

## ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ АНГИОГЕНЕЗ В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКИМИ ОБЛИТЕРИРУЮЩИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ АРТЕРИЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ. БЛИЖАЙШИЕ И ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ.

ЧЕРВЯКОВ Ю.В.<sup>1</sup>, СТАРОВЕРОВ И.Н.<sup>1</sup>, НЕРСЕСЯН Е.Г.<sup>1</sup>, ИСАЕВ А.А.<sup>2</sup>, ДЕЕВ Р.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Отделение сосудистой хирургии, ГБУЗ ЯО «Областная клиническая больница»; кафедра хирургии ИПДО, Ярославская Государственная медицинская академия, Ярославль, Россия.

<sup>2</sup> Институт стволовых клеток человека, Москва, Россия.

*В работе изложен опыт реализации концепции «терапевтического ангиогенеза» с помощью первого отечественного генотерапевтического препарата Неоваскулген в комплексном лечении больных с хроническими облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей (ХОЗАНК) II-III стадии по А.В. Покровскому-Фонтейну. Общее число больных составило 45 человек. Оценка и анализ результатов проведены в зависимости от стадии хронической ишемии нижних конечностей. Клинические результаты, включавшие определение дистанции безболевого ходьбы (ДБХ), лодыжечно-плечевой индекс (ЛПИ), линейную скорость кровотока (ЛСК) прослежены в сроки до 2-х лет. У всех пациентов отмечена хорошая переносимость, а в сроки до 2-х лет констатировано отсутствие побочных эффектов и осложнений. У больных с ПБ стадией заболевания через год установлены статистически достоверные результаты, свидетельствующие об улучшении кровообращения в ишемизированных нижних конечностях после применения препарата по показателям ДБХ и ЛСК ( $p < 0,05$ ). При III стадии заболевания достоверные результаты отмечены по показателям ДБХ ( $p < 0,05$ ). У значительного большинства больных при ПБ и III стадии ХОЗАНК (84,4%) отмечено повышение физических возможностей к передвижению за счет значительного увеличения ДБХ ( $p < 0,01$ ). Отмечено, что применение препарата в комплексном лечении ХОЗАНК приводит к стойкому положительному результату продолжительностью не менее одного года. При этом 50% пациентов из ПБ и 16,7% из III ст. перешли во IIIА стадию заболевания. Эффект лечения сохранялся и на протяжении второго года наблюдения.*

**Ключевые слова:** терапевтический ангиогенез, атеросклероз артерий нижних конечностей, Неоваскулген, клиническое исследование

### ВВЕДЕНИЕ

Ишемические поражения нижних конечностей занимают важное место в структуре сердечно-сосудистой заболеваемости. Распространенность ишемии нижних конечностей среди населения старше 50 лет составляет 5-8%, а при наличии таких факторов риска как гиперлипидемия, курение, артериальная гипертензия или сахарный диабет достигает 30% [1]. Прогрессирование хронической ишемии нижних конечностей приводит к ампутации с той же частотой, что и 30 лет назад [2, 3]. После появления первых симптомов, характерных для артериальной недостаточности нижних конечностей, у 10-40% больных в течение 3-5 лет прогрессирование заболевания приводит к гангрене и ампутации конечности [4]. В среднем, продолжительность жизни больных с ХОЗАНК сокращается на 10 лет по отношению к таковой в общей популяции при том же возрасте [5]. Наблюдая в течение 8 лет за развитием облитерирующих заболеваний артерий нижних конечностей, Rosenblum с соавторами отметили, что из 195 больных с перемежающейся хромотой у 41% развились «боли покоя» или некроз тканей [4].

Современные методы лечения больных с хроническими облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей (ХОЗАНК) включают консервативную и хирургическую тактику. Лечебная

физкультура и фармакотерапия, прямая реваскуляризация и эндоваскулярная хирургия — все эти методы используются по показаниям и имеют определенную эффективность. Традиционно лечение начинается с консервативной терапии, но если эффект недостаточен, то у большей части больных клинический успех может быть достигнут с помощью хирургических вмешательств.

Несмотря на то, что в арсенале сосудистых хирургов имеется несколько способов хирургической коррекции облитерирующих заболеваний артерий нижних конечностей, около 20-30% пациентов с ХОЗАНК относятся к «неоперабельным», имеют общее тяжелое соматическое состояние, что связано с дистальными или многоэтажными формами поражений сосудов. Выполнение сосудистых реконструкций у этих пациентов весьма ограничено в связи с высоким риском тромбозов зон реконструкции в ближайшем послеоперационном периоде. Процент ранних послеоперационных тромбозов не имеет тенденции к снижению и колеблется в пределах 4-25% [6-8]. Реконструкции, выполненные на бедренно-подколенном сегменте, в 8-10 раз чаще сопровождаются ретромбозами, чем операции на аорто-подвздошном сегменте [9,10]. Наиболее частой причиной ранних тромбозов мест реконструкции является неадекватная оценка дисталь-

ного сосудистого русла [7,9]. Часто единственным возможным лечебным мероприятием для подобных пациентов при «критической ишемии» становится ампутация.

Одним из новых путей в лечении данной группы пациентов может быть использование генно-инженерных технологий, направленных на обеспечение эффективного неоангиогенеза в поражённых конечностях. Опыт зарубежных коллег и отечественных исследователей показывает возможности терапевтического ангиогенеза, как метода, способствующего сохранению конечности, увеличивающего дистанцию безболезненной ходьбы и улучшающего показатели качества жизни намного эффективнее, чем стандартная фармакотерапия.

