов нейропатии в группе с генной индукцией ангиогенеза (IV), по сравнению с контрольной группой (II) как для Мичиганского опросника ($p = 0,009$), так и для шкалы NSS ($p = 0,044$) (рис. 8).

Алгоритм лечения пациентов с критической ишемией нижних конечностей на фоне сахарного диабета

На основании полученных в ходе исследования данных был составлен алгоритм ведения пациентов с подтвержденным диагнозом критической ишемии нижних конечностей атеросклеротического генеза при наличии фонового сахарного диабета (рис. 9).

Независимо от выбранной тактики лечения всем пациентам показано наблюдение эндокринолога с подбором оптимальной гипогликемической терапии для достижения целевых значений гликозилированного гемоглобина.

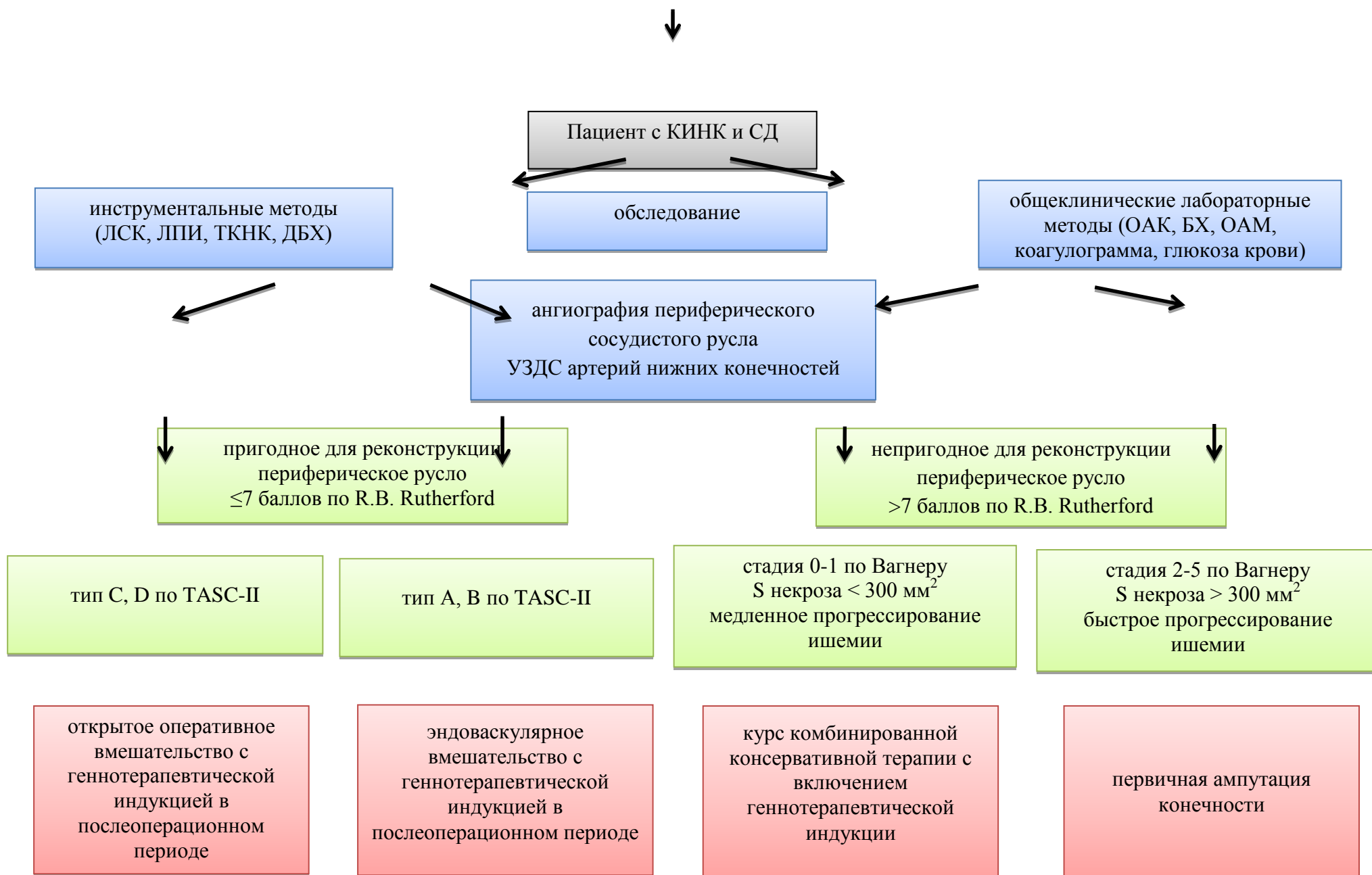


Рис. 9. Алгоритм ведения пациентов с КИНК и СД

ВЫВОДЫ

1. Применение препарата pVEGF-165 для лечения модельных дефектов кожи у животных на фоне гипергликемии через 10 сут. приводит к статистически значимому уменьшению площади кожной раны ($p=0,038$), увеличению количества кровеносных сосудов грануляционной ткани в центральной ($p=0,038$) и периферической части кожного регенерата ($p=0,046$) при применении высокой дозы препарата (200 мкг).

