

© М. Ю. Капутин, С. Н. Бурнос, 2015  
УДК 617.58-005.4-08:602.9

М. Ю. Капутин, С. Н. Бурнос

## ПРИМЕНЕНИЕ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ С КРИТИЧЕСКОЙ ИШЕМИЕЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

Кафедра факультетской хирургии (зав. — проф. В. М. Седов), ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» Минздрава РФ, Санкт-Петербург

**Ключевые слова:** стволовые клетки, критическая ишемия конечностей, терапевтический ангиогенез

**Введение.** Снижение количества нетравматических ампутаций конечности является одной из основных проблем здравоохранения во всем мире. С учетом роста распространенности сахарного диабета и старения населения экономически развитых стран актуальность этой проблемы в ближайшее десятилетие только возрастет [4, 12].

Совершенствование техники и инструментария для ангиопластики артерий нижних конечностей привело к тому, что на сегодняшний день этот метод позволяет значительно улучшить кровоток в пораженной конечности у подавляющего большинства пациентов с критической ишемией нижних конечностей (КИНК) [1].

Несмотря на достигнутые успехи, на сегодняшний день остается нерешенной проблема рецидива КИНК в результате рестеноза артерий голени и стопы [21]. Кроме того, у части больных не удается восстановить прямой кровоток к зоне трофического дефекта, что отрицательно сказывается на темпах их заживления [2].

Данный обзор имеет своей целью представить результаты рандомизированных исследований, посвященных изучению роли клеточной терапии в лечении критической ишемии нижних конечностей; а также обосновать возможность применения стволовых клеток с целью улучшения непосредственных и отдаленных результатов периферической ангиопластики.

**Основные понятия и история вопроса.** Стволовые клетки — это недифференцированные клетки, имеющиеся во всех многоклеточных организмах, которым присущи два основных свой-

ства: самообновление, т.е. способность сохранять неизменный фенотип после деления (без дифференцировки), и потентность, или способность давать потомство в виде специализированных типов клеток. В данном обзоре речь пойдет о мультипотентных клетках, способных формировать клетки многих клеточных типов, а именно: о гемопоэтических и мезенхимальных стволовых клетках.

Несколько слов об истории вопроса. Термин «стволовая клетка» (нем. Stammzelle) был предложен к широкому использованию в 1908 г. русским гистологом Александром Александровичем Максимовым (1874–1928) из Императорской Военно-медицинской академии. Он описал гемопоэтические стволовые клетки и доказал их существование методами своего времени [20]. В 1963 г. Эрнест Маккаллох и Джеймс Тилл продемонстрировали присутствие самообновляющихся клеток в костном мозге мыши, а в 1970 г. Александр Яковлевич Фриденштейн выделил из костного мозга морских свинок, успешно культивировал и описал фибробластоподобные клетки, получившие в последующем название мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток [5, 8].

Первым экспериментальным исследованием, в котором была продемонстрирована способность ранних эндотелиальных клеток-предшественников дифференцироваться в эндотелиальные клетки *in vitro*, а также инкорпорироваться в зоны активного ангиогенеза, было исследование Т. Asahara и соавт., опубликованное в 1997 г. [7]. Авторами было высказано предположение о том, что данные клетки могут использоваться для усиления роста

### Сведения об авторах:

Капутин Михаил Юрьевич (e-mail: [mkaputin@mail.ru](mailto:mkaputin@mail.ru)), Бурнос Сергей Николаевич (e-mail: [sergei.burnos@gmail.com](mailto:sergei.burnos@gmail.com)),

кафедра факультетской хирургии, ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова», 197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, 6–8

капилляров в ишемизированных тканях, т.е. для целей терапевтического ангиогенеза.

В организме человека новые сосуды могут образовываться в результате трех процессов. Первым из них является васкулогенез, под которым понимают образование сосудов в пренатальном периоде. По понятным причинам мы не касаемся этого процесса в своем обзоре. Нас будут интересовать ангиогенез, т.е. образование артерий из предсуществующих анастомозов, и ангиогенез — образование новой капиллярной сети. Для удобства изложения под термином терапевтический ангиогенез мы имеем в виду оба эти процесса.