Концепция терапевтического ангиогенеза берет свое начало от инновационных работ J. Folkman в 70-х годах прошлого века, который заметил, что развитие и поддержание достаточного числа микрососудов имеет важное значение для роста тканей. Вскоре после идентификации ангиогенных факторов роста, исследователи начали проверять гипотезу улучшения кровоснабжения в ишемизированных тканях независимо от операций на сосудах посредством белковой и генной стимуляции ангиогенеза, в том числе и путем развития коллатеральных сосудов вокруг зоны окклюзии [2, 11].

Основными молекулярными факторами, инициирующими и контролирующими рост сосудов, являются в большей степени различные виды сосудистых эндотелиальных факторов роста (vascular endothelial growth factor, VEGF), в меньшей степени – иные паракринные факторы регуляции клеточного метаболизма, например факторы роста фибробластов (fibroblast growth factor, FGF). Перенос генов данных факторов в клетки ишемизированных тканей вызывает индукцию синтеза закодированных ими ангиогенных молекул, и, как следствие, может инициировать рост и развитие сосудов [12,13]. К настоящему времени несколько таких генов (VEGF165 и VEGF121; FGF1 и FGF4; др.) прошли 1 и 2 фазы клинических испытаний в качестве терапевтических агентов [14,15]. Было убедительно показано, что при ишемии конечностей, и при ишемии миокарда препараты на основе гена VEGF165 безусловно лидируют по критериям безопасности и эффективности [16].

Наиболее безопасной стратегией переноса нужного гена в клетки-мишени является использование невирусных систем, в частности – плазмид. В клинической практике в большинстве случаев раствор, содержащий плазмиды, вводится пациентам либо внутримышечно, либо внутриаартериально [17-19]. Внутримышечная инъекция считается более предпочтительной из-за меньшей инвазивности. Места внутримышечного введения препаратов

при ХОЗАНК разнятся: используется однократное введение в ягодичную мышцу пораженной конечности, множественные инъекции в мышцы бедра и голени [18, 19]. При любом способе введения отмечается экспрессия трансгена в мышечных волокнах ишемизированной ткани, локальное повышение концентрации продуцируемого белка, в частности – VEGF, и улучшение перфузии тканей за счет развития новых капилляров [20,21].

Сотрудниками Института стволовых клеток человека (Москва) был разработан препарат Неоваскулген, представляющий собой высокоочищенную сверхскрученную форму плазмиды pCMV-VEGF165 под контролем управляющего участка ДНК. В ходе доклинического исследования (Институт токсикологии ФМБА России, Санкт-Петербург, 2008) показано, что Неоваскулген стимулирует пролиферацию клеток эндотелия человека, чем обеспечивает рост кровеносных сосудов (в эксперименте на мышах). Препарат относится к группе с низкой токсичностью, не обладает местно-раздражающим действием на кожу и алергизирующими свойствами. Не установлено побочного влияния препарата на функциональную активность, морфологическую структуру внутренних органов экспериментальных животных. Не выявлено эмбриотоксических, мутагенных и канцерогенных свойств.

Клиническое исследование (1-2а и 2б-3 фазы) проводилось одновременно в 3-х медицинских центрах на основании разрешений на проведение клинических исследований (№ 250 от 03.07.2009 и № 177 от 21.04.2010) выданных Федеральной службой по надзору в сфере здравоохранения и социального развития Министерства здравоохранения и социального развития РФ. Протоколы исследований одобрены Национальным комитетом по этике (выписка из протокола № 36 от 27.05.2009 и № 62 от 07.04.2010) и Локальным этическим комитетом ГУЗ «Ярославская областная клиническая больница».

Общий дизайн исследования: проспективное, простое, открытое. По результатам проведенного комплекса исследований был составлен итоговый отчет о безопасности и эффективности препарата и направлен для принятия решения о регистрации нового лекарственного средства в Министерстве Здравоохранения и социального развития РФ. 28 сентября 2011 Неоваскулген внесен в Государственный реестр лекарственных средств, регистрационный номер ЛП-000671.

Цель настоящего сравнительного (неконтролируемого) исследования: проследить ближайшие и отдаленные результаты, характеризующие безопасность и эффективность использования генотерапевтического препарата Неоваскулген в комплексном лечении больных с ХОЗАНК в течение 2 лет.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Клиника Ярославской областной клинической больницы (ЯОКБ) стала одним из трех центров в России, где в ходе клинических исследований впервые начали использовать Неоваскулген. Основными клинико-ангиологическими критериями включения пациентов в исследование были: полная проходимость проксимального артериального русла исходно или после операции (более 3 мес.) – гемодинамически незначимый стеноз аорто-бедренного сегмента до 50%; наличие неоперабельного дистального поражения или анатомо-функциональная недостаточность коллатеральных путей кровотока; наличие хронической ишемии, соответствующей II-III степени по классификации А.В. Покроваского-Фонтейна. Критерии исключения: декомпенсация функции любого органа или системы, инфекционные заболевания, онкологическая патология в течение последних 5 лет, наличие гнойно-трофических изменений нижних конечностей.

