

Отдаленные результаты применения pl-VEGF₁₆₅ при хронической ишемии нижних конечностей вследствие облитерирующего атеросклероза

К.М.Н. Р.В. ДЕЕВ^{1,4}, Д.М.Н. Р.Е. КАЛИНИН², Д.М.Н. Ю.В. ЧЕРВЯКОВ³, К.М.Н. И.Н. СТАРОВОРОВ³,
И.Л. ПЛАКСА^{*1,4}, К.М.Н. Н.Д. МЖАВАНАДЗЕ², Д.В. ПОЗДЕЕВ², Д.М.Н. Г.Д. ДАЛГАТОВ¹, А.А. ИСАЕВ¹

¹ОАО «Институт стволовых клеток человека», Москва, Россия; ²ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» Минздрава России, Рязань, Россия; ³ГБОУ ВПО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ярославль, Россия; ⁴ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань, Россия

Long-term results of pl-VEGF₁₆₅ intramuscular gene transfer in patients with atherosclerotic chronic lower limb ischemia

R.V. DEEV^{1,4}, R.E. KALININ², YU.V. CHERVYAKOV³, I.N. STAROVEROV³, I.L. PLAKSA^{*1,4}, N.D. MZAVANADZE²,
D.V. POZDEEV², G.D. DALGATOV¹, A.A. ISAEV¹

¹Human Stem Cells Institute, Moscow; ²I.P. Pavlov Ryazan State Medical University, Ryazan; ³Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl;
⁴Kazan Federal University, Kazan

Цель — оценка отдаленных результатов применения препарата Неоваскулген у пациентов с хронической ишемией нижних конечностей (ХИНК) II—III стадии (по Покровскому—Фонтейну) вследствие облитерирующего атеросклероза.

Материал и методы. Клиническое исследование (КИ) по оценке эффективности и безопасности Неоваскулгена было спланировано и проведено как открытое, сравнительное, проспективное, рандомизированное и контролируемое продолжительностью 6 мес. Из 100 пациентов 25 вошли в группу контроля со стандартной терапией (пентоксифиллин, никотиновая кислота, трентал, тромбо-асс) и 75 — в клиническую группу (стандартная терапия и внутримышечное введение pl-VEGF₁₆₅). По окончании участия в регистрационном КИ 38 пациентов находились под наблюдением еще в течение 2,5 лет с контрольными обследованиями через 1, 2 и 3 года. Оценка безопасности препарата осуществлялась путем регистрации нежелательных явлений, проведения лабораторных и инструментальных методов исследования. В качестве первичного критерия эффективности был принят показатель дистанции безболевого ходьбы (ДБХ), вторичных — показатель тканевого напряжения кислорода (ТсрО₂) пораженной конечности и лодыжечно-плечевой индекс.

Результаты и обсуждение. В ходе исследования были получены данные, что терапевтический эффект pl-VEGF₁₆₅ нарастал в течение всего периода наблюдения. Через три года после проведения ангиогенной терапии Неоваскулгеном дистанция безболевого ходьбы в клинической группе увеличилась на 290% относительно изначальных показателей. Применение же стандартной консервативной терапии, сопровождалось снижением показателя на 27%. При этом, несмотря на хороший результат у части пациентов с III стадией ХИНК, наибольшее количество респондеров было среди пациентов со II—IIб стадией заболевания. Улучшение функционального состояния больных клинической группы коррелировало с увеличением ТсрО₂ на 14%. Данные макрогемодинамики пораженной конечности на протяжении всего исследования в обеих группах изменялись незначительно — различия значений не достигли уровня статистической значимости.

Заключение. Данные полученные в ходе отсроченного наблюдения показали, что терапевтический эффект применения стандартного курса ангиогенной терапии Неоваскулгеном нарастал в течение 3 лет после введения, что выражалось достоверным увеличением дистанции безболевого ходьбы. Наибольшая эффективность при его применении наблюдалась у пациентов со II—IIб стадией заболевания (по Покровскому—Фонтейну) с сохранением возможности передвижения на стадии перемежающейся хромоты до появления болей покоя, язвенно-некротических изменений и необходимости хирургического лечения.

Ключевые слова: облитерирующий атеросклероз, хроническая ишемия нижних конечностей, генная терапия, Неоваскулген.

Aim. To estimate remote results of Neovascugen administration in patients with stage II—III chronic lower limbs ischemia due to atherosclerosis obliterans.

Material and methods. 6-months open, comparative, prospective, randomized and controlled trial to estimate efficacy and safety of Neovascugen was performed. 25 of 100 patients were enrolled into control group with standard therapy (pentoxifylline, nicotinic acid, trental, aspirin) and 75 — into clinical group (standard therapy and intramuscular administration of pl-VEGF₁₆₅). After trial discontinuance 38 patients were under observation during 2.5 years with control examination at 1, 2 and 3 years. Assessment of drug's safety was performed by adverse events recording, laboratory and instrumental examination. Pain-free walking distance was used as primary criterion of efficacy, tissue oxygen tension and ankle-brachial index — as secondary parameters.