Стимулом для ангиогенеза является изменение гемодинамической ситуации в артерии (например в результате окклюзии), приводящее к воздействию напряжения сдвига на эндотелий сосуда. Выделение клетками эндотелия паракринных проангиогенных факторов приводит к образованию функционирующих коллатералей из мелких анастомозов.

#### Число исследований по источнику, типу и пути введения клеток

Источник клеток	Тип клеток	Путь введения клеток	Число
Жир	МЗ	В/а	2
Жир	МЗ	В/м	3
Костный мозг	ALD-301	В/м	1
Костный мозг	МЗ	В/в	1
Костный мозг	МЗ	В/м	1
Костный мозг	МЗ (алло)	В/м	3
Костный мозг	МН	В/а	3
Костный мозг	МН	В/м	14
Костный мозг	МН/МЗ	В/м	1
Костный мозг	МН/МЗ	В/м или в/а	1
Костный мозг	МН+МЗ/МН	В/м	1
Менструальная кровь	ERC	В/м	1
Периферическая кровь	CD34	В/м	5
Периферическая кровь	МН	В/м	1
Пуповинная кровь	МЗ (алло)	В/м	2
Всего	МЗ	Все	15
	МН	Все	21
	Все	Все	40

Примечание: МЗ — мезенхимальные клетки; МН — мононуклеарные клетки; алло — аллогенные клетки; ALD-301 — клетки, экспрессирующие высокий уровень альдегиддегидрогеназы; ERC — эндометриальные регенеративные клетки; CD34 — маркер человеческих гемопоэтических стволовых клеток и клеток-предшественников; в/м — внутримышечно; в/а — внутриартериально; в/в — внутривенно.

Стимулом для ангиогенеза является ишемия, которая также приводит к смещению динамического равновесия между про- и противангиогенными паракринными факторами в пользу первых. В результате в ишемизированном органе образуются новые коллатеральные сосуды. Физиологическим процессом, сопровождающимся ангиогенезом, является мышечная гипертрофия.

Нужно отметить, что существуют другие теории терапевтического ангиогенеза, однако представленная концепция является наиболее распространенной. Также важно понимать, что процессы ангиогенеза и ангиогенеза являются взаимосвязанными и в большинстве случаев протекают одновременно.

Несмотря на данные ранних исследований, на сегодняшний день нет убедительных доказательств того, что стволовые клетки являются пластическим материалом для вновь образуемых или ремоделируемых сосудов. Тем не менее, доказана их способность к терапевтическому ангиогенезу за счет оказываемых ими паракринных влияний [15].

#### Данные рандомизированных исследований.

На 2014 г. в базе данных «clinicaltrials.gov» зарегистрировано 40 исследований, которые могут быть найдены по запросу: «critical limb ischemia» и «stem cells» (таблица). Из них 15 посвящены изучению мезенхимальных клеток и 26 — гемопоэтических. Костный мозг являлся источником стволовых клеток в 26 исследованиях, периферическая кровь — в 6, жировая ткань — в 5. В 2 исследованиях источником клеток была пуповинная кровь, в 1 — менструальная. В большинстве случаев клетки вводили внутримышечно (в/м) и лишь в 6 исследованиях — внутриартериально (в/а).

Приведенные данные говорят о большей популярности мононуклеарных клеток костного мозга среди исследователей. Это связано, в первую очередь, с возможностью получить терапевтическое количество стволовых клеток без необходимости их культивирования.

Первым рандомизированным клиническим исследованием применения аутологичных мононуклеаров костного мозга у больных с тяжелой ишемией конечности (лодыжечно-подвздошный индекс — ЛПИ < 0,6) было исследование «ТАСТ» («Therapeutic Angiogenesis by Cell Transplantation»), которое включало как пациентов с атеросклеротическим поражением артерий, так и с облитерирующим тромбангиитом. В данном исследовании взвесь клеток вводили в мышцы ишемизированной конечности приблизительно

через 3 ч после забора аспирата из костного мозга [25].

В результате исследования было получено значимое улучшение как гемодинамических (ЛПИ и транскутанное напряжение кислорода), так и клинических показателей (боли в покое и дистанция безболевого ходьбы) в течение 6 мес после введения клеток.

Однако оценка 3-летних результатов лечения пациентов по описанной методике не показала значимых изменений в ЛПИ и транскутанном напряжении кислорода. На этом основании авторы сделали предположение, что клиническое улучшение, в том числе лучшая выживаемость без большой ампутации, обусловлены скорее ангиогенезом, чем артериогенезом [19].