С сентября 2009 по декабрь 2010 в отделении сосудистой хирургии ЯОКБ проведено консервативное лечение 45 пациентов с ХОЗАНК IIА–IIБ–III стадии по А.В. Покровскому-Фонтейну. Возраст больных варьировал от 40 до 78 лет, и в среднем составил  $63,3 \pm 5,8$ . Мужчин было 36 (75%), женщин 9 (25%). У 29 пациентов отмечена сопутствующая кардиальная патология: ишемической болезнью сердца (ИБС) страдало 20 больных, из них 4 в анамнезе перенесли острый инфаркт миокарда (ОИМ). Артериальная гипертензия (АГ) выявлена у 12 человек. В 6 наблюдениях имелась ишемическая болезнь головного мозга на фоне атеросклероза экстра–интракраниальных артерий. Два пациента в анамнезе перенеслистрое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) без выраженного неврологического дефицита.

В комплекс стандартной «сосудистой терапии» включали: внутривенное введение 200 мг пентоксифиллина №10; 2,5 тыс. МЕ гепарина – 4 раза/сут., подкожно; 4 мг никотиновой кислоты 2 раза/сут. внутримышечно; внутрь – тромбо-асс 100 мг в сут.; пентоксифиллин 400 мг – 2 раза/сут; физиотерапевтическое лечение – магнитотерапия на голени. Все пациенты получили внутримышечное двукратное введение препарата Неоваскулген по 1,2 мг.

Больные проходили лечение последовательно при выполнении двух протоколов клинического исследования (КИ). В соответствии с первым протоколом (20 больных, 1-2а фаза клинических исследований – оценка безопасности и подбор режима) введение проводилось в ягодичную мышцу с интервалом в 1 и 2 недели. Пациентам, включенным во второй протокол (25 больных, 2б-3 фаза КИ – оценка эффективности и безопасности) препарат вводился в икроножные мышцы (передне-наружная и задне-медиальная группа мышц на 5 уровнях) с интервалом 2 недели.

Все время наблюдения больные получали амбулаторное лечение: клопидогрел 75 мг/сут. чередовали каждые 2 месяца с тренталом в суточной дозировке 1000-1200 мг в сочетании с тромбо-асс 100 мг в сутки.

Для удобства анализа результатов комплексного лечения пациенты были подразделены на 3 группы в зависимости от стадии заболевания: группа А – стадия IIА ХОЗАНК – 5 пациентов; группа В – стадия IIБ – 22 больных; группа С – стадия III – 18 наблюдений. Ближайшие и отдаленные результаты прослежены у всех больных, включенных в оба протокола (n=45) в срок до 1 года и у 20 пациентов в срок до 2-х лет.

Оценку безопасности выполняли с помощью фиксации субъективных данных, регистрации нежелательных и серьезных нежелательных явлений, а также определяли клинико-лабораторные показатели состояния здоровья до введения препарата, через 2 недели, 1, 3, 6 месяца, через 1 и 2 года от начала КИ.

Основным критерием эффективности выбрано изменение дистанции безболевого ходьбы (ДБХ), что является основополагающим элементом классификации ХОЗАНК, критерием оценки качества жизни пациентов, показанием для хирургического лечения. Этот показатель определялся при проведении тредмил-теста (ходьба по ровной дорожке (угол наклона 0°) со скоростью движения дорожки 1 км/час). Регистрировали и оценивали вторичные критерии эффективности, к которым отнесли: лодыжечно-плечевой индекс (ЛПИ); среднее значение линейной скорости кровотока (ЛСК, м/сек.) по данным ультразвукового дуплексного ангиосканирования задней большеберцовой артерии, а при ее окклюзии на всем протяжении – на передней большеберцовой артерии. У 35% пациентов проводилось ангиографическое исследование дистального артериального русла перед началом исследования и через 6 мес. после введения препарата.

Методы статистического анализа. Полученные количественные данные обрабатывали стандартным для медицинских исследований набором статистических методов. На первом этапе устанавливали соответствие распределения исследуемых признаков в группах закону нормального распределения методами описательной статистики: определение основных статистических показателей (среднее значение, стандартное отклонение, мода, медиана), построения графических изображений. Для проверки различий между группами применяли непараметрические статистические методы: в случае групп парных измерений – Т-критерий Вилкоксона, при сопоставлении несвязанных групп – U-критерий Манна-Уитни. Для установления линейной связи между исследуемыми показателями групп использовали корреляционный анализ по методу Спирмена.

Полученные данные отображали графически в виде коробчатых диаграмм.

### РЕЗУЛЬТАТЫ

Выживаемость пациентов в срок до 1 года составила 97,8% (1 больной умер через 6 мес. после включения в исследование от повторного ОИМ). Выживаемость пациентов в срок до 2-х лет составила 95% (1 больной умер через 22 мес. от начала исследования после ампутации ноги на уровне бедра). Один больной перенес повторное ОНМК с умеренным неврологическим дефицитом. Сохранность конечностей для всех стадий заболевания через 1 год составила 93,3% (для III ст. – 83,3%); через 2 года – 90% (для III ст. – 80%). В двух наблюдениях отмечено прогрессирование ишемии контрлатеральной конечности (что потребовало в одном наблюдении дополнительного курса лечения с использованием стандартной консервативной терапии, в другом, после отсутствия эффекта от лечения – ампутации).

В группе А (стадия ПА, n=5) во всех наблюдениях констатировано улучшение: ДБХ в среднем увеличилась на 850 м. Также выявлено увеличение всех вторичных критериев эффективности, однако, учитывая небольшое количество пациентов статистически оценивать эти результаты нецелесообразно.

Заметную динамику за первый год наблюдения демонстрировали пациенты группы В (стадия ПБ, n=22): увеличение ДБХ по тредмил-тесту составило +472 м (95% доверительный интервал (ДИ) = от 100 до 800) со среднего значения  $117 \pm 65$  м до  $589 \pm 342$  м. К концу второго года наблюдения прирост ДБХ составил +503 м (95% ДИ = от 70 до 810) до среднего значения  $620 \pm 455$  м. (см. табл. 1 и рис. 1а).