Results and discussion. Therapeutic effect of pl-VEGF₁₆₅ was being increased for all follow-up. At 3 years after Neovascugen administration pain-free walking distance in clinical group increased by 290%. At the same time standard medical therapy was associated with decrease of parameter by 27%. Although favourable result in some patients with stage III chronic ischemia the greatest number of patients had stage II—IIb. Improvement of functional state in clinical group correlated with augmentation of tissue oxygen tension by 14%. Macrohemodynamics in altered extremity changed insignificantly in both groups.

Conclusion. Therapeutic effect of Neovascugen administration in standard scheme was being increased for 3 years with significant augmentation of pain-free walking distance. The greatest efficacy was observed in patients with stage II—IIb in absence of necrotic changes and need for surgical treatment.

Keywords: atherosclerosis obliterans, chronic lower limbs ischemia, gene therapy, Neovascugen.

Хроническая ишемия нижних конечностей (ХИНК) в структуре сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) занимает около 20%. В США среди людей старше 55 лет 10% имеют бессимптомную форму ХИНК и еще 5% страдают перемежающейся хромотой. В российских статистических данных приводятся еще более высокие цифры: от 15 до 30% населения старше 65 лет имеют признаки облитерирующих заболеваний артерий нижних конечностей [1, 2]. Согласно данным, полученным от региональных министерств и департаментов здравоохранения России, в 44 регионах страны в течение 2013 г. зарегистрировано 173 883 новых случаев ХИНК. Таким образом, с учетом высокой распространенности бессимптомной формы заболевания можно предположить, что численность этой группы больных в России превышает 1,5 млн человек.

Основные задачи при лечении ХИНК — это купирование болевого синдрома, улучшение функционального состояния пациента и снижение риска ампутации конечности. Хирургическое лечение является основным подходом к оказанию помощи данной группе больных, но, к сожалению, из-за характера поражения дистальных отделов периферических артерий определенному количеству пациентов не может быть выполнена реваскуляризирующая операция. Кроме того, уровень доступности специализированной помощи в Российской Федерации при заболеваниях артерий более чем недостаточен: так, например, в США в 2007 г. были выполнены 162 реконструкции артерий нижних конечностей (на 100 тыс. населения) против 37 в РФ в 2012 г. с учетом эндоваскулярных вмешательств [3]. Комплекс средств консервативной терапии при этом ограничен лишь несколькими препаратами, эффективность которых не позволяет рассчитывать на достижение продолжительной ремиссии. Таким образом, существует значительная доля страдающих ХИНК на фоне облитерирующего атеросклероза пациентов, помощь которым не может быть оказана даже в случае исчерпывающего применения всех современных средств лечения.

Одним из новых направлений лечения ХИНК является использование препаратов, направленных на индукцию ангиогенеза. Механизм их действия основан на доставке внутрь ядра клетки генов, кодирующих факторы роста и обладающих ангиогенной активностью, с целью увеличения их локальной экспрессии. Таким образом, увеличение эндогенного синтеза ангиогенных факторов в количестве, необходимом для индукции роста и формирования капилляров микроциркуляторного русла, позволяет достичь восстановления перфузии ишемизированных тканей и предотвратить прогрессирование ишемии. Неоваскулген, единственный разрешенный к приме-

нению в России геннотерапевтический препарат, показан пациентам с ХИНК при облитерирующем атеросклерозе (II—III стадия по Покровскому—Фонтейну).

Цель настоящего исследования — оценка отдаленных результатов применения Неоваскулгена у пациентов с ХИНК II—III стадия вследствие облитерирующего атеросклероза через 3 года после проведения стандартного курса терапии.

Материал и методы

Характеристика препарата. Активным компонентом Неоваскулгена является плаزمид с геном эндотелиального сосудистого фактора роста VEGF-ibmed (Vascular Endothelial Growth Factor 165 — VEGF₁₆₅) [4] (патент №2297848 от 11.05.05). Производится в виде стерильного лиофилизата (1,2 мг во флаконе).

Способ введения. Препарат вводился согласно инструкции по применению — внутримышечно, 2 раза, по 1,2 мг с интервалом в 2 нед.

Характеристика пациентов. Из 100 больных, участвовавших во IIb—III фазе клинического исследования (КИ) Неоваскулгена, в отсроченное 3-летнее наблюдение были включены 38 пациентов, которые подписали добровольное согласие на участие в нем (табл. 1). Изначально основным критерием включения в КИ являлось наличие ХИНК II—III стадии (по Покровскому—Фонтейну) атеросклеротического генеза при невозможности выполнения реконструктивной операции. Критериями исключения были наличие язвенно-некротических изменений тканей нижних конечностей, ишемия вследствие поражения периферических артерий не атеросклеротического генеза и неблагоприятный онкологический анамнез.