В другом многоцентровом двойном слепом рандомизированном исследовании «PROVASA» изучалось применение аутологичных мононуклеаров костного мозга у больных с КИНК при в/а введении. В протоколе исследования было предусмотрено повторное (в основной группе) или первичное (в контрольной группе) введение стволовых клеток через 3 и 6 мес (при необходимости) от начала рандомизации [22].

Существует мнение, что в/а путь введения стволовых клеток является предпочтительным по следующим причинам [24]:

1. В экспериментальных исследованиях показано, что в/а введение способствует лучшей выживаемости стволовых клеток.

2. Большинство больных с КИНК имеют многоуровневое артериальное поражение, включая бедренно-подколенный сегмент, артерии голени и стопы. Эти зоны более достижимы для стволовых клеток при в/а введении, чем при инъекциях в мышцы голени.

3. Имеется большой опыт и получены положительные результаты при в/а введении стволовых клеток в коронарные артерии при ишемии миокарда.

4. В экспериментальных исследованиях определены сходные показатели ангиогенной активности при в/м и в/а введении стволовых клеток.

В отличие от исследования «ТАСТ» в исследовании «PROVASA» не было выявлено достоверного увеличения ЛПИ в течение 6 мес, однако так же, как и в исследовании «ТАСТ», был получен положительный клинический эффект в виде ускорения заживления язв и уменьшения болевого синдрома. Повторное введение клеток, а также большее число и функциональная способность мононуклеарных клеток явились независимыми предикторами лучшего заживления трофических дефектов.

Противоречивые результаты, а также недостатки дизайна исследования «ТАСТ» привели к необходимости повторного исследования в/м введения аутологичных мононуклеаров костного мозга у больных с КИНК — «BONMOT-CLI» («the BONE Marrow Outcome Trial in Critical Limb Ischemia»). В данное исследование были включены только пациенты с КИНК, у которых не было возможности выполнить реваскуляризацию либо она была неуспешна [6].

Помимо лучшего дизайна, в исследовании «BONMOT-CLI» использовалась более совершенная методика выделения стволовых клеток с применением устройства «VMAC System». Использование данного устройства, разработанного «Harvest Technologies Corp.», позволяет получить необходимое количество мононуклеарных клеток из костного мозга примерно за 15 мин, не подвергая их химическим воздействиям, которые способны привести к повреждению клеток.

Трехмесячные результаты исследования «BONMOT-CLI» выглядят обнадеживающе. Получено достоверное увеличение транскутанного напряжения кислорода и скорости заживления язв, а также отмечена тенденция к улучшению ЛПИ и снижению количества больших ампутаций. Однако для окончательного суждения о результатах исследования необходимо дождаться его завершения.

Подобно исследованию «BONMOT-CLI», исследование «Juventas» («reJUVenating ENdothelial progenitor cells via Transcutaneous intra-Arterial Supplementation») является рандомизированным двойным слепым плацебо-контролируемым исследованием. Так же, как в исследовании «PROVASA», в нем применяется трехкратное в/а введение аутологичных мононуклеаров костного мозга у больных с КИНК. Однако в отличие от исследования «PROVASA» клеточная субстанция, полученная с применением устройства «VMAC System», вводится с 3-недельными интервалами [24].

Если в исследованиях «BONMOT-CLI» и «Juventas» будут получены положительные результаты, возможно, это послужит поводом для включения аутологичных мононуклеаров костного мозга в рутинную терапию КИНК у больных, которым невозможно выполнить реваскуляризацию. Однако может остаться открытым вопрос об оптимальном пути введения клеток, а также о том, какие клетки (гемопоэтические или мезенхимальные) являются предпочтительными для использования у больных с КИНК.

В этой связи представляются интересными данные исследования G. Spinetti и соавт., в

котором изучалось глобальное ремоделирование сосудистых ниш, занимаемых стволовыми клетками в костном мозге у больных с сахарным диабетом. В данном исследовании было показано, что у больных с сахарным диабетом 2-го типа и особенно в сочетании с КИНК отмечается разрежение капиллярного русла костного мозга и замещение его жировой тканью, а также увеличение (до 25%) количества мононуклеаров костного мозга, находящихся в состоянии апоптоза [23].