Увеличение ЛПИ у пациентов к концу первого года составило +0,08 (90% ДИ = от 0 до 0,18) со среднего значения  $0,48 \pm 0,05$  до  $0,56 \pm 0,04$ . В отдаленном периоде (2 года) отмечено незначительное снижение прироста до +0,07 (90% ДИ = от 0 до 0,20). Среднее значение ЛПИ =  $0,55 \pm 0,04$  (см. табл. 1 и рис. 2а).

При оценке следующего критерия эффективности – ЛСК, так же выявлены положительные стабильные сдвиги. В течение первого года увеличение ЛСК составило +8,0 см/сек. (90% ДИ = от 2 до 17) со среднего значения  $10,5 \pm 2,1$  см/сек. до  $18,5 \pm 2,5$  см/сек. В дальнейшем отмечено небольшое снижение среднего значения ЛСК до  $17,1 \pm 2,4$  см/сек. Прирост за два года наблюдения +6,6 см/сек. (90% ДИ = от 3 до 15) (см. табл. 1 и рис. 3а).

Следовательно, у пациентов этой группы выявлены статистически достоверные результаты говорящие об улучшении кровообращения в ишемизированных нижних конечностях по данным ДБХ и измерениям ЛСК ( $p < 0,05$ ). В то же время изменения ЛПИ оказались статистически незначимыми. Клиническое улучшение отмечено в 90,9% наблюдений. При этом половина пациентов (50,0%) перешли из ПБ в ПА стадию заболевания.

В группе С (III стадия ХОЗАНК, n=18) получены следующие результаты. Увеличение ДБХ в первый год наблюдения составило +123,5 м (95% ДИ = от 80 до 275) со среднего значения  $45,3 \pm 25$  до  $168,8 \pm 107$ . В дальнейшем отмечена небольшая положительная динамика с нарастанием значения до  $172,5 \pm 72$  м. Средний прирост ДБХ за два года составил +126,2 м (95% ДИ = от 70 до 230) (см. табл. 1 и рис. 1б).

Так же как и для пациентов группы В, в течение наблюдения отмечен статистически незначимый прирост ЛПИ, который за первый год составил +0,08 (95% ДИ = от 0 до 0,18) со среднего значения  $0,2 \pm 0,09$  до  $0,28 \pm 0,06$ . В дальнейшем показатель не изменился и остался в прежних значениях (см. табл. 1 и рис. 2б).

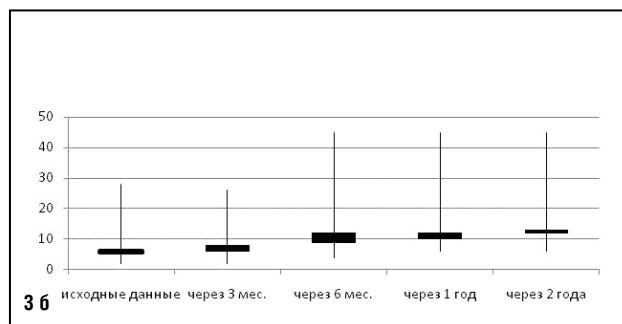
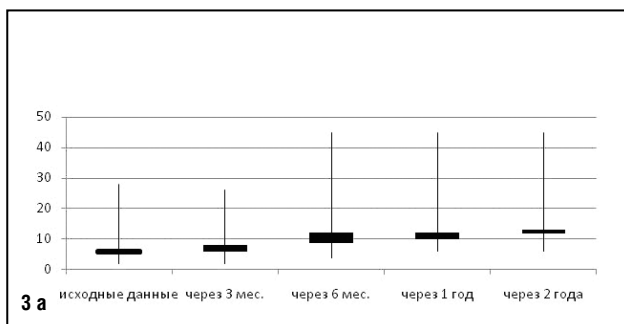
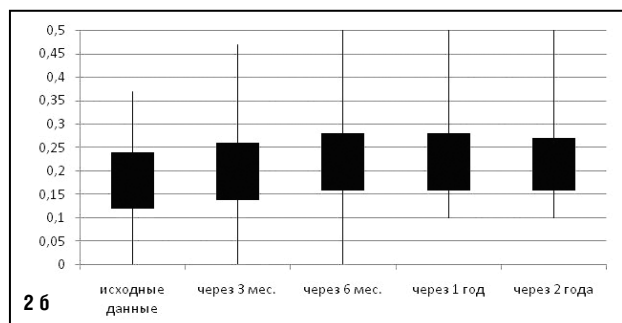
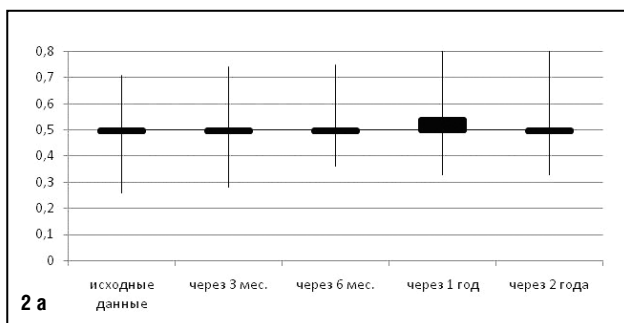
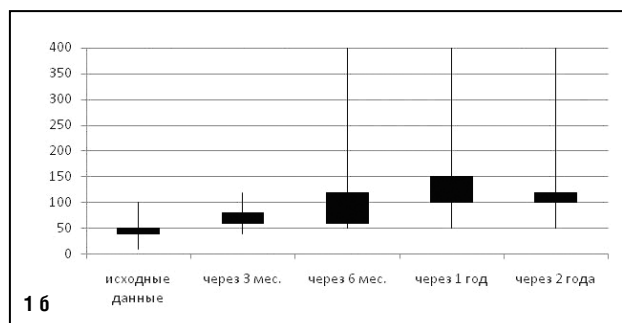
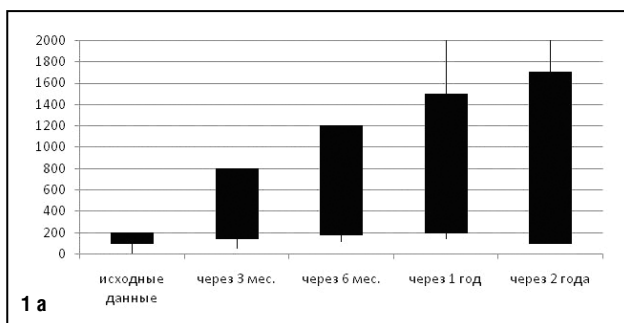
Годовое увеличение ЛСК составило +6,7 см/сек. (95% ДИ = от 3 до 10) со среднего значения  $9,5 \pm 9$  до  $16,2 \pm 8$  см/сек. ( $p < 0,05$ ). При дальнейшем наблюдении среднее значение ЛСК снизилось до  $14,9 \pm 12$  см/сек. и динамика прироста оказалась статистически недостоверной (+5,4 см/сек. (90% ДИ = от 0 до 10)) (см. табл. 1 и рис. 3б).

