

*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](http://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).

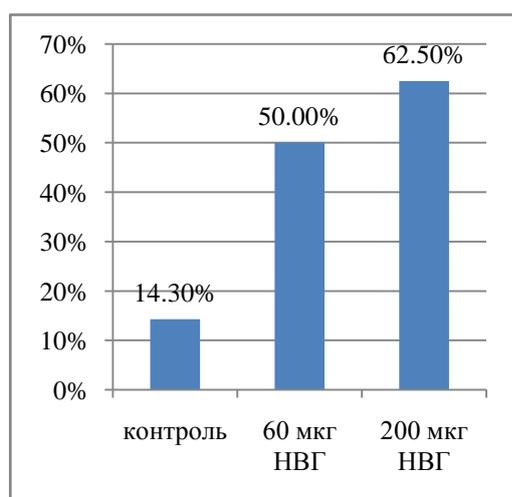


Рис. 1. Доля животных (в %), у которых в течение 10 суток произошла полная эпителизация раневого дефекта кожи

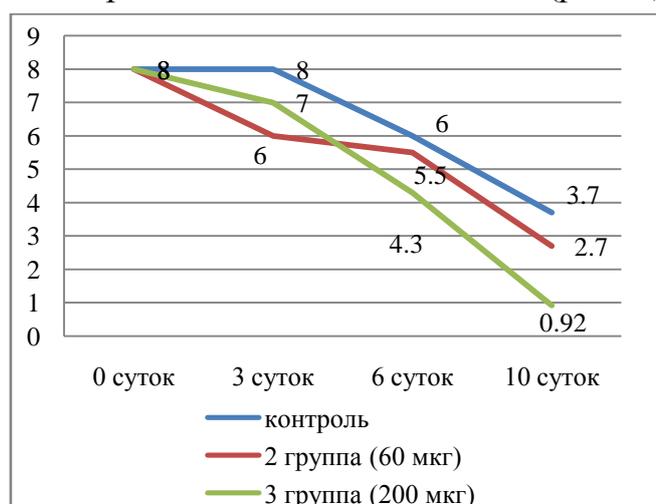


Рис. 2. Размеры кожной раны у животных различных групп (мм<sup>2</sup>): синяя кривая – контроль, красная – 2 группа, зеленая – 3 группа

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).

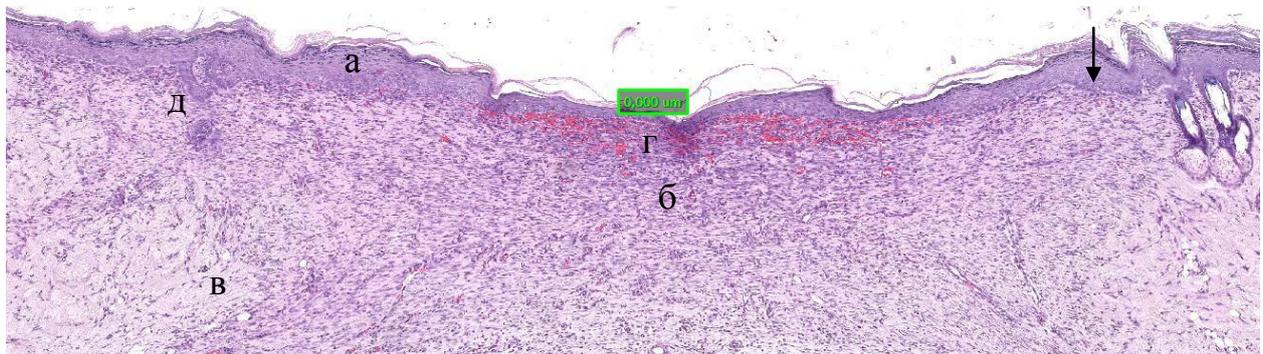


Рис. 3. Кожная рана у животных группы, получившей 200 мкг rCMV-VEGF165: а – многослойный плоский эпителий кожи; б – инфильтрированная полиморфноядерными лейкоцитами грануляционная ткань; в – новообразованная соединительная ткань с незначительной инфильтрацией; г – участки ангиоматоза; д – участок дифференцировки 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 ( $p = 0,046$ ).