Сравнение ангиогенного потенциала мезенхимальных и мононуклеарных клеток костного мозга в эксперименте показало существенное преимущество мезенхимальных клеток [13]. Это послужило поводом для двойного слепого рандомизированного контролируемого исследования Debin Lu и соавт. у больных с диабетическими язвами стопы на фоне КИНК. Данное исследование показало преимущество мезенхимальных клеток как при сравнении гемодинамических и ангиографических показателей, так и скорости заживления трофических дефектов [18].

Преимущество мезенхимальных клеток объясняется рядом факторов [14]:

1. При культивировании мезенхимальных клеток размножаются только активные клетки с сохраненными ангиогенными свойствами.

2. Мезенхимальные клетки выделяют большее количество проангиогенных факторов, чем мононуклеарные клетки.

3. Мезенхимальные клетки обладают рядом свойств, которые способствуют регенерации тканей, в том числе иммунорегулирующей и антифибротической активности.

Иммуносупрессия, вызываемая мезенхимальными клетками, позволяет использовать донорские клетки, не вызывая реакции отторжения. Это дает возможность заблаговременно забирать клетки из костного мозга здорового донора, культивировать и хранить их, а затем вводить любому больному с КИНК в качестве лекарственного препарата.

Первая фаза исследования в/а введения аллогенных мезенхимальных клеток у больных с КИНК показала безопасность их применения, а также положительный эффект, проявляющийся увеличением ЛПИ, транскутанного напряжения кислорода и уменьшением болевого синдрома на протяжении 6 мес [9]. Увеличение ЛПИ также было отмечено упомянутой группой авторов в двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании при в/м введении аллогенных мезенхимальных клеток [10]. Однако необходимо дождаться окончательных результатов данных исследований для того, чтобы судить о безопас-

ности и эффективности применения аллогенных мезенхимальных клеток у больных с КИНК.

Необходимо сказать несколько слов о возможности применения мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани для целей терапевтического ангиогенеза.

Исследования в этом направлении начались недавно, однако первые данные внушают оптимизм. В частности, в пилотном исследовании Н.С. Lee и соавт. у 66,7% больных с КИНК получены положительные результаты при внутримышечном введении мезенхимальных стволовых клеток, выделенных из жировой ткани [17].

Современные системы, в частности система «Celution® System» компании «Cytosol Therapeutics» (США), позволяют в течение 1 ч без процедуры культивирования выделить из подкожной жировой клетчатки пациента терапевтическое количество мезенхимальных стволовых клеток. Таким образом, по удобству применения данная методика приближается к использованию аллогенных мезенхимальных клеток, однако сопровождается дополнительной травмой, связанной с забором жировой ткани.

#### **Клеточная терапия и реваскуляризация.**

В подавляющем большинстве исследований клеточной терапии у больных с КИНК показанием для использования стволовых клеток было отсутствие возможности выполнения реваскуляризации. Учитывая, что на сегодняшний день эндоваскулярная реваскуляризация позволяет добиться успеха более чем в 90% случаев, остается очень небольшая область для потенциального применения клеточной терапии [1].

В то же время, использование стволовых клеток с целью улучшения ближайших и отдаленных результатов баллонной ангиопластики способно значительно увеличить роль клеточной терапии в лечении данной категории больных.

При применении стволовых клеток в комбинации с эндоваскулярной реваскуляризацией можно рассчитывать на следующие эффекты:

1. Ускорение репаративных процессов в зоне трофического поражения.

2. Снижение частоты рецидивов КИНК в результате улучшения коллатерального кровоснабжения.

3. Ускорение эндотелизации артерий в зоне ангиопластики.

Последний эффект был доказан в экспериментальном исследовании на кроликах, когда стволовые клетки при в/а введении ускоряли реэндотелизацию сонных артерий и в результате уменьшали процессы пролиферации и миграции гладкомышечных элементов из медиа в неointиму,

которые являются клеточной основой рестеноза [11].

На момент написания данного обзора нам удалось найти 3 исследования, в которых клеточная терапия использовалась в комбинации с реваскуляризацией. Целью первого проспективного исследования было изучить безопасность интраоперационного в/м введения мононуклеарных клеток костного мозга, полученных с применением системы «Harvest», в дополнение к эндоваскулярной или хирургической реваскуляризации у 8 пациентов с трофическими дефектами на фоне КИНК [16].

