

ОБЗОРЫ

Реалии и перспективы применения генной терапии в сердечно – сосудистой хирургии

Н.Д. Мжаванадзе ¹, И.Я. Бозо ², Р.Е. Калинин ¹, Р.В. Деев ²

¹Рязанский государственный медицинский университет, Рязань

²Институт Стволовых Клеток Человека, Москва

Realities and prospects of gene therapy in cardiovascular surgery

N.D. Mzhavanadze ¹, I.Y. Bozo ², R.E. Kalinin ¹, R.V. Deev ²

¹Ryazan State Medical University, Ryazan

²Human Stem Cells Institute, Moscow

Актуальность патологии сердечно-сосудистой системы, разработки эффективных методов лечения пациентов с ишемической болезнью сердца, хронической ишемией нижних конечностей несомненна. Учитывая ограничения в выполнимости и эффективности стандартных методов лечения (хирургических и консервативных), разрабатываются принципиально новые подходы. Генная терапия — один из наиболее перспективных. В данном обзоре рассмотрены результаты экспериментальных и клинических исследований, позволяющие оценить текущий статус и перспективы применения генной терапии в медицине в целом и в сердечно-сосудистой хирургии, в частности.

Ключевые слова: сердечно-сосудистая система, ишемическая болезнь сердца, хроническая ишемия нижних конечностей, генная терапия.

Социальная значимость сердечно-сосудистых заболеваний, таких как ишемическая болезнь сердца (ИБС), цереброваскулярная болезнь (ЦВБ), хроническая ишемия нижних конечностей (ХИНК), врожденные и приобретенные пороки сердца, бесспорна. По данным ВОЗ, патология сердечно-сосудистой системы является основной причиной смерти во всем мире (31% от общей смертности населения). По частоте летальных исходов преобладают ИБС (42%) и инсульты (36%) [1]. В России и странах СНГ распространенность сердечно-сосудистых заболеваний среди мужского населения составляет 42–108, среди женского — 34–63 на 1000 человек [2].

Несмотря на постоянное совершенствование хирургических и консервативных методов лечения, оптимизацию стандартов оказания медицинской помощи, частота недостаточно успешных результатов лечения все еще остается довольно высокой. В этой связи, разрабатываются принципиально новые терапевтические подходы, призванные если не заменить стандартные методы, то повысить их эффективность при использовании в рамках комплексного лечения. Одним из наиболее новых, перспективных и уже вошедших (с 2011 г.) в клиническую практику является геннотерапевтический подход.

Революционные открытия в области генетики, произошедшие во второй половине XX века, от установления структуры ДНК Д. Уотсоном, Ф. Криком

The relevance pathology of the cardiovascular system, the development of effective treatments for patients with coronary heart disease, chronic lower limb ischemia are undeniable. New approaches are developed considering limitations of feasibility and efficacy of standard methods of treatment (surgical and conservative). Gene therapy is one of the most promising. This review covers the results of experimental and clinical studies to assess the position of gene therapy in cardiovascular surgery and medicine today and in the future.

Key words: cardiovascular system, coronary heart disease, chronic lower limb ischemia, gene therapy.

и М. Уилкинсом до расшифровки генома человека, заложили прочный фундамент для развития современной междисциплинарной области медицины — «генной терапии». Британский Консультативный комитет по генной терапии в 2004 г. дал следующее определение этому направлению биомедицинских технологий: «Намеренное введение нуклеиновых кислот в соматические клетки с целью лечения, профилактики или диагностики заболеваний». Такая обобщенная формулировка позволяет объединить одним термином ряд различных в идейном плане направлений, характеризующихся специфической методологией, механизмами действия и показаниями к применению. Так, разработка методов лечения пациентов с моногенными наследственными заболеваниями, требующих пожизненной экспрессии терапевтического гена, связана, прежде всего, с коррекцией ядерного генома с использованием ретровирусных векторов [3]. В то же время, для устранения приобретенной патологии, в том числе ИБС и ХИНК, показана временная экспрессия трансгена без его включения в ядерный геном, что достигается, главным образом, применением аденовирусных или невирусных систем доставки [4].