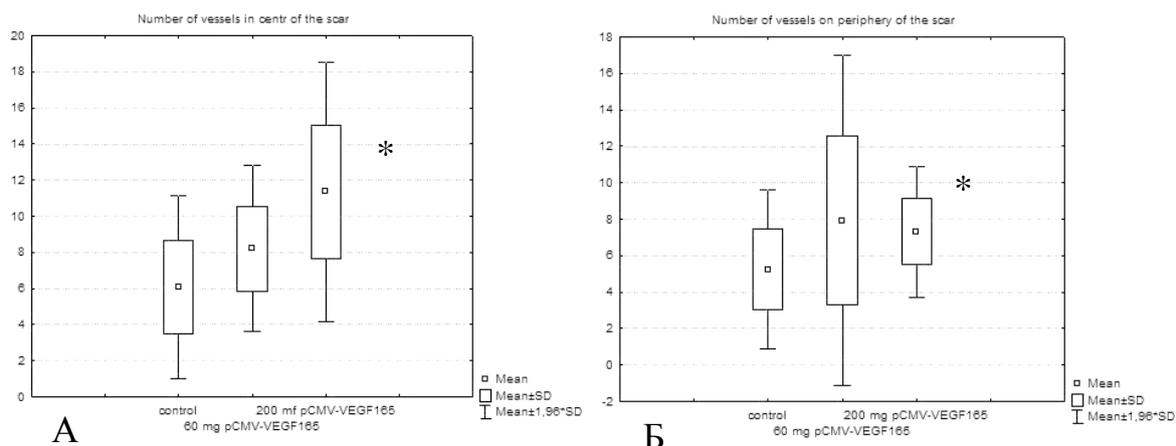


Рис. 4. Результаты морфометрической оценки развитости сосудистого русла в центральной части (А) и периферической части кожного регенерата (Б) (шт).

\* - 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).

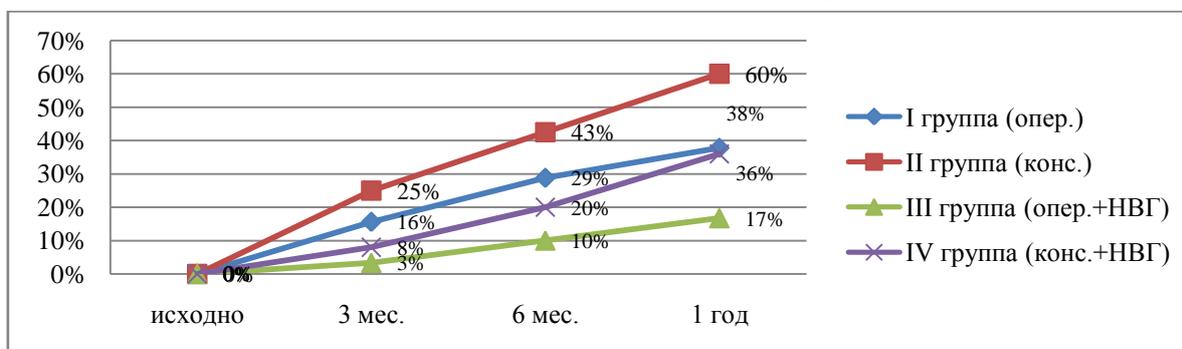


Рис. 5. Динамика количества ампутаций за время исследования

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 ( $\text{мм}^2$ ) сводные данные

Группа	показатель	Срок наблюдения		
		исходно	3 мес.	6 мес.
II группа (конс.) (n=40)	Число наблюдений	40	29	20
	Среднее	120,8 $\text{мм}^2$	61,4 $\text{мм}^2$	15 $\text{мм}^2$
	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 $\text{мм}^2$	43,7 $\text{мм}^2$	24,2 $\text{мм}^2$
	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 ( $0,4 \pm 0,04$  на момент включения,  $0,5 \pm 0,05$  через 3 мес. и  $0,5 \pm 0,06$  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  $33,7 \pm 0,6$  мм.рт.ст., далее наблюдалось его увеличение до  $36,8 \pm 0,8$  мм.рт.ст. к 3 мес. наблюдения (прирост 9,2%) и до  $39,5 \pm 0,8$  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 –  $33,3 \pm 1,2$  мм.рт.ст; через 3 мес. –  $41,2 \pm 1,4$  мм.рт.ст. (23,7% прироста); через 6 мес.  $44,1 \pm 1,6$  мм.рт.ст. (7% прироста) (рис. 6).