При сопоставлении исходных характеристик пациентов при включении в КИ между группами не было установлено статистически значимых различий в гендерном составе, по степени тяжести ишемии нижних конечностей и уровню окклюзии. Показатели первичных и вторичных критериев эффективности на входе в КИ также были сопоставимы (табл. 2).

Дизайн исследования и контрольные временные точки. КИ по оценке эффективности и безопасности Неоваскулгена было спланировано и проведено как открытое, сравнительное, проспективное, рандомизированное и контролируемое продолжительностью 6 мес. Из 100 пациентов 25 вошли в группу контроля со стандартной терапией (пентоксифиллин — 200 мг внутривенно капельно, №10; никотиновая кислота — 200 мг 2 раза внутримышечно; трентал — 400 мг 2 раза перорально; тромбо-асс — 100 мг/сут) и 75 — в клиническую группу, где к стандартной тера-

Таблица 1. Распределение по группам пациентов, продолжавших участие в отсроченном постклиническом наблюдении

Группа	Число пациентов, включенных в КИ, $n=100$	Число пациентов под наблюдением		
		1 год [5], $n=52$	2 года [6, 7], $n=43$	3 года, $n=38$
Контрольная	25	13	10	8
Клиническая (терапия с Неоваскулгеном)	75	39	33	30

Таблица 2. Характеристика исходного состояния пациентов, находившихся под наблюдением в течение 3 лет

Показатель	Контрольная группа	Клиническая группа (терапия с Неоваскулгеном)
Число пациентов	8	30
Стадия ХИНК (по Покровскому—Фонтейну), n		
IIa	0	0
IIб	6	23
III	2	7
Уровень окклюзии, n		
проксимальный	8	2
дистальный	9	4
многоэтажное поражение	13	2
ДБХ, м	120	99,5
ТсрО ₂ , мм рт.ст.	74	77
ЛПИ	0,49	0,45