В качестве терапевтических молекул в рамках генной терапии могут быть использованы различные по составу и строению нуклеиновые кислоты как в «чистом» виде, так и в комплексах с вспомогательными

e-mail: nina_mzhavanadze@mail.ru

молекулами/ структурами (например, липосомы), использование которых нацелено на защиту генетических конструкций, повышение эффективности трансфекции [5]. Клетки-мишени, в которые поступили нуклеиновые кислоты с терапевтическими генами, становятся своего рода «биореакторами» белков, продуцируемых пролонгированно и определяющих лечебный эффект.

С момента первого клинического исследования по трансферу генов, проведенному в 1989 г. [6] было одобрено уже более 1500 протоколов по всему миру. Из них 8,4% составляют клинические исследования геннотерапевтических препаратов, показанных для лечения пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, главным образом ИБС и ХИНК (третье место по количеству после исследований в рамках онкологии (64,7%) и лечения моногенных наследственных заболеваний (8,5%)) [7].

**Генная терапия
для обеспечения микроциркуляции и
коллатерального кровотока:
«терапевтический ангиогенез»**

«Терапевтический ангиогенез» — это комплекс методов, обеспечивающих образование новых сосудов гемомикроциркуляторного русла. Процесс ангиогенеза включает активацию эндотелиальных клеток, экспрессию ими протеаз, деградацию внеклеточного матрикса, пролиферацию и миграцию этих клеток, образование ими первичных высокопроницаемых сосудистых структур, последующую стабилизацию и «функциональное ремоделирование» этих структур за счет привлечения перicytтов и гладкомышечных клеток и организацию их в сложную трехмерную сосудистую сеть [8]. Описанные этапы являются ключевыми точками приложения терапевтических вмешательств в рамках лечебных подходов. Таким образом, терапевтический ангиогенез, который иногда называют биологическим шунтированием, представляет собой новую тактику улучшения перфузии ишемизированных тканей с помощью усиления естественных, но недостаточных процессов неоваскуляризации.

Потребность в терапевтическом ангиогенезе стоит особенно остро при дистальной форме ХИНК, ишемической болезни сердца, инфаркте миокарда, при которых хирургические методы лечения либо невыполнимы, либо недостаточно эффективны, сопряжены с высокой частотой противопоказаний и осложнений. Учитывая распространенность заболеваний и их социальную значимость, активно разрабатываются консервативные подходы, способные если не заменить, то существенно повысить эффективность комбинированного лечения при использовании вместе с хирургическими методами.

С полной уверенностью можно утверждать, что именно в части терапевтического ангиогенеза методы генной терапии показали наибольшую эффективность. Для разработки геннотерапевтических препаратов используются гены наиболее известных факторов, в различной степени участвующих в ангиогенезе: сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), фактор роста фибробластов (FGF), гепатоцитарный фактор роста (HGF); фактор, полученный из стромальных клеток (SDF), ангиопоэтин (ANG), индуцированный гипоксией фактор-1 α (HIF-1 α). Учитывая общность механизма действия, большинство

разрабатываемых геннотерапевтических препаратов исследуются при лечении пациентов как с ХИНК, так и с ишемическими поражениями миокарда.

Лечение пациентов с ИБС

ИБС и ее осложнения продолжают лидировать среди причин смерти, несмотря на значительный прогресс в контроле факторов риска и лечении, включая широкое распространение хирургических и эндоваскулярных методов реваскуляризации [2]. В этой связи, целый ряд геннотерапевтических препаратов, успешно прошедших этап экспериментальной апробации, находятся на разных стадиях клинических исследований.