К сожалению, малое количество пациентов и сроки наблюдения, а также отсутствие группы сравнения не позволяют судить о пользе комбинированной терапии. Однако сама идея интраоперационного использования стволовых клеток во время реваскуляризации, безусловно, заслуживает внимания.

Еще одно рандомизированное исследование («ClinicalTrials.gov Identifier»: NCT01351610), посвященное изучению в/в введения аутологичных мезенхимальных клеток костного мозга в дополнение к баллонной ангиопластике у больных с КИНК, находится в стадии набора материала. Несмотря на то, что нам не известна аргументация авторов исследования, внутривенный путь введения стволовых клеток представляется недостаточным оправданным.

Третье исследование выполнено в Санкт-Петербурге на базе ВМедА им. С.М.Кирова [3]. Оно посвящено изучению результатов комбинированного использования аутологичных мононуклеаров костного мозга в дополнение к баллонной ангиопластике у больных с КИНК. В данном исследовании клетки вводились в/а селективно в случае неполной реваскуляризации. Для контроля использовалась ретроспективная группа пациентов, не получавших клеточной терапии. Несмотря на то, что авторы отметили лучшие клинические результаты в основной группе, нерандомизированный характер исследования и малое число наблюдений не позволяют сделать выводы об эффективности комбинированной терапии.

**Заключение.** Малое число наблюдений и отсутствие результатов рандомизированных исследований на сегодняшний день не дают возможности составить впечатление об эффективности комбинированного применения эндоваскулярной реваскуляризации и клеточной терапии. Остаются открытыми вопросы о времени, последовательности и способах введения,

а также о предпочтительном виде и необходимом количестве стволовых клеток.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Капутин М.Ю., Овчаренко Д.В., Бойцова О.В. и др. Транслюминальная баллонная ангиопластика — метод выбора в лечении критической ишемии нижних конечностей // *Вестн. хир.* 2010. № 4. С. 49–54.
- Капутин М.Ю., Платонов С.А., Овчаренко Д.В. и др. Ангиографические характеристики поражения, влияющие на выбор тактики эндоваскулярной реваскуляризации при критической ишемии нижних конечностей // *Ангиология и сосуд. хир.* 2013. № 1. С. 47–50.
- Маслянюк О.В., Хубулава Г.Г., Ерофеев А.А. и др. Коронарная ангиопластика в лечении больных с сочетанием клапанных пороков и ИБС // *Материалы XIX Всерос. съезда сердечно-сосудистых хирургов. М., 2013. С. 186–186.*
- Предположительная численность населения Российской Федерации до 2025 г. // *Стат. бюлл. ФСГС. М.: Росстат, 2008. 235 с.*
- Фриденштейн А.Я., Чайлахян Р.К., Лалыкина К.С. О фибробластоподобных клетках в культурах кроветворной ткани морских свинок // *Цитология.* 1970. Т. 12, № 9. С. 1147–1155.
- Amann B., Lüdemann C., Rückert R. et al. Design and rationale of a randomized, double-blind, placebo-controlled phase III study for autologous bone marrow cell transplantation in critical limb ischemia: the BONE Marrow Outcomes Trial in Critical Limb Ischemia (BONMOT-CL) // *Vasa.* 2008. Vol. 37 (4). P. 319–325.
- Asahara T., Murohara T., Sullivan A. et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis // *Science.* 1997. Vol. 275 (5302). P. 964–967.
- Becker A.J., McCulloch E.A., Till J.E. Cytological demonstration of the clonal nature of spleen colonies derived from transplanted mouse marrow cells // *Nature.* 1963 Vol. 197. P. 452–454.
- Das A.K., Bin Abdullah B.J., Dhilon S.S. et al. Intra-arterial allogenic mesenchymal stem cells for critical limb ischemia are safe and efficacious: report of a phase I study // *World J. Surg.* 2013. Vol. 37 (4). P. 915–922.
- Gupta P.K., Chullikana A., Parakh R. et al. A double blind randomized placebo controlled phase I/II study assessing the safety and efficacy of allogenic bone marrow derived mesenchymal stem cell in critical limb ischemia // *J. Transl. Med.* 2013. Vol. 11. P. 143.
- Hu C.H., Ke X., Chen K. et al. Transplantation of human umbilical cord-derived endothelial progenitor cells promotes re-endothelialization of the injured carotid artery after balloon injury in New Zealand white rabbits // *Chin. Med. J. (Engl).* 2013. Vol. 126 (8). P. 1480–1485.
- International Diabetes Federation. *Diabetes Atlas, third edition* // IDF. Brussels, 2007.
- Iwase T., Nagaya N., Fujii T. et al. Comparison of angiogenic potency between mesenchymal stem cells and mononuclear cells in a rat model of hindlimb ischemia // *Cardiovasc. Res.* 2005. Vol. 66 (3). P. 543–551.
- Jackson W.M., Nesti L.J., Tuan R.S. Concise review: clinical translation of wound healing therapies based on mesenchymal stem cells // *Stem. Cells Trans. Med.* 2012. 1. P. 44–50.
- Kinnaird T., Stabile E., Burnett M.S. et al. Bone marrow-derived cells for enhancing collateral development mechanisms, animal data, and initial clinical experiences // *Circulation Research.* 2004. Vol. 95. P. 354–363.
- Kolvenbach R., Kreissig C., Cagiannos C. et al. Intraoperative adjunctive stem cell treatment in patients with critical limb ischemia using a novel point-of-care device // *Ann. Vasc. Surg.* 2010. Vol. 24 (3). P. 367–372.