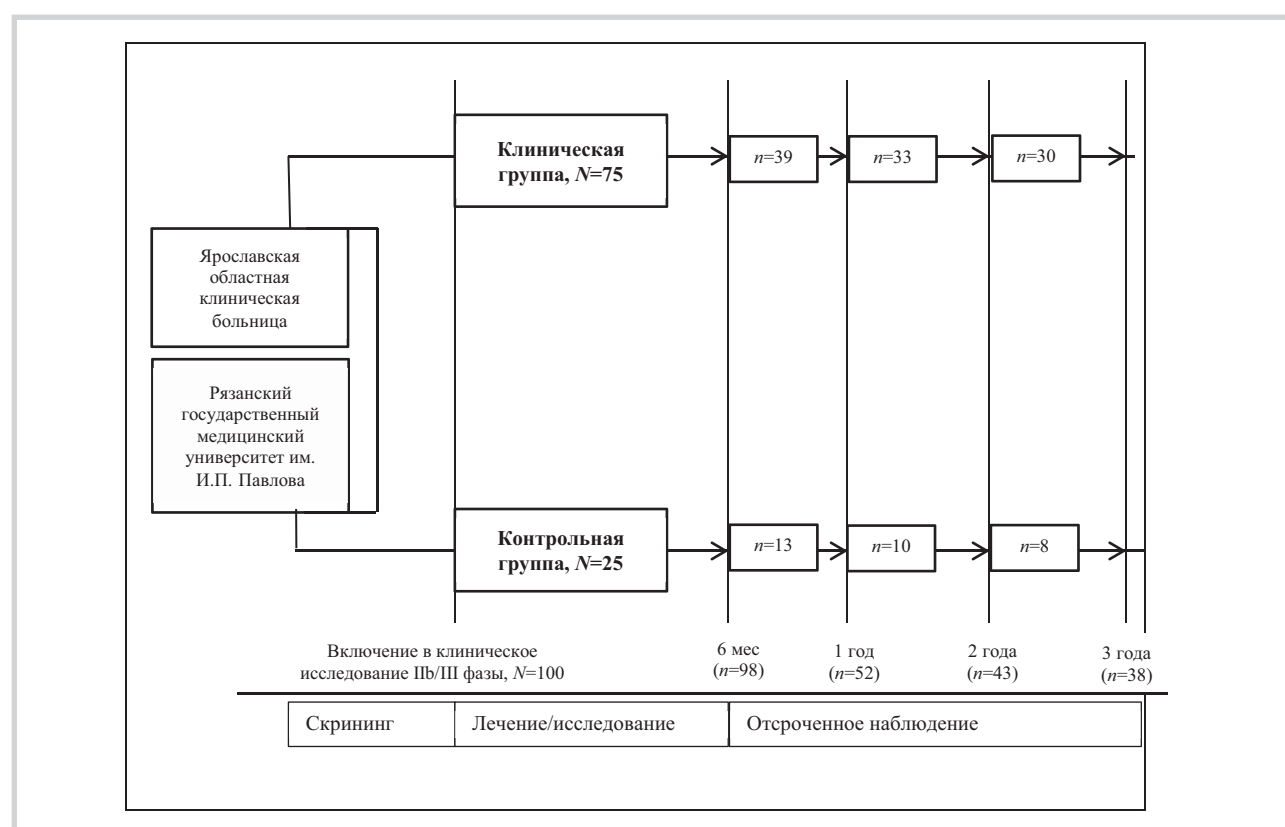


Рис. 1. Дизайн клинического исследования и последующего наблюдения.

пии добавлялся рl-VEGF₁₆₅. По окончании участия в регистрационном КИ 38 пациентов были включены в отсроченное постклиническое наблюдение продолжительностью 2,5 года с контрольным обследованием через 1, 2 и 3 года после проведения стандартного курса терапии рl-VEGF₁₆₅. Таким образом, общий срок наблюдения за больными составил 3 года (рис. 1).

Оценка безопасности. На протяжении всего трехлетнего периода наблюдения оценка безопасности осуществлялась путем регистрации нежелательных явлений. Для скрининга онкологических заболеваний пациенты во время каждого визита после завершения КИ (1, 2 и 3 года) проходили полное обследование, включавшее ультразвуковое исследование органов брюшной полости и малого

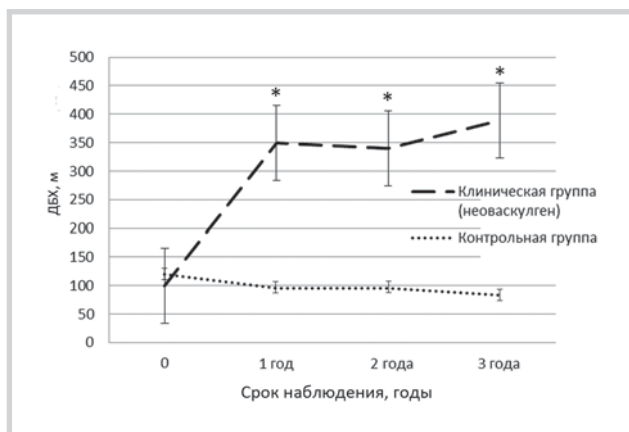


Рис. 2. Изменение ДБХ в ходе клинического исследования и дальнейшего наблюдения.

* — различия между показателями клинической и контрольной групп статистически значимы ($p < 0,05$).

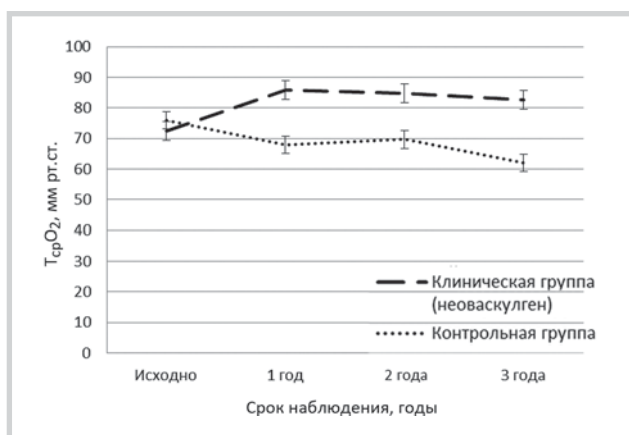


Рис. 3. Изменение ТсрО₂ в ходе клинического исследования и дальнейшего 3-летнего наблюдения.

таза, рентгенографию грудной клетки, осмотр гинеколога, электрокардиографию, исследование свертывающей системы крови, клинический и биохимический анализы крови, анализ мочи.

Оценка эффективности. За первичный критерий эффективности принят показатель дистанции безболевой ходьбы (ДБХ). Ее измеряли с помощью тредмил-теста на беговой дорожке (угол подъема — 0°, скорость — 1 км/ч) с регистрацией пройденного расстояния от начала ходьбы и до наступления болевых ощущений в мышцах конечностей.

В качестве вторичных критериев эффективности использовали показатель тканевого напряжения кислорода (ТсрО₂) пораженной конечности и лодыжечно-плечевой индекс (ЛПИ). Данные ТсрО₂ фиксировали в коже тыльной поверхности стопы на приборе ТСМ-2 («Радиометр», Дания) во время всех визитов. Измерения прибором проводились автоматически (включая определение температуры) в положении пациента сидя в течение 5 мин. Отсроченное наблюдение за пациентами велось на базе РязГМУ им. И.П. Павлова и Ярославской областной клинической больницы.