Одними из наиболее очевидных, известных и эффективных кандидатов для использования в терапевтическом ангиогенезе являются гены различных изоформ VEGF. Однако, результаты клинических исследований пока не оправдывают ожиданий в полной мере.

Так, М. Hedman с соавт. (2009) опубликовали результаты 8-летних наблюдений в рамках сравнительного плацебо-контролируемого клинического исследования безопасности препаратов на основе аденовирусного вектора и ДНК-плазмид с геном VEGF165 (в липосомах) в лечении пациентов с ИБС, планирующих для хирургического лечения (n=103). Всем пациентам в ходе коронарной ангиопластики или стентирования выполнялись интрамиокардиальные инъекции препаратов. В результате, статистически значимых различий в 8-летней выживаемости пациентов (82% суммарно), а также в развитии неблагоприятных явлений обнаружено не было [9].

Та же исследовательская группа в настоящее время в Финляндии выполняет I/IIa фазу клинических испытаний препарата на основе аденовирусного вектора с VEGF-D для лечения пациентов со стенокардией напряжения II-III ФК (иницировано в октябре 2009 г., окончание — декабрь 2013) [10].

Другую группу терапевтических генов составляют последовательности, кодирующие разные изоформы FGF. Так, в настоящее время в России запланировано проведение III фазы клинических испытаний геннотерапевтического препарата «Generx», российское название «Кардионово» (Cardium Therapeutics Inc.) на 6 базах, запланировано участие 130 пациентов [11]. Однако, введение препарата на основе аденовирусных векторов с геном FGF-4 весьма сложное — интракоронарное, с использованием специальной системы. В предыдущих клинических исследованиях было показано, что препарат оказывает терапевтический эффект, проявляющийся в снижении количества и продолжительности приступов стенокардии (зарегистрированных с помощью электрокардиографии), только у женщин. В случае мужчин эффект был даже ниже, чем в группе плацебо [12].

Ряд разработок связаны с исследованием эффективности геннотерапевтических препаратов на основе гена HGF. В частности, в Корее проводится клиническое исследование безопасности (фаза I) препарата на основе ДНК-плазмид с геном HGF (ViroMed Co., Ltd.; VM Biopharma), вводимого интрамиокардиально при выполнении шунтирующих операций на коронарных сосудах пациентам с ИБС (иницировано в январе 2007, дата окончания — август 2014) [13]. При этом, в ноябре 2012 компании-разработчики

планируют начать I/II фазу клинических испытаний того же препарата в США [14].

Помимо ДНК-плазмид, кодирующих один терапевтический ген, разрабатываются препараты на основе нуклеиновых кислот, включающих сразу несколько генов. Предполагается, что экспрессируемые факторы будут потенцировать действие друг друга, тем самым значимо усилив эффект терапевтического ангиогенеза. Одной из наиболее распространенных комбинаций является VEGF-A165/bFGF. В частности, в Польше в мае 2009 г. завершились клинические исследования безопасности и эффективности (фаза II) препарата на основе плазмиды с указанными генами. Препарат вводился интрамиокардиально пациентам со стенокардией напряжения III-IV ФК. при выполнении оперативного лечения [15]. В ходе исследования было установлено, что перфузия миокарда, измеренная в покое и при нагрузке, не отличалась от таковой в контрольной группе. Однако улучшилась переносимость физической нагрузки (предельной, рабочей) [16].

Таким образом, разработка геннотерапевтических препаратов, показанных для лечения пациентов с ИБС, выполняется во всем мире довольно активно. Анализируя опубликованные результаты клинических исследований, можно сделать вывод о безопасности препаратов как на основе невирусных, так и вирусных векторов. Что интересно, несмотря на многократно более высокую эффективность трансфекции при использовании вирусных геннотерапевтических конструкций в сравнительных исследованиях и при сопоставлении результатов разных исследований выраженной разницы в клинической эффективности лечения пациентов с ИБС не наблюдается. Однако для более обоснованных выводов, конечно, необходимы данные полноценного мета-анализа, которые пока отсутствуют.