2. Проведение стандартной конвенционной терапии у пациентов с критической ишемией нижних конечностей на фоне сахарного диабета в течение одного года заканчивается ампутацией в 60% случаев и в 25% случаев летальным исходом.

3. Реваскуляризирующая операция в сочетании с генной индукцией ангиогенеза является наиболее эффективным методом лечения пациентов с критической ишемией нижних конечностей на фоне сахарного диабета и ведет к сохранению конечности в 83,3% случаев ($p=0,041$) в отдаленном периоде (1 год).

4. Геннотерапевтическая индукция ангиогенеза плазмидной конструкцией pVEGF-165 не вызывает развития местных, системных воспалительных реакций и нежелательных побочных явлений и является безопасным методом лечения.

5. Использование геннотерапевтической индукции ангиогенеза позволяет достоверно улучшить результаты лечения пациентов, как в комбинации с оперативным лечением (по показателям сохранности конечности и компенсации кровообращения), так и в составе комплексной терапии, при невозможности проведения прямой реваскуляризации (по показателям сохранности конечности, купировании критической ишемии и диабетической нейропатии, ДБХ, ТКНК, ЛСК).

6. Сформулированный алгоритм ведения пациентов с критической ишемией нижних конечностей на фоне сахарного диабета позволяет выбрать оптимальную тактику ведения и улучшить ближайшие и отдаленные результаты лечения.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Всем пациентам с критической ишемией нижних конечностей атеросклеротического генеза (III – IV стадия заболевания по классификации А.В. Покровского-Фонтейна) и фоновым СД первоначально показан поиск вариантов для оперативного лечения (прямой реваскуляризации конечности).

2. Для пациентов с критической ишемией нижних конечностей и фоновом сахарном диабете при выполнении оперативного вмешательства целесообразным является генная стимуляция ангиогенеза в послеоперационном периоде.

3. При невозможности проведения реваскуляризирующей операции рациональным является включение генной индукции ангиогенеза в состав конвенционной консервативной терапии.

4. При невозможности выполнения своевременной реваскуляризирующей операции, наличии глубоких и обширных трофических нарушений (2-5 стадия по Вагнеру, S некроза >300 мм²) и прогрессировании ишемии показана первичная ампутация конечности.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

А. В рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК при

Минобрнауки России:

1. Крылов А.А. Эффективность препарата для терапевтического ангиогенеза в комплексном лечении пациентов с сахарным диабетом и критической ишемией нижних конечностей / Крылов А.А., Калинин Р.Е., Сучков И.А. [и др.] // Казанский медицинский журнал. – 2016. – Т97, №5. – С.674-680.
2. Крылов А.А. Регенеративные технологии в лечении синдрома диабетической стопы / Крылов А.А., Калинин Р.Е., Сучков И.А. [и др.] // Гены & клетки. – 2017. – ТХП, №1. – с.15-26.
3. Крылов А.А. Комбинированное применение плазмидного препарата pCMV-VEGFA и аутодермопластики для лечения кожных дефектов в эксперименте / Крылов А.А., Билялов А.И., Абызова М.С. [и др.] // Гены & клетки. – 2018. – ТХП, №1. – С.54-59.
4. Крылов А.А. Генная индукция ангиогенеза у неоперабельных пациентов с атеросклерозом и сахарным диабетом / Крылов А.А., Калинин Р.Е., Сучков И.А. [и др.] // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2018. – Т24, №2. – С.33-40.
5. Крылов А.А. Возможности комбинированного подхода к лечению пациентов с критической ишемией нижних конечностей при фоновом сахарном диабете / Крылов А.А., Калинин Р.Е., Сучков И.А. [и др.] // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2018. – Т13, №2. – С.9-15.