В ходе динамического наблюдения за пациентами группы С получены статистически достоверные

**Изменения ДБХ, ЛПИ, ЛСК у пациентов после включения в комплексную терапию ХОЗНАК препарата Неоваскулген** Таблица 1

Показатели	Исходно (при включении в исследование)		Через 3 мес.		Через 6 мес		Через 12 мес.		Через 24 мес	
	Гр. В	Гр. С	Гр. В	Гр. С	Гр. В	Гр. С	Гр. В	Гр. С	Гр. В	Гр. С
ДБХ (м)	$117 \pm 65$	$45,3 \pm 25$	$226 \pm 72^*$	$73 \pm 36$	$402 \pm 123^*$	$148 \pm 45^*$	$589 \pm 342^*$	$169 \pm 107^*$	$620 \pm 455^*$	$172,5 \pm 72^*$
ДБХ (м)	$117 \pm 65$	$45,3 \pm 25$	$226 \pm 72^*$	$73 \pm 36$	$402 \pm 123^*$	$148 \pm 45^*$	$589 \pm 342^*$	$169 \pm 107^*$	$620 \pm 455^*$	$172,5 \pm 72^*$
ЛПИ	$0,48 \pm 0,05$	$0,2 \pm 0,09$	$0,50 \pm 0,03$	$0,24 \pm 0,07$	$0,54 \pm 0,04$	$0,27 \pm 0,05$	$0,56 \pm 0,04$	$0,28 \pm 0,06$	$0,55 \pm 0,04$	$0,28 \pm 0,03$
ЛСК (м/с)	$10,5 \pm 2,1$	$9,5 \pm 9$	$12,3 \pm 3,2$	$11,4 \pm 8$	$16,4 \pm 3,5^*$	$15,3 \pm 7$	$18,5 \pm 2,5^*$	$16,2 \pm 8^*$	$17,1 \pm 2,4^*$	$14,9 \pm 12$

\* – Изменения статистически достоверны при  $p \leq 0,05$



Динамика контролируемых в ходе исследования параметров: 1 – ДБХ, 2 – ЛПИ, 3 ЛСК; а – группа В, б – группа С

результаты об улучшении кровообращения в нижних конечностях по результатам измерения ДБХ в течение всего периода наблюдения, а также ЛСК за первые 12 мес. ( $p < 0,05$ ). Последующее изменение ЛСК и ЛПИ на всех сроках наблюдения оказались статистически не значимыми. Клиническое улучшение отмечено в 77,8% наблюдений. При этом большая часть пациентов ( $n=11$ ) по клиническим данным перешли в более легкую стадию заболевания – ИБ, а 3 больных (16,7%) – в ПА. В одном наблюдении через 1 год и в 2-х в течение второго года выполнены ампутации нижних конечностей на уровне бедра (один больной умер в послеоперационном периоде). Еще в одном наблюдении выполнена ампутация контрлатеральной конечности (не подвергалась генной терапии) в связи с прогрессированием ишемии. Обобщенные результаты по обеим группам больных представлены в таблице 2.

У 16 из 25 пациентов, включенных во второй протокол КИ, были проведены рентгенконтрастные ангиографии нижних конечностей до введения препарата и через 6 мес. Первичные и повторные ангиограммы выполнялись на одном ангиографе, одним специалистом с использованием одного контрастного вещества (Омнипак 350), объемом 10 мл на конечность, скорость введения 4 мл/сек., с частотой снимков – 2 снимка/сек. Во всех случаях выбирался снимок с максимальным заполнением коллатералей. Установлено, что у подавляющего большинства пациентов (75%) при визуальной оцен-

Таблица 2

Сводные результаты лечения больных по группам (срок наблюдения до 2х лет)			
Критерии Группы больных	Улучшение	Без динамики	Ухудшение/ампутация
Группа В (n=22)	20 (90,9%)	2 (9,1%)	–
Группа С (n=18)	14 (77,8%)	1 (5,6%)	3 (16,7%)

ке повторных ангиограмм отмечена положительная динамика в виде появления ранее отсутствовавшей коллатеральной сосудистой сети. Не отмечено увеличения коллатеральной сети на голени у 2 (12,5%) пациентов.