Результаты

Оценка безопасности. Нежелательных явлений, связанных с введением Неоваскулгена у больных не отмечалось. За 3 года наблюдения развитие опухолей, нарушение зрения и иные патологические состояния, которые могли бы косвенно свидетельствовать об осложнениях ангиогенной терапии, не обнаружены. Двум пациентам из клинической группы и одному пациенту из группы контроля, несмотря на проводимое комплексное лечение, была выполнена ампутация нижней конечности в связи с прогрессированием хронической ишемии и вследствие невозможности выполнения реваскуляризирующей операции. Необходимо отметить, что при включении в исследование данные пациенты относились к наиболее тяжелой категории больных — клиническая картина их основного заболевания выражалась наличием постоянных болей покоя.

Оценка эффективности. В клинической группе рост ДБХ наблюдался в течение всего срока наблюдения (рис. 2). Через 3 года после проведения курса терапевтического ангиогенеза среднее преодолеваемое расстояние увеличилось на 290% и составило 390 ± 21 м при среднем исходном показателе $99,5 \pm 11$ м. У пациентов контрольной группы на фоне применения стандартной консервативной терапии, напротив, отмечалось постепенное снижение показателя ДБХ: к концу срока наблюдения преодолеваемое расстояние сократилось на 27% и составило 87 ± 13 м. Таким образом, различие между двумя группами по основному критерию эффективности, достигнув впервые уровня статистической достоверности через 3 мес после применения Неоваскулгена, продолжало увеличиваться ввиду значительного роста ДБХ в клинической группе и достигло максимальной разницы через 3 года ($p < 0,05$).

Динамика нарастания ДБХ в клинической группе была неоднородна на протяжении срока наблюдения. Наиболее выраженный терапевтический эффект от применения Неоваскулгена наблюдался в течение 1-го года после его применения (251% относительно изначального уровня). Последующие 2 года также характеризовались нарастанием показателя, однако увеличение было менее выражено — в среднем 49 м (40%). В контрольной группе, напротив, отсутствовали значимые колебания показателя первичного критерия эффективности, и, несмотря на проводимую консервативную терапию, весь период наблюдения с момента включения пациентов в исследование характеризовался постепенным снижением ДБХ.

При селективном подходе к анализу отдаленных результатов лечения в зависимости от начальной стадии заболевания обнаружено, что наиболее выраженный терапевтический эффект определялся у пациентов с III стадией заболевания ($n=7$): увеличение среднего показателя ДБХ на 254 м (705%) при изначальном среднем показателе 36 ± 4 м. Однако, несмотря на значительный прирост показателя в целом, только у 4 из 7 пациентов в ответ на проводимую терапию наблюдалось улучшение. При этом у 3 резистентных к терапии больных изначально при включении в исследование была диагностирована более тяжелая форма ХИНК (постоянные боли покоя и невозможность самостоятельно преодолевать расстояние).

Изменения ТсрО₂ были менее выражены (рис. 3). В клинической группе к концу 3-го года наблюдения

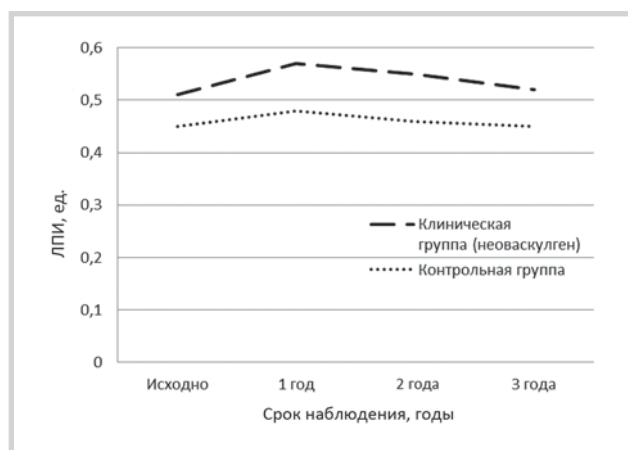


Рис. 4. Изменение ЛПИ в ходе клинического исследования и дальнейшего наблюдения в течение 3 лет.

среднее увеличение $TcPO_2$ составило 10 мм рт.ст. (14%). При этом положительная динамика наблюдалась преимущественно в 1-й год наблюдения, последующие же 2 года характеризовались стабилизацией достигнутых значений. Показатель $TcPO_2$ группы контроля, напротив, характеризовался постепенным снижением в течение каждого года на 4 мм рт.ст. и на фоне проведения стандартной терапии через 3 года снизился на 18%. Однако, несмотря на очевидную положительную динамику, в группе, получавшей ангиогенную терапию, различия показателей не достигли уровня статистической достоверности.

Данные макрогемодинамики пораженной конечности изменялись незначительно на протяжении всего срока наблюдения: в обеих группах наблюдался лишь незначительный подъем среднего показателя ЛПИ к концу 1-го года. Различия значений не достигли уровня статистической значимости (рис. 4).