17. Lee H.C., An S.G., Lee H.W. et al. Safety and effect of adipose tissue-derived stem cell implantation in patients with critical limb ischemia: a pilot study // *Circ J.* 2012. Vol. 76 (7). P. 1750–1760.
18. Lu D., Chen B., Liang Z. et al. Comparison of bone marrow mesenchymal stem cells with bone marrow-derived mononuclear cells for treatment of diabetic critical limb ischemia and foot ulcer: a double-blind, randomized, controlled trial // *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2011. Vol. 92 (1). P. 26–36.
19. Matoba S., Tatsumi T., Murohara T. et al. TACT Follow-up study investigators long-term clinical outcome after intramuscular implantation of bone marrow mononuclear cells (Therapeutic Angiogenesis by Cell Transplantation [TACT] trial) in patients with chronic limb ischemia // *Am. Heart J.* 2008. Vol. 156 (5). P. 1010–1018.
20. Maximow A. Der Lymphozyt als gemeinsame Stammzelle der verschiedenen Blutelemente in der embryonalen Entwicklung und im postfetalen Leben der Säugetiere. (Demonstrationsvortrag, gehalten in der ausserordentlichen Sitzung der Berliner Hämatologischen Gesellschaft am 1. Juni 1909) // *Folia Haematologica*, 1909. Bd. 8. S. 125–134.
21. Romiti M., Albers M., Brochado-Neto F.C. et al. Meta-analysis of infrapopliteal angioplasty for chronic critical limb ischemia // *J. Vasc. Surg.* 2008. Vol. 47, № 5. P. 975–981.
22. Ruiz-Salmeron R., de la Cuesta-Diaz A., Constantino-Bermejo M. et al. Angiographic demonstration of neoangiogenesis after intra-arterial infusion of autologous bone marrow mononuclear cells in diabetic patients with critical limb ischemia // *Cell Transplant.* 2011. Vol. 20 (10). P. 1629–1639.
23. Spinetti G., Cordella D., Fortunato O. et al. Global remodeling of the vascular stem cell niche in bone marrow of diabetic patients: implication of the microRNA-155/FOXO3a signaling pathway // *Circ Res.* 2013. Vol. 112 (3). P. 510–522.
24. Sprengers R.W., Moll F.L., Teraa M. et al. Rationale and design of the JUVENTAS trial for repeated intra-arterial infusion of autologous bone marrow-derived mononuclear cells in patients with critical limb ischemia // *J. Vasc. Surg.* 2010. Vol. 51 (6). P. 1564–1568.
25. Tateishi-Yuyama E., Matsubara H., Murohara T. et al. Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomised controlled trial. Therapeutic Angiogenesis using Cell Transplantation (TACT) Study Investigators // *Lancet.* 2002. Vol. 360 (9331). P. 427–435.

Поступила в редакцию 19.11.2014 г.