Клинико-лабораторные показатели, которые регулярно исследовались в течение всего периода лечения и наблюдения за всеми пациентами не выявили заметных отклонений от первоначальных значений. За весь период наблюдения не отмечено нежелательных и серьезных нежелательных явлений связанных с использованием препарата.

Использование принципов и генотерапевтических агентов терапевтического ангиогенеза в комплексной терапии пациентов с хронической ишемией нижних конечностей является достаточно эффективным и безопасным при использовании плазмидных конструкций с геном VEGF165 [16]. Настоящее клиническое исследование так же подтверждает эту закономерность. У значительного большинст-

ва больных (84,4%) отмечено улучшение качества жизни за счет значительного увеличения дистанции безболевого ходьбы ( $p < 0,01$ ), при этом 50,0% пациентов из II Б и 16,7% из III ст. перешли во IIА стадию заболевания.

### ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное клиническое исследование является одним из первых системных клинических исследований генных препаратов в России, проводимых не в ходе инициативной НИР или разработки медицинской технологии, а в рамках официально выполняемых регистрационных действий. В этой связи требования, предъявляемые как к качеству препарата, его производству и формату клинических исследований строго соответствовали требованиям законодательства и выполнялись согласно требованиям GCP.

С клинической точки зрения, данные установленные для группы А, представляют существенный интерес. Проведенными недавно патогистологическими

**Сравнительная характеристика результатов клинических исследований прототипов генотерапевтических препаратов и Неоваскулгена у пациентов с ХОЗАНК**

Таблица 3

Авторы	Использованный агент для терапевтического ангиогенеза	Тяжесть клинической формы	Количество пациентов	Срок наблюдения (мес.)	ЛПИ
Институт Стволовых Клеток Человека	Неоваскулген (pVEGF165)	ХИНК	группа В 22 чел. 6 чел.	Исходно	0,48±0,05
				12 мес. 24 мес.	0,56±0,04 0,55±0,04
		КИНК	группа С 18 чел. 10 чел.	Исходно	0,2±0,09
				12 мес. 24 мес.	0,28±0,06 0,28±0,03
Makinen K. et al., 2002 [23]	Базовый уровень		18/17	Исходно	0,62±0,2 / 0,54±0,2
				3 мес.	0,77±0,2
					0,8±0,2
Morishita R. et al., 2004 [24]	pHGF	КИНК	6	Исходно	0,41±0,1
				3 мес.	0,6±0,1
Powell R.J. et al., 2008 [25]	pHGF	КИНК	16	Исходно	–
				6 мес.	
Morishita R. et al., 2010 [26]	pHGF	КИНК	12	Исходно	0,44±0,08
				2 мес.	0,59±0,14
				6 мес.	0,65±0,18
		ХИНК/КИНК	17	Исходно	0,46±0,08
				2 мес.	0,59±0,13
				6 мес.	0,65±0,15
Henry T.D. et al., 2011 [27]	pHGF	КИНК	12	Исходно	0,53
				12 мес.	0,35
Marui A. et al., 2007 [28]	pHGF	КИНК	7	Исходно	–
				6 мес.	–

*Примечания: pVEGF – плазмидный вектор с геном эндотелиального фактора роста; AdVEGF – аденовирусный вектор с геном эндотелиального фактора роста; pHGF - плазмидный вектор с геном фактора роста гепатоцитов; rFGF – плазмидная конструкция с геном фактора роста фибробластов.*

исследованиями было показано, что у пациентов уже с I ст. начинается, а ПА получает существенное развитие процесс патологического изменения морфо-функциональных свойств мышечных волокон, их перехода с аэробного процесса на анаэробный [22], причем у пациентов с ПБ стадией этот процесс уже стойкий, сопровождается снижением как внутриклеточных, так и клеточных репаративных резервов, изменениями метаболизма VEGF. Считается, что таким пациентам следует компенсировать кровообращение в мышцах до развития стойких изменений. Однако, включение пациентов с «терапевтической» стадией заболевания в исследование остается весьма дискуссионным с точки зрения целесообразности, в том числе и по тому, что назначение препарата Неоваскулген с целью профилактики развития более тяжелых стадий заболевания нуждается в дополнительном изучении.

В анализе результатов инструментального обследования пациентов группы В важным фактом является то, что по мере увеличения срока после комплексного лечения с использованием препарата Неоваскулген, значительно увеличивается разброс медиан по показателю ДБХ (см. рис. 1а), что вероятно связано как с изначально широким диапазоном безболезненно проходимого расстояния пациентами группы В, так и с индивидуальными особенностями компенсаторных, репаративных и патологических характеристик. Вместе с тем, на протяжении двух лет средний показатель ДБХ неуклонно рос. Увеличение до срока 6 мес. и относительная стабилизация вплоть до 2 лет характерна для ЛСК, что в совокупности говорит не только об эффективности проведенного лечения, но и стойкости полученного результата в течение двухлетнего периода (рис.3а).