Обсуждение

Одной из основных задач отсроченного наблюдения являлась оценка безопасности применения ангиогенной терапии $pl-VEGF_{165}$. Как известно, существует традиционная настороженность по отношению к генным конструкциям, обладающим ангиогенными свойствами. Это обусловлено тем, что одним из звеньев патогенеза ряда заболеваний (таких как, например, диабетическая ретинопатия) является индуцированная гипоксией активация $VEGF-VEGFR$ — сигнальной системы [8]. Таким образом, подразумевается, что индукция ангиогенеза в ишемизированных тканях нижних конечностей может опосредованно стимулировать рост сосудов микроциркуляторного русла в тканях, отдаленных от места введения. Однако ни в одном из ранее проведенных исследований не было показано, что применение ангиогенной терапии сопровождается увеличением частоты развития онкологических заболеваний, осложнений сахарного диабета или прогрессирования атеросклероза [9, 10]. Результаты метаанализа, включившего более 1000 пациентов, показали одинаковую частоту развития заболеваний, в патогенезе которых существенную роль играет VEGF при применении геннотерапевтической конструкции и плацебо [10].

Более того, на сегодняшний день уже есть данные исследования по оценке безопасности генной терапии через 8 лет после ее применения, не выявившее тревожных сигналов, связанных с индукцией ангиогенеза [11]. Данные настоящего отсроченного наблюдения подтверждают безопасный профиль препарата Неоваскулген, что коррелирует с результатами мирового опыта применения терапевтического ангиогенеза. Продолжительный срок наблюдения позволяет утверждать, что $pl-VEGF_{165}$ не индуцирует развитие злокачественных образований и осложнений сахарного диабета в отдаленном периоде после проведения стандартного курса терапии.

Малый объем выборки пациентов, оставшихся под наблюдением, не позволяет использовать данные по количеству выполненных ампутаций для проведения сравнительного анализа эффективности лечения относительно сохранения целевой конечности. Однако в связи с тем, что среди больных клинической группы изначально было 7 участников с III стадией ХИНК, сохранность целевой конечности на фоне ангиогенной терапии в течение 3 лет составила 70%. При этом, согласно рекомендациям TASC II (Trans-Atlantic Inter-Society Consensus, 2007), через 1 год после диагностирования терминальной стадии ишемии нижних конечностей при невозможности выполнения реваскуляризации лишь 45% пациентов удается сохранить конечность. Таким образом, вследствие отсутствия результатов, полученных на большой группе пациентов с критической ишемией нижней конечности (КИНК), можно предположить, что применение ангиогенной терапии Неоваскулгеном обеспечивает увеличение вероятности сохранения конечности при его использовании до развития глубоких трофических изменений на фоне ишемии.

С учетом мирового опыта проведения КИ с применением ангиогенных препаратов в КИ по определению эффективности Неоваскулгена были включены больные ХИНК с отсутствием трофических изменений тканей и единые по этиологическому фактору — облитерирующему атеросклерозу. Выбор в качестве первичного критерия эффективности ДБХ оптимален, так как этот показатель позволяет оценить функциональное состояние пациента в динамике и является одним из наиболее достоверных методов диагностики ХИНК, согласно рекомендациям TASC II (уровень доказательности В).

Результаты отсроченного наблюдения показали, что применение $pl-VEGF_{165}$ в дозе 2,4 мг привело к достоверному, устойчивому улучшению функционального состояния больных. При этом терапевтический эффект от применения ангиогенной терапии в клинической группе нарастал в течение всего 3-летнего периода наблюдения с наиболее выраженным приростом в течение 1-го года. Напротив, применение стандартной терапии в группе контроля сопровождалось постепенным ухудшением функционального состояния больных, что выразилось снижением ДБХ к концу 3-го года на 27%. Таким образом, применение генной терапии в составе комплексного лечения пациентов с ХИНК II—III стадии (по Покровскому—Фонтейну) позволило добиться достоверного клинического улучшения по сравнению со стандартной терапией и предотвратить прогрессирование ишемии.

Необходимо отметить, что выраженность терапевтического эффекта зависела от изначальной степени тяже-

сти хронической ишемии. В клинической группе наибольшее количество «респондеров» (т.е. ответивших на терапию больных) наблюдалось среди пациентов со IIb стадией заболевания. Несмотря на то что у некоторых пациентов с III стадией введение pl-VEGF₁₆₅ сопровождалось наиболее выраженным относительным приростом ДБХ (до 700%), в этой же группе имелось наибольшее количество пациентов, не ответивших на лечение данным препаратом. Таким образом, больные с менее выраженными трофическими изменениями на фоне ХИНК являются, по-видимому, наиболее комплаентной группой пациентов для ангиогенной терапии. В ходе плацебо-контролируемого исследования, проведенного в Университете Гронингена (Нидерланды), в качестве основного критерия эффективности была использована частота случаев заживления язвенного дефекта. Внутримышечное введение 2,0 мг pl-VEGF₁₆₅ больным КИНК с фоновым СД в течение 100 сут показало достоверное увеличение частоты заживления трофических изменений и сокращение его сроков [12]. Учитывая результаты данного исследования, можно предполагать, что ангиогенная терапия эффективна и при тяжелом ишемическом поражении нижней конечности.