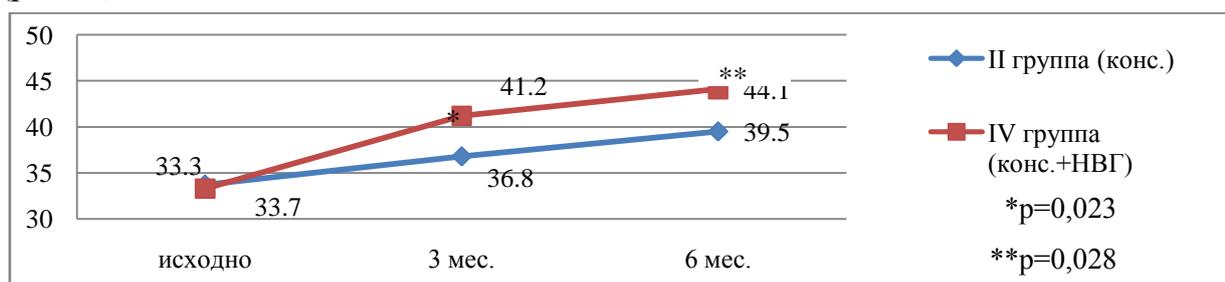


Рис. 6. Динамика показателя ТКНК (мм.рт.ст.)

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).

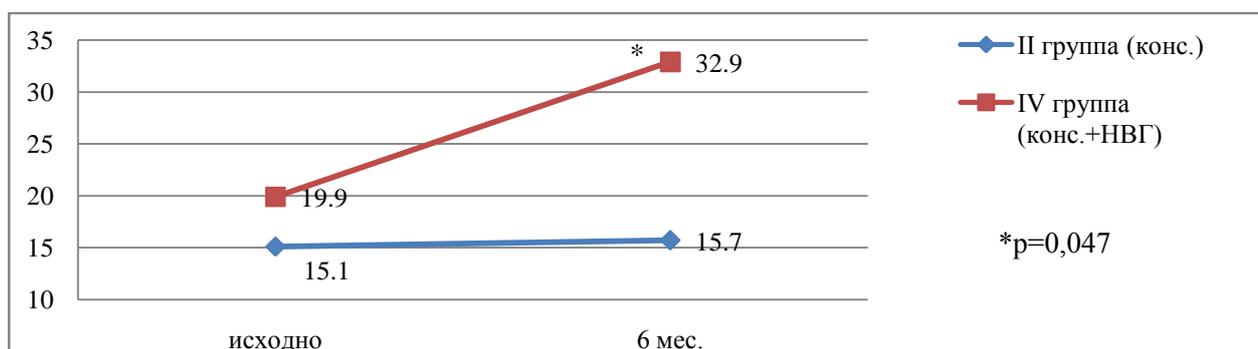


Рис. 7. Динамика показателя ЛСК (см/с)

#### 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.

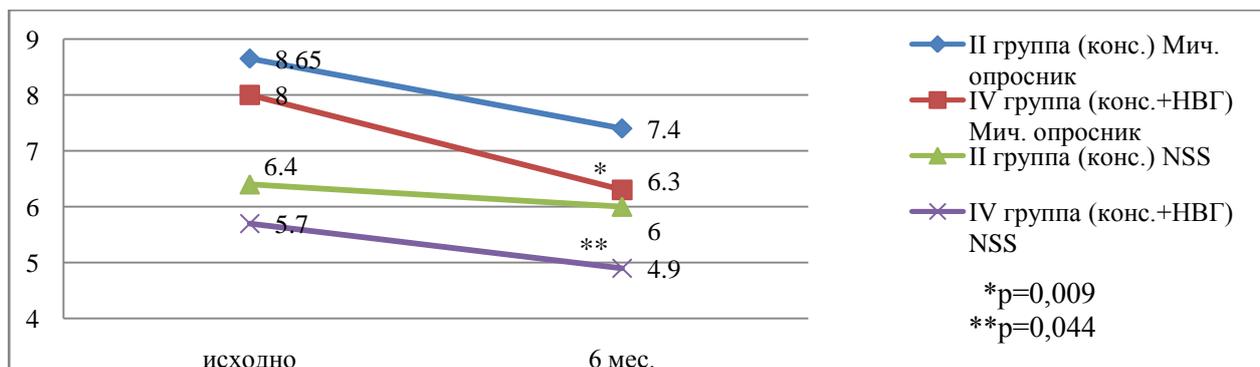


Рис. 8. Динамика течения нейропатии (баллы)

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.