Лечение пациентов с хронической ишемией нижних конечностей

Хроническая ишемия нижних конечностей (ХИНК), несмотря на развитость методов хирургического лечения, высокотехнологичной медицинской помощи, остается актуальной проблемой в практике сердечно-сосудистой хирургии. Общая распространенность заболеваний периферических артерий варьирует в пределах 3–10%, достигая 15–20% среди больных старше 70 лет [17]. Академик РАМН А.В. Покровский отмечает недостаточный арсенал средств в лечении больных с данной патологией в наши дни и необходимость разработки новых способов лечения хронической ишемии: «Возможно положительный результат кроется в генных технологиях» [18].

Успешные результаты экспериментальных исследований в рамках генной терапии создали необходимое подспорье для клинических исследований, хотя и не детализировали все аспекты механизмов действия геннотерапевтических препаратов. Однако эффективность подхода и его «инструментов» налицо.

Так, в 2011 г. государственную регистрацию на территории РФ получил разработанный российскими учеными геннотерапевтический препарат на основе ДНК-плазмид с геном VEGF («Неоваскулген») для лечения ХИНК, включая критическую. В соответствии с «Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASC II)»

и «Российскими национальными рекомендациями по ведению пациентов с сосудистой артериальной патологией» для подтверждения эффективности данного препарата использовались методы диагностики самого высокого I класса (контрастная ангиография). Процент «успеха» терапии составил 93,6%. У наблюдаемых пациентов были установлены: регресс клинических признаков ишемии, уменьшение болевого синдрома при длительной ходьбе, исчезновение клинических признаков ишемии и болей в покое.

В контрольной группе в ходе всего исследования отмечалась негативная динамика каждого показателя [19]. В России исследованиями в области терапевтического ангиогенеза с применением ДНК-плазмид с VEGF занимаются и другие научные группы [20, 21].

На стадии клинических исследований находятся геннотерапевтические препараты как на основе ДНК-плазмид с VEGF, так и включающие нуклеиновые кислоты с генами других факторов.

В частности, в декабре 2011 г. в США завершилась первая фаза клинических испытаний препарата на основе ДНК-плазмид с VEGF-A, показанного для лечения ХИНК, доказавших безопасность препарата [22], что согласуется с результатами целого ряда аналогичных клинических исследований, проведенных за последние 15 лет [23].

Другим терапевтическим геном, включаемым в состав плазмид фармкомпозиций, является FGF. В частности, в ряде клинических исследований была доказана безопасность препаратов с ДНК-плазмидами с FGF-1 при их внутримышечном введении в ишемизированную область при ХИНК, в том числе критической [24, 25]. К настоящему времени завершилась III фаза клинических испытания генно-терапевтического препарата с FGF-1, проведенных компанией Sanofi-Aventis в 32 странах (в том числе Россия, США, Великобритания, Германия, Франция и др.) при лечении пациентов с критической ХИНК с язвами кожи. При статистическом анализе результатов на сроке наблюдения в 1 год не было выявлено статистически значимых различий между целевой и контрольной группами в плане выживаемости пациентов и частоты ампутаций [26].

Другие научные группы исследуют эффективность геннотерапевтических препаратов с геном HGF. В частности, в США, Корею [27] и Китае [28] проходит II фаза клинических исследований фармкомпозиции на основе ДНК-плазмид с геном HGF (ViroMed Inc.).

При этом, завершилась III фаза клинических исследований аналогичного по составу препарата Collategene (AnGes Inc.), введение которого было выполнено 27 пациентам с критической ишемией нижних конечностей. Через 12 нед. у 70% из пациентов указанной группы наблюдалось статистически значимое снижение болей в покое, уменьшение размеров язвенных поражений кожи, увеличение лодыечно-плечевого индекса и улучшение качества жизни [29].