В обеих группах динамика функционального статуса пораженной конечности коррелировала с изменением ТсрО₂. Результатом применения ангиогенной терапии в клинической группе стало улучшение перфузии тканей, что выражалось увеличением уровня ТсрО₂ на 14%. И хотя различия значений не достигли статистически достоверного уровня, изменение показателя характеризовалось стабильной положительной динамикой на протяжении всего срока наблюдения. Напротив, при применении стандартной терапии наблюдалась диаметрально противоположная картина — показатель ТсрО₂ непрерывно снижался, несмотря на регулярные курсы амбулаторного лечения. Через 3 года после проведения ангиогенной терапии Неоваскулгеном показатели ТсрО₂ у пациентов были выше в клинической группе, чем в группе контроля, однако различия значений не достигли уровня статистической значимости для данной выборки. Таким образом, выявленная тенденция свидетельствует о том, что положительная динамика в клинической картине заболевания коррелирует с восстановлением перфузии мягких тканей на фоне индукции ангиогенеза. Полученные данные коррелируют с результатами исследования безопасности и эффективности плазмиды с геном гепатоцитарного фактора роста (Hepatocyte Growth Factor): проведение ангиогенной терапии в дозировке 4 мг больным КИНК, не подлежащих реваскуляризирующей операции, сопровождалось достоверным улучшением перфузии тканей стопы, что подтверждалось показателями ТсрО₂ [13].

Отсутствие достоверного изменения ЛПИ в клинической группе на протяжении всего срока наблюдения, по-видимому, объясняется механизмом действия ангиогенного препарата. Применение pl-VEGF₁₆₅ индуцируя рост и развитие сосудов микроциркуляторного русла, не приводит к восстановлению давления в магистральных артериях ввиду отсутствия воздействия непосредственно на

причину его снижения — окклюзию. Несмотря на отсутствие улучшения показателей макрогемодинамики пораженной конечности, восстановление перфузии тканей привело к достоверному терапевтическому эффекту. Однако необходимо отметить, что в ряде других исследований, в частности с применением плазмиды с геном HGF, были получены противоположные результаты — проведение ангиогенной терапии приводило к улучшению функционального статуса, что коррелировало с достоверным улучшением ЛПИ [14]. Данный факт не имеет очевидного объяснения, можно лишь предположить, что отличия обусловлены использованием в генной конструкции генов разных факторов роста.

Недостатком настоящего исследования является отсутствие плацебо-контроля, так как сам факт применения инновационных ангиогенных препаратов может способствовать субъективному улучшению состояния пациентов за счет плацебо-эффекта, что было показано в публикациях ряда авторов [15]. Однако функциональное состояние больных улучшалось на протяжении 3 лет после проведения курса ангиогенной терапии Неоваскулгеном, и это позволяет утверждать, что терапевтический эффект препарата обусловлен достижением устойчивого восстановления перфузии тканей конечности за счет индукции ангиогенеза, а не снижением критического отношения пациента. Кроме того, достоверное улучшение показателя ТсрО₂ также подтверждает объективность полученных данных, так как он не зависит от субъективной оценки больного.