У пациентов самой тяжелой из включенных в исследование групп при анализе устойчивости величин исследованных показателей в динамике в целом для всех значений характерна та же тенденция, что и у пациентов группы В (см. рис. 1-3б). Отмечается меньший разброс медиан ДБХ на поздних сроках в связи изначально однородностью группы по преодолеваемому расстоянию и больший разброс в динамике по ЛСК, что вероятно связано с неизбежным прогрессированием основного заболевания – атеросклеротического поражения крупных сосудов.

Представляется важным сравнить полученные данные с результатами клинических исследований с использованием прототипов иных генотерапевтических препаратов для лечения ХОЗАНК. Однако, в связи с тем, что в каждом исследовании применен собственная генная конструкция, дизайн исследования, критерии эффективности, то из всего массива можно выделить несколько работ, в которых хотя

бы частично приведены сопоставимые данные (таблица 3).

При сопоставлении опубликованных в работах других исследователей показателей с данными, полученными в настоящем клиническом исследовании, следует уточнить, что величины исходных показателей в публикациях не всегда соответствуют заявленной тяжести состояния включенных пациентов. Вместе с тем, генные препараты демонстрируют свою эффективность, причем препарат Неоваскулген в комплексе со стандартной терапией не только не уступает по своему эффекту, но демонстрирует более убедительные положительные результаты, это тем более важно, что мы обладаем самым длительными сроком наблюдения за пациентами. Однако следует понимать, что количество случаев использования препарата Неоваскулген у больных с ХОЗАНК в 3 центрах РФ невелико – 125 пациентов. Необходимо продолжать изучение препарата на большем количестве больных, и только дальнейшие исследования и накопление статистики позволят сделать более дифференцированные выводы о месте генотерапевтических препаратов в лечении пациентов с ХОЗАНК.

В настоящее время мы стоим на пороге открытия новейших медикаментов для лечения ХОЗАНК. Они никогда не будут альтернативой реконструктивной хирургии при проходимом дистальном артериальном русле, но при неудовлетворительных путях оттока, отсутствии пригодной для операции аутовены, помогут больным улучшить качество жизни, снизят количество ампутаций.

#### ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. **Hirsch A.T., Haskal Z.J., Hertzner N.R.** et al. ACC/AHA guidelines for the management of patients with peripheral arterial disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2006; 47(6): 1239-312.
2. **Tongers J., Roncalli J. G., Losordo D. W.** Therapeutic Angiogenesis for Critical Limb Ischemia. *Microvascular Therapies Coming of Age.* 2008; 118: 9-16.
3. **Norgren L., Hiatt W.R., Dormandy J.A.** et al. Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASC II). *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 2007; 33: 1-70.
4. **Савельев В.С., Кошкин В.М.** Критическая ишемия нижних конечностей. М., Медицина, 1997. – 159с.
5. **Dormandy J.A.** Therapeutic advances in critical limb Ischaemia. – London – New-York, 1993. – 43p.
6. **Каримов З.З.** Хирургия окклюзий бедренно-подколенно-берцового сегмента при критической ишемии. *Ангиология и сосудистая хирургия.* 2001; 7: 2: 88-92.
7. **Кохан Е.П., Пинчук О.В., Савченко С.В.** Ранние тромботические осложнения после бедренно-подколенного шунтирования. *Ангиология и сосудистая хирургия.* 2001; 7(2): 83-87.
8. **Гавриленко А.В., Скрылев С.И., Кузубова Е.А.** Современные возможности и перспективы хирургического лечения больных с критической ишемией нижних конечностей. *Ангиология и сосудистая хирургия.* 2002; 8(4): 80-86