Б. в других научных изданиях:

6. Крылов А.А. Выраженность симптомов диабетической нейропатии в зависимости от уровня окклюзии магистральных артерий у больных с критической ишемией нижних конечностей атеросклеротического генеза при фоновом сахарном диабете./ Крылов А.А. [и др.] // Актуальные вопросы современной медицины: взгляд молодого специалиста. Матер. всеросс. науч. конф.. – Рязань, 2015. – С. 59-60.

7. Крылов А.А. Оценка отдаленных результатов консервативной терапии у больных атеросклерозом артерий нижних конечностей в сочетании с сахарным диабетом / Крылов А.А. [и др.] // V Междунар. медиц. науч.-практ. форум «Ангиология: инновационные технологии в диагностике и лечении заболеваний сосудов и сердца. Интервенционная кардиология». – Челябинск, 2016. – С. 114-115.
8. Крылов А.А. Краткосрочные показатели эффективности и безопасности локального трансфера геннотерапевтической конструкции на основе сосудистого эндотелиального фактора роста изоформы vegf165 у пациентов с осложненными формами периферического атеросклероза и сахарного диабета / Крылов А.А. // V Междунар. медиц. науч.-практ. форум «Ангиология: инновационные технологии в диагностике и лечении заболеваний сосудов и сердца. Интервенционная кардиология». – Челябинск, 2016. – С. 115-116.
9. Крылов А.А. Оценка отдаленных результатов хирургического лечения больных с атеросклерозом артерий нижних конечностей в сочетании с сахарным диабетом / Крылов А.А., Сучков И.А., Мжаванадзе Н.Д. // Матер. XX Ежег. сессии НЦССХ им. А.Н. Бакулева. – Москва, 2016. – С.169.
10. Крылов А.А. Динамика течения раневого процесса у пациентов с осложненными формами периферического атеросклероза и сахарного диабета при использовании геннотерапевтической конструкции на основе сосудистого эндотелиального фактора роста vegf165 в краткосрочном периоде / Крылов А.А.[и др.] // Матер. XX Ежег. сессии НЦССХ им. А.Н. Бакулева. – Москва, 2016. – С.164.
11. Крылов А.А. Опыт использования геннотерапевтических технологий в лечении пациентов с далеко зашедшими стадиями периферического атеросклероза и сахарным диабетом тяжелого течения / Крылов А.А., Калинин Р.Е., Сучков И.А. [и др.] // Матер. XXXII Междунар. конф. Российского общества ангиологов и сосудистых хирургов «Открытые и эндоваскулярные операции в сосудистой хирургии». – Калининград, 2016. – С. 140-141.
12. Крылов А.А. Сравнение отдаленных результатов хирургических и терапевтических методов лечения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей в сочетании с сахарным диабетом / Крылов А.А.[и др.] // Матер. XXXII Междунар. конф. Российского общества ангиологов и сосудистых хирургов «Открытые и эндоваскулярные операции в сосудистой хирургии». – Калининград. - 2016. – С. 141-143.
13. Крылов А.А. Значение матриксных металлопротеиназ при хронической венозной недостаточности / Крылов А.А., Мжаванадзе Н.Д. // Матер. II Всеросс. науч. конф. студентов и молодых специалистов «Актуальные вопросы современной медицины: взгляд молодого специалиста». – Рязань, 2016. – С.16-18.
14. Крылов А.А. Результаты применения препарата для терапевтического ангиогенеза в комплексном лечении нейроишемической формы синдрома