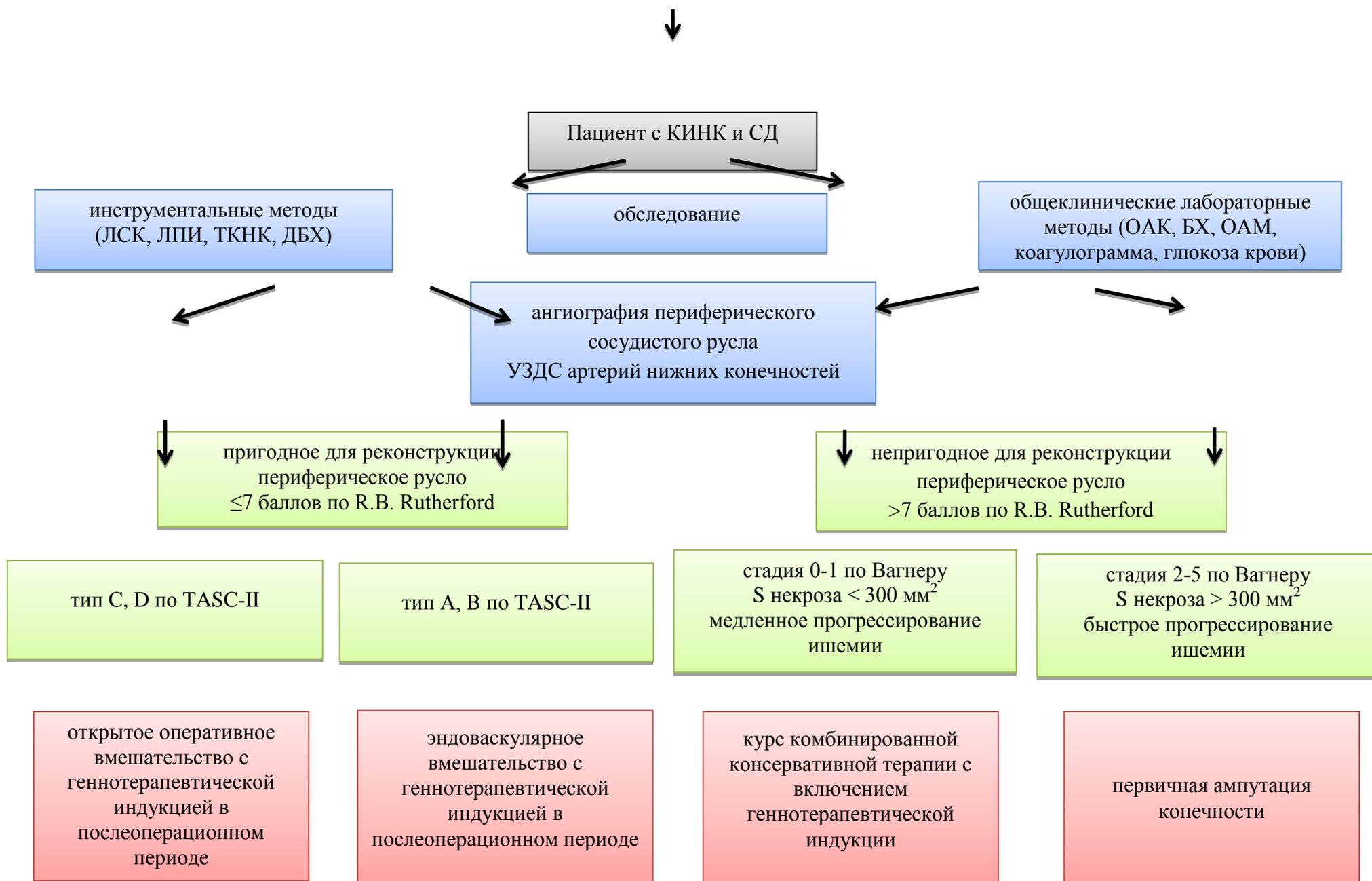


Рис. 9. Алгоритм ведения пациентов с КИНК и СД

## **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 мм<sup>2</sup>) 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