В качестве целевого гена ряд разработчиков исследуют нуклеотидную последовательность, кодирующую SDF. Механизм действия SDF состоит в привлечении клеточных источников (прежде всего, эндотелиальных прогениторных клеток) из костного мозга, кровотока, «периферических тканей» в целевую область по градиенту концентрации. В настоящее

время в США и Индии проходит II фазу клинических испытаний препарат JVC-100 (Juventas Therapeutics, Inc.), показанный для лечения ХИНК [30].

В клиническом исследовании М.А. Creager с соавт. (2011) применение гена HIF-1 α в составе аденовирусного вектора для лечения пациентов с ХИНК оказалось неэффективным. На сроках 3, 6, 12 мес. не было выявлено статистически значимых различий в показателях качества жизни, дистанции безболевой ходьбы и лодыжечно-плечевого индекса между целевой и контрольной группами [31].

Таким образом, для терапевтического ангиогенеза, показанного при ИБС и ХИНК, наиболее эффективны препараты с геном VEGF, что подтверждено результатами многочисленных клинических исследований [32]. Результаты применения геннотерапевтических конструкций с нуклеотидной последовательностью, кодирующей FGF, довольно противоречивы, однако можно утверждать, что в случае лечения пациентов с ИБС эффект более выраженный, чем при ХИНК. Есть основания полагать, что нуклеиновые кислоты, кодирующие другие ангиогенные факторы (HGF, HIF-1 α), наименее перспективны для применения в терапии ИБС и ХИНК.

Генная терапия для обеспечения магистрального кровотока: профилактика рестеноза

Высоко актуальной проблемой в практике сердечно-сосудистой хирургии является возникновение стеноза имплантированных стентов сосудов, главным образом, за счет пролиферации гладкомышечных клеток, приводящей к гиперплазии «неоинтимы». Методы профилактики, как находящиеся на стадии разработки, так уже применяющиеся в клинике, крайне разнообразны: от использования металлических стентов [33], имплантатов с лекарственными покрытиями до системного применения различных групп лекарственных препаратов, ингибирующих пролиферацию лейомиоцитов [34]. Однако, как показано в экспериментальных и клинических исследованиях, ни один из методов не обладает достаточной эффективностью.

Геннотерапевтический подход к профилактике рестеноза состоит главным образом, в использовании стентов с покрытиями, содержащими нуклеиновые кислоты. Описаны методы системного введения геннотерапевтических препаратов в раннем послеоперационном периоде после баллонной ангиопластики или стентирования [35]. Большинство же разработок связаны с применением кодирующих ДНК-плазмид с генами NO-синтаз [36, 37]. Выбор терапевтического гена обусловлен биологической ролью NO-синтаз: снижение пролиферативной активности и миграции гладкомышечных клеток в сочетании с повышением таковых в случае эндотелиоцитов, а также наличие вазодилиатирующего эффекта [38]. Основные отличия технологических подходов разных авторов связаны с включением вспомогательных веществ для улучшения трансфекции невирусных геннотерапевтических конструкций и их иммобилизации на внутренней поверхности стентов.

В частности, L.A. Brito с соавт. (2010) исследовали эффективность применения комплексов поли- β -аминоэстера с ДНК-плазмидами, которые заключали в катионные липосомы. В качестве терапевтического гена использовалась кодирующая eNO-синтазу

нуклеотидная последовательность. В ходе лабораторного этапа исследования использование таких систем доставки позволило добиться эффективности трансфекции эндотелиоцитов и гладкомышечных клеток на уровне 20% и 33% соответственно [39]. Комплексы «ДНК-плазида с геном eNO-синтазы — поли- β -аминоэстер», заключенные в липосомы, иммобилизовались на поверхности стентов с помощью покрытия из желатина В. При имплантации «ген-оптимизированных стентов» в область резецированной подвздошной артерии кроликов через 14 сут. определялись статистически значимо меньшая толщина «неоинтимы», более низкий уровень пролиферации лейомиоцитов и активная эндотелизация внутренней поверхности имплантата.