- диабетической стопы / Крылов А.А., Калинин Р.Е., Сучков И.А. [и др.] // Матер. VIII Всеросс. науч.-практ. конф. с междунар. уч. «Актуальные вопросы диагностики, лечения и профилактики синдрома диабетической стопы». – Казань, 2016. – С.156-159.
15. Крылов А.А. Оценка эффективности использования препарата для терапевтического ангиогенеза в комбинации с хирургическим лечением у пациентов с осложненными формами периферического атеросклероза и сахарного диабета / Крылов А.А.[и др.] // Матер. XXII Всеросс. съезда сердечно-сосудистых хирургов. – Москва, 2016. – С.236.
16. Krylov A.A. Preliminary results of the pilot study of safety and efficacy of pl-VEGF165 gene transfer in patients with diabetic foot syndrome / A.A. Krylov [et al.] // Human Gene Therapy. – 2016. – Т.27, №2. - P. 99.
17. Крылов А.А. Патологическая гистология «Стопы Шарко» / Крылов А.А.[и др.] // Наука молодых - Eruditio Juvenium. - 2016. - № 2 – С.14-26.
18. Крылов А.А. Облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей на фоне сахарного диабета: современное состояние проблемы / Крылов А.А. // Матер. ежег. науч. конф. РязГМУ. – Рязань, 2016. – С.262-265.
19. Krylov A.A. Preliminary results of the pilot study of safety and efficacy of pl-VEGF165 gene transfer in patients with diabetic foot syndrome / A.A. Krylov [et al.] // Abstracts book. Livre des resumes. 27th World Congress of the International Union of Angiology. – Lyon, France. -2016. –P. 214-215.
20. Крылов А.А. Перспективы использования генных технологий в лечении пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей с фоновым сахарным диабетом / Крылов А.А., Климентова Э.А. // Хирургическая коррекция эндокринных нарушений: сб. тр. – Рязань, 2017. – С. 169-173.
21. Крылов А.А. Опыт использования методики терапевтического ангиогенеза в комбинированном лечении пациентов с критической ишемией нижних конечностей на фоне сахарного диабета / Крылов А.А.[и др.] // Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. Матер. XXI Ежегодной сессии НЦССХ им. А.Н. Бакулева. – Москва. -2017. –С.66.
22. Крылов А.А. Сравнение эффективности различных методов лечения критической ишемии на фоне сахарного диабета (follow-up 1 год) / Крылов А.А.[и др.] // Матер. XXXIII Междунар. конф. Российского общества ангиологов и сосудистых хирургов «Отдаленные результаты и инновации в сосудистой хирургии». –Сочи, 2017. – С. 160-162.
23. Крылов А.А. Ангиогенная терапия в коррекции трофических нарушений у пациентов с осложненными формами сахарного диабета и периферического атеросклероза / Крылов А.А., Калинин Р.Е., Сучков И.А. [и др.] // Матер. Междисц. межрег. науч.-практ. конф. с междунаро. уч. «Комплексный подход к лечению язвенно-некротических поражений конечностей сосудистого генеза». –Челябинск. -2017. – С. 53-55.
24. Крылов А.А. Проблема выбора оптимальной тактики лечения пациентов с осложненными формами периферического атеросклероза /

- Крылов А.А., Камаев А.А. // Матер. III Всеросс. науч. конф. «Инновационные технологии в медицине: взгляд молодого специалиста». – Рязань, 2017. – С. 10-12.
25. Крылов А.А. К вопросу о методах лечения пациентов с критической ишемией нижних конечностей на фоне сахарного диабета / Крылов А.А., Калинин Р.Е., Сучков И.А. [и др.] // Тез. I Съезда хирургов ЦФО Российской Федерации. – Рязань, 2017. – С. 405-406.
26. Крылов А.А. Регенеративные технологии в лечении больных с тяжёлым течением сахарного диабета и периферического атеросклероза: возможности ангиогенной терапии / Крылов А.А. [и др.] // Матер. IX Всеросс. науч.-практ. конф. с междунар. уч. «Актуальные вопросы диагностики, лечения и профилактики синдрома диабетической стопы». – Казань, 2017. – С. 28-31.
27. Крылов А.А. Генная терапия в комплексном лечении пациентов с синдромом диабетической стопы (клинико-экспериментальное исследование) / Крылов А.А. [и др.] // Матер. Всеросс. конф. молодых специалистов «Актуальные вопросы фундаментальной, экспериментальной и клинической морфологии». – Рязань, 2017. – С. 81-85.
28. Крылов А.А. Результаты применения методики терапевтического ангиогенеза в комбинации с прямой реваскуляризацией конечности у пациентов с осложненными формами периферического атеросклероза / Крылов А.А. [и др.] // Матер. XXIII Всероссийского съезда сердечно-сосудистых хирургов. – Москва, 2017. – С. 210.

Научное издание

Крылов Андрей Александрович

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ЛЕЧЕНИЮ ПАЦИЕНТОВ С КРИТИЧЕСКОЙ ИШЕМИЕЙ НИЖНИХ
КОНЕЧНОСТЕЙ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОГО ГЕНЕЗА
ПРИ ФОНОВОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ
14.01.26 – сердечно-сосудистая хирургия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Формат 60x84/16.
Бумага писчая. Гарнитура Times. Печать офсетная.
Усл. печ. л. 1,0. Тираж 100 экз. Заказ №

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
390026, г. Рязань, ул. Высоковольтная, 9

Отпечатано в отделе технического сопровождения и оперативной полиграфии
управления информационных технологий, телекоммуникаций и оперативной полиграфии
ФГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России
390026, г. Рязань, ул. Т. Шевченко, 34
Тел.: 8(4912) 46-08-72