9. **Покровский А.В., Зотиков А.Е.** Перспективы и действительность в лечении атеросклеротических поражений аорты. М.; 1996: 191.
10. **Cirafici L., Chapuis N., Merlini M.** Simultaneous proximal and distal revascularization for arterial obstruction of the leg at two sites. Indications, techniques and results: Revascularisation proximale et distale simulanee pour obstruction arterielle des membres inferieurs a deux niveaux. *Helv. Chir. Acta.* 1993; 59(6): 829-833.
11. **Saul B. F., Jeffrey M., Isner D.** Therapeutic Angiogenesis for Coronary Artery Disease. *Ann. Intern. Med.* 2002; 136: 54-71.
12. **Ferrara N., Gerber H.P., LeCouter J.** The biology of VEGF and its receptors. *Nature Medicine.* 2003; 9: 669-676.
13. **Ferraro B., Cruz Y.L., Baldwin M., et al.** Increased perfusion and angiogenesis in a hindlimb ischemia model with plasmid FGF-2 delivered by noninvasive electroporation. *Gene Therapy.* 2010; 17: 763-769.
14. **Nicol S.** Viral or non-viral angiogenesis gene transfer – New answers to old questions. *Cardiovasc. Res.* 2007; 73: 443-445.
15. **Sylvén C.** Angiogenic gene therapy. *Drugs of today.* 2002; 38: 819-827.
16. **Деев Р.В., Григорян А.С., Потанов И.В. и др.** Мировой опыт и тенденции генной терапии ишемических заболеваний. *Ангиология и сосудистая хирургия.* 2011; 17(2): 145-154.
17. **Шойхет Я.Н., Хорев Н.Г.** Клеточные технологии в лечении заболеваний периферических артерий. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.* 2011; 6(3): 15-23.
18. **Швальб П.Г., Гавриленко А.В., Калинин Р.Е., Червяков Ю.В. и др.** Эффективность и безопасность применения препарата Неоваскулген в комплексной терапии пациентов с хронической ишемией нижних конечностей (II Б – III фаза клинических испытаний). *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.* 2011; 6(3): 76-83.
19. **Талицкий К.А., Булкина О.С., Арефьева Т.И., Воробьева О.Н. и др.** Эффективность терапевтического ангиогенеза у больных с хронической ишемией нижних конечностей. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.* 2011; 6(3): 89-98.
20. **Unthank J.L., Sheridan K.M., Dalsing M.C.** Collateral growth in the peripheral circulation: a review. *Vasc. Endovasc. Surg.* 2004; 38: 291-313.
21. **Григорян А.С., Шевченко К.Г.** Возможные молекулярные механизмы функционирования плазмидных конструкций содержащих ген VEGF. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.* 2011; 6(3): 24-28.
22. **Тепляков С.А.** Особенности морфо-функциональных изменений мышц при хронической артериальной недостаточности нижних конечностей. – Автореф. ... канд. мед. наук. М., 2011: 30.
23. **Mäkinen K., Manninen H., Hedman M., et al.** Increased Vascularity Detected by Digital Subtraction Angiography after VEGF Gene Transfer to Human Lower Limb Artery: A Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blinded Phase II Study. *Molecular Therapy.* 2002; 6(1): 127-133.
24. **Morishita R., Aoki M., Hashiya N., et al.** Safety Evaluation of Clinical Gene Therapy Using Hepatocyte Growth Factor to Treat Peripheral Arterial Disease. *Hypertension.* 2004; 44: 203-209.
25. **Powell R.J., Simons M., Mendelsohn F.J., et al.** Results of a Double-Blind, Placebo-Controlled Study to Assess the Safety of Intramuscular Injection of Hepatocyte Growth Factor Plasmid to Improve Limb Perfusion in Patients With Critical Limb Ischemia. *Circulation.* 2008; 118: 58-65.
26. **Morishita R., Makino H., Aoki M., et al.** Phase I/IIa Clinical Trial of Therapeutic Angiogenesis Using Hepatocyte Growth Factor Gene Transfer to Treat Critical Limb Ischemia. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2011; 31: 713-720.
27. **Henry T.D., Hirsch A.T., Goldman J., et al.** Safety of a non-viral plasmid-encoding dual isoforms of hepatocyte growth factor in critical limb ischemia patients: a phase I study. *Gene Therapy.* 2011; 18: 788-794.
28. **Marui A., Tabata Y., Kojima S., et al.** A Novel Approach to Therapeutic Angiogenesis for Patients With Critical Limb Ischemia by Sustained Release of Basic Fibroblast Growth Factor Using Biodegradable Gelatin Hydrogel An Initial Report of the Phase I-IIa Study. *Circ. J.* 2007; 71: 1181-1186.



**THERAPEUTIC ANGIOGENESIS IN TREATMENT OF PATIENTS WITH CHRONIC OBLITERATING DISEASES OF LOWER LIMB ARTERIES**

Chervyakov Yu.V.<sup>1</sup>, Staroverov I.N.<sup>1</sup>, Nersesyan E.G.<sup>1</sup>, Isaev A.A.<sup>2</sup>, Deev R.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Surgical Surgery, Yaroslavl Regional Clinical Hospital, Chair of Surgery, Yaroslavl State Medical Academy, Yaroslavl, Russia

<sup>2</sup> Institute of Human Stem Cells, Moscow, Russia

*The authors share their experience gained in realization of the concept of “therapeutic angiogenesis” by means of the first Russian gene therapeutic agent Neovasculogen in comprehensive treatment of patients with stage II-III chronic obliterating disease of lower limb arteries (CODLLA) according to the Pokrovsky—Fontain classification. A total of 45 patients were treated. The findings were assessed and analyzed depending on the stage of chronic lower limb ischaemia. The clinical results including such measures such as the pain-free walk (PFW), ankle/brachial index (ABI), transcutaneously determined oxygen tension (TDOT), linear blood velocity (LBV) were followed up for 2 years. All patients were found to have good tolerance and at terms up to 2 years, and no side effect or complications were revealed. Patients with stage IIB of the disease after one year demonstrated statistically significant results suggesting*

*improved blood circulation in the ischemized lower limbs after using the agent according to the indices of PFW, TDOT, LBV ( $p < 0.05$ ). In stage III of the disease? significant results were observed for PFD and TODT ( $p < 0.05$ ). Considerable part of patients with stage IIB and III CODLLA (84.4%) showed increased physical capabilities for ambulation at the expense of considerably increased PFW ( $p < 0.01$ ). It was observed that using the agent was enough for obtaining a persistent satisfactory result preserving for not less than one year, with 50% of patients from stage IIB and 16.7% from stage III transferred to stage IIA of the disease. The effect of treatment persisted during the second year of follow up.*

**Key words:** therapeutic angiogenesis, atherosclerosis of lower limb arteries, Neovasculgen, clinical study.

---

**Адрес для корреспонденции:**

Червяков Ю.В.  
отделение сосудистой хирургии  
ГБУЗ «Ярославская клиническая больница»  
ул. Яковлевская, 7  
150054, Ярославль, Россия  
Тел.: (4852) 58-96-51  
Факс: (4852) 24-83-46  
E-mail: Cheryurval@yandex.ru

---

**Correspondence to:**

Chervyakov Yu.V.  
Yakovlevskay st., 7  
150054, Yaroslavl, Russia  
Yaroslavl Regional  
Clinical Hospital  
Tel.: (4852) 58-96-51  
Fax: (4852) 24-83-46  
E-mail: Cheryurval@yandex.ru