Другой подход состоит в совмещении материала стента с нуклеиновыми кислотами посредством специфических антител к молекулам ДНК [37, 40]. Очевидно, что метод не нацелен на повышение эффективности трансфекции *in vivo*, уровень которой при использовании таких «геннотерапевтических стентов» не превышает 7% (количество клеток «неоинтимы», экспрессирующих трансген, по отношению к общему количеству клеток «неоинтимы»).

Несмотря на то, что тренд разработок в рамках генной терапии для профилактики рестенозов связан с использованием генов NO-синтаз, ряд авторов придерживаются иного подхода, базирующегося на применении гена сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), который повышает уровень пролиферации эндотелиальных и гладкомышечных клеток. Теоретическая основа использования ДНК-плазмид с VEGF для профилактики рестеноза заключается в усилении эндотелизации, которая превалирует над повышением пролиферации лейомиоцитов. В результате пропорционально увеличению численности эндотелиоцитов повышается уровень NO, торгующий в свою очередь пролиферацию и миграцию гладкомышечных клеток [41]. Указанный подход лег в основу разработки изделия медицинского назначения «Trinam» (Arc. Therapeutics Inc.), представляющего собой коллагеновый матрикс с аденовирусными геннотерапевтическими конструкциями, кодирующими VEGF-D. Как считают разработчики, «Trinam» показан, прежде всего, для покрытия наружной поверхности зоны анастомоза сосудов при формировании артерио-венозного доступа для гемодиализа. На данный момент приостановлена III фаза клинических исследований, для продолжения которых ведется поиск партнеров [42].

Таким образом, геннотерапевтические методы в рамках пластики крупных сосудов, нацеленные, главным образом, на профилактику рестеноза, разрабатываются довольно активно. Уже сформировался тренд разработок, связанный с созданием стентов, на внутренней поверхности которых иммобилизованы нуклеиновые кислоты с геном, кодирующим eNO- или iNO-синтазу. Однако, более актуальными исследования в рамках генной терапии, сфокусированные на разработке методов коррекции гемомикроциркуляторного русла.

Заключение

Накопленные за последние 10–15 лет результаты экспериментальных и клинических исследований в рамках генной терапии позволяют с уверенностью утверждать, что, несмотря на сравнительно короткую

историю разработок, её продукты (геннотерапевтические препараты, изделия медицинского назначения, технологии) прочно войдут в практику сердечно-сосудистой хирургии. Начало положено: первый

препарат, ставший благодаря своей эффективности и инновационности, довольно известным не только в России, но и за ее пределами, уже разрешен и доступен для применения в клинике [43].

ЛИТЕРАТУРА:

- Cardiovascular diseases (CVDs). Fact sheet N 317, 2011. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html>.
- Global atlas on cardiovascular disease prevention and control. http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241564373_eng.pdf.
- Maier P., von Kalle C., Laufs S. et al. Retroviral vectors for gene therapy. *Future Microbiol.* 2010; 5(10): 1507–23.
- Hammond H.K., McKirnan M.D. Angiogenic gene therapy for heart disease: a review of animal studies and clinical trials. *Cardiovasc. Res.* 2001; 49(3): 561–7.
- Niidome T., Huang L. Gene therapy progress and prospects: nonviral vectors. *Gene Ther.* 2002; 9(24): 1647–52.
- Rosenberg S.A., Aebbersold P., Cornetta K. et al. Gene transfer into humans immunotherapy of patients with advanced melanoma, using tumor-infiltrating lymphocytes modified by retroviral gene transduction. *New Eng. J. Med.* 1990. 323(9): 570–8.
- Phases of gene therapy clinical trials. Gene therapy clinical trials worldwide, provided by the journal of Gene medicine. Mode of access: <http://www.wiley.com/legacy/wileychi/genmed/clinical/>
- Carmeliet P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nat. Med.* 2000; 6(4): 389–95.
- Hedman M., Muona K., Hedman A. et al. Eight-year safety follow-up of coronary artery disease patients after local intracoronary VEGF gene transfer. *Gene Ther.* 2009; 16(5): 629–34.
- Endocardial vascular endothelial growth factor-D (VEGF-D) gene therapy for the treatment of severe coronary heart disease (KAT301). <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01002430?term=VEGFD+gene+therapy&rank=1>.
- Efficacy and safety of Ad5FGF-4 for myocardial ischemia in patients with stable angina due to coronary artery disease (ASPIRE). <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01550614?term=gene+therapy+Coronary+Heart+Disease+Phase+3&rank=8>.
- Henry T.D., Grines C.L., Watkins M.W. et al. Effects of Ad5FGF-4 in patients with angina: an analysis of pooled data from the AGENT-3 and AGENT-4 trials. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2007; 50(11): 1038–46.
- Safety study of gene therapy for ischemic heart disease in Korea. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01422772?term=ViroMed&rank=5>.
- Gene therapy for the treatment of chronic stable angina. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01002495?term=ViroMed&rank=8>.
- Angiogenesis using VEGF-A165/bFGF plasmid delivered percutaneously in no-option CAD patients; a controlled trial (VIF-CAD). <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00620217?term=Angiogenesis+Using+VEGF-A165%2FbFGF+Plasmid+Delivered+Percutaneous+y+in+No-option+CAD+Patients%3B+a+Controlled+Trial+%28VIF-CAD%29&rank=1>.
- Kukula K., Chojnowska L., Dąbrowski M. et al. Intramyocardial plasmid-encoding human vascular endothelial growth factor A165/basic fibroblast growth factor therapy using percutaneous transcatheter approach in patients with refractory coronary artery disease (VIF-CAD). *Am. Heart J.* 2011; 161(3): 581–9.
- Шойхет Я.Н., Хореев Н.Г. Клеточные технологии в лечении заболеваний периферических артерий. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия* 2011; VI(3): 15–23.
- Интервью с Президентом Российского общества ангиологов и сосудистых хирургов академиком РАН профессором Анатолием Владимировичем Покровским. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия* 2011; VI(3): 13–14.
- Швальб П.Г., Гавриленко А.В., Калинин Р.Е. и др. Эффективность и безопасность применения препарата «Неоваскулген» в комплексной терапии пациентов с хронической ишемией нижних конечностей (IIb-III фаза клинических испытаний). *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2011 Сентябрь; Том VI (3): 76–83.
- Талицкий К.А., Булкина О.С., Арефьева Т.И. и др. Эффективность терапевтического ангиогенеза у больных с хронической ишемией нижних конечностей. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия* 2011; VI(3): 76–83.
- Парфенова Е.В., Ткачук В.А. Терапевтический ангиогенез: достижения, проблемы, перспективы. *Кардиологический вестник* 2007; 2(2): 5–15.
- EW-A-401 to treat intermittent claudication. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT0080392?term=EW-A-401+to+Treat+Intermittent+Claudication&rank=1>.