Заключение

В ходе настоящего отсроченного наблюдения было показано, что Неоваскулген является эффективным средством коррекции и предупреждения прогрессирования ХИНК. Терапевтический эффект стандартного курса ангиогенной терапии данным препаратом сохраняется на протяжении 3 лет с устойчивой тенденцией к нарастанию и наиболее выраженным улучшением функционального состояния больных в течение первого года после применения. К сожалению, на сегодняшний день большинством врачей использование препарата продолжает рассматриваться как средство резерва после исчерпания стандартных методов лечения, что создает неблагоприятные условия для его применения на фоне глубоких трофических изменений и значительно снижает эффективность лечения. Как показывают результаты настоящего исследования, наибольшая эффективность генной терапии наблюдается при применении ее у пациентов со II—III стадией заболевания по классификации Покровского—Фонтейна с сохранением возможности передвижения. Наличие же некупируемых болей покоя, свидетельствующих о выраженной трофических изменений тканей, снижает вероятность благоприятного исхода. Таким образом, применение pl-VEGF₁₆₅ наиболее целесообразно по принципу превентивной терапии на стадии перемежающейся хромоты до появления язвенно-некротических изменений и необходимости хирургического лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cardiovascular diseases. Fact sheet #317, 2011. WHO Library Cataloguing in Publication Data. Available at: <http://who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html>. Accessed June 16, 2015.
2. Gerald F, Diana R, Igor R, Victor A, Julie D, Mary M, Paul N, Linda J, George A, Michael H. Comparison of global estimates of prevalence and risk factors for peripheral artery disease in 2000 and 2010: a systematic review and analysis. *Lancet*. 2013;382:1329-1340.
doi: 10.1016/s0140-6736(13)61249-0.
3. Национальные рекомендации по ведению пациентов с патологией артерий нижних конечностей. *Ангиология и сосудистая хирургия*. (Приложение) 2013;19:2:1-675.
4. Швальб П.Г., Гавриленко А.В., Калинин Р.Е., Червяков Ю.В., Воронов Д.А., Староверов И.Н., Грязнов С.В., Мжаванадзе Н.Д., Нерсисян Е.Г., Киселев С.Л., Исаев А.А., Деев Р.В. 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;6(3):76-83. Доступно по: <http://medi.ru/doc/a410104.htm>. Ссылка активна на 17.06.2015.
5. Деев Р.В., Бозо И.Я., Мжаванадзе Н.Д., Нерсисян Е.Г., Чухраля О.В., Швальб П.Г., Червяков Ю.В., Староверов И.Н., Калинин Р.Е., Воронов Д.А., Гавриленко А.В., Исаев А.А. Эффективность применения гена VEGF₁₆₅ в комплексном лечении пациентов с хронической ишемией нижних конечностей 2А—3 стадии. *Ангиология и сосудистая хирургия*. 2014;20(2):1-11. Доступно по: <http://ischemii.net/stati/Effektivnost-primeneniya-gena-VEGF165-v-kompleksnom-lechenii-patsientov-s-hronicheskoy-ishemiej-nizhnikh-konechnostej-2A-3-stadii>. Ссылка активна на 17.06.2015.
6. Червяков Ю.В., Староверов И.Н., Нерсисян Е.Г., Исаев А.А., Деев Р.В. Терапевтический ангиогенез в лечении больных с хроническими облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей. Ближайшие и отдаленные результаты. *Ангиология и сосудистая хирургия*. 2012;18(3):19-26. Доступно по: <http://www.fesmu.ru/elib/Article.aspx?id=266645>. Ссылка активна на 17.06.2015.
7. Deev R., Bozo I., Mzhavanadze N., Voronov D., Gavrilenko A., Chervyakov Y., Staroverov I., Kalinin R., Shvalb P., Isaev A. pC-MV-vegf165 Intramuscular Gene Transfer is an Effective Method of Treatment for Patients With Chronic Lower Limb Ischemia. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 2015; [Epub ahead of print].
doi: 10.1177/1074248415574336.
8. Masabumi S. VEGF-VEGFR signals in health and disease. *Biomol Ther*. 2014;22(1):1-9.
doi: 10.4062/biomolther.2013.113.
9. Rajesh G, Jörn T, Losordo D. Metaanalysis of randomized, controlled clinical trials in angiogenesis: gene and cell therapy in peripheral arterial disease. *Heart Vessels*. 2009;24(5):321-328.
doi: 10.1007/s00380-008-1140-z.
10. Rajesh G, Jörn T, Losordo D. Human Studies of Angiogenic Gene Therapy. *Circ Res*. 2009;105(8):724-736.
doi: 10.1161/circresaha.109.200386.
11. Hedman M, Muona K, Hedman A, Kivela A, Syvanne M, Eranen J, Rantala A, Stjernvall J, Hartikainen J, Yla-Herttuala S. Eight-year safety follow-up of coronary artery disease patients after local intracoronary VEGF gene transfer. *Gene Ther*. 2009;5:629-634.
doi: 10.1038/gt.2009.4.
12. Kusumanto Y, Weel V, Mulder N. Treatment with intramuscular vascular endothelial growth factor gene compared with placebo for patients with diabetes mellitus and critical limb ischemia: a double-blind randomized trial. *Hum Gene Ther*. 2006;17(6):683-691.
doi: 10.1089/hum.2006.17.ft-206.
13. Morishita R, Makino H, Aoki M, Hashiya N, Yamasaki K, Azuma J, Taniyama Y, Sawa Y, Kaneda Y, Ogihara T. Phase I/IIa clinical trial of therapeutic angiogenesis using hepatocyte growth factor gene transfer to treat critical limb ischemia. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2011;31:713-720.
doi: 10.1161/atvbaha.110.219550.
14. Powell RJ, Goodney P, Mendelsohn FO, Moen EK, Annex BH. Safety and efficacy of patient specific intramuscular injection of HGF plasmid gene therapy on limb perfusion and wound healing in patients with ischemic lower extremity ulceration