- Деев П.В., Червяков Ю.В., Калинин Р.Е., Исаев А.А. Теоретические и практические аспекты применения препарата на основе нуклеиновой кислоты, кодирующей эндотелиальный сосудистый фактор роста («Неоваскулген»). *Ангиология* 2012; 1: 43–50.
- Niebuhr A., Henry T., Goldman J. et al. Long-term safety of intramuscular gene transfer of non-viral FGF1 for peripheral artery disease. *Gene Ther.* 2012; 19(3): 264–70.
- Nikol S., Baumgartner I., Van Belle E. et al. Therapeutic angiogenesis with intramuscular NV1FGF improves amputation-free survival in patients with critical limb ischemia. *Mol Ther.* 2008; 16(5): 972–8.
- Belch J., Hiatt W.R., Baumgartner I. et al. Effect of fibroblast growth factor NV1FGF on amputation and death: a randomised placebo-controlled trial of gene therapy in critical limb ischaemia. *Lancet* 2011; 377(9781): 1929–37.
- Safety and efficacy study using gene therapy for critical limb ischemia. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01064440?term=Safety+and+Efficacy+Study+Using+Gene+Therapy+for+Critical+Limb+Ischemia&rank=1>.
- Safety and efficacy study using gene therapy for critical limb ischemia. <http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=Safety+and+Efficacy+Study+Using+Gene+Therapy+for+Critical+Limb+Ischemia>.
- Shigematsu H., Yasuda K., Iwai T. et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial of hepatocyte growth factor plasmid for critical limb ischemia. *Gene Ther.* 2010; 17(9): 1152–61.
- Study to Evaluate the Safety and Efficacy of JVS-100 Administered to Adults With Critical Limb Ischemia. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01410331?term=Juvantas&rank=2>.
- Creager M.A., Olin J.W., Belch J.J. et al. Effect of hypoxia-inducible factor-1alpha gene therapy on walking performance in patients with intermittent claudication. *Circulation* 2011; 124(16): 1765–73.
- Деев П.В., Григорян А.С., Потапов И.В. и др. Мировой опыт и тенденции генотерапии ишемических заболеваний. *Ангиология и сосудистая хирургия* 2011; 17(2): 145–54.
- Kastrati A., Mehili J., Dirschinger J. et al. Restenosis after coronary placement of various stent types. *Am. J. Cardiol.* 2001; 87: 34–9.
- García-García H.M., Vaina S., Tsuchida K. et al. Drug-eluting stents. *Arch. Cardiol. Mex.* 2006; 76(3): 297–319.
- Hedman M., Hartikainen J., Syväne M. Safety and feasibility of catheter-based local intracoronary vascular endothelial growth factor gene transfer in the prevention of postangioplasty and in-stent restenosis and in the treatment of chronic myocardial ischemia: phase II results of the Kuopio Angiogenesis Trial (KAT). *Circulation* 2003; 107(21): 2677–83.
- Brito L.A., Chandrasekhar S., Little S.R. et al. Non-viral eNOS gene delivery and transfection with stents for the treatment of restenosis. *Biomed. Eng. Online.* 2010; 27(9): 56.
- Zhang L.H., Luo T., Zhang C. et al. Anti-DNA antibody modified coronary stent for plasmid gene delivery: results obtained from a porcine coronary stent model. *J. Gene Med.* 2011; 13(1): 37–45.
- Barbato J.E., Tzeng E. Nitric oxide and arterial disease. *J. Vasc. Surg.* 2004; 40: 187–93.
- Brito L., Little S., Langer R. et al. Poly(beta-amino ester) and cationic phospholipid-based lipopolyplexes for gene delivery and transfection in human aortic endothelial and smooth muscle cells. *Biomacromolecules* 2008; 9(4): 1179–87.
- Jin X., Mei L., Song C. et al. Immobilization of plasmid DNA on an anti-DNA antibody modified coronary stent for intravascular site-specific gene therapy. *J. Gene Med.* 2008; 10(4): 421–9.
- Walter D.H., Cejna M., Diaz-Sandoval L. et al. Local gene transfer of phVEGF-2 plasmid by gene-eluting stents: an alternative strategy for inhibition of restenosis. *Circulation* 2004; 110(11): 36–45.
- Adenovirus Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Therapy in Vascular Access - Novel Trinam AGainst Control Evidence (Adv-VANTAGE). <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00895479?term=Trinam&rank=1>.
- А.А. Исаев. Генная терапия: Китай и Россия опережают США. <http://www.celltranspl.ru/blog/post/76>.

Поступила: 03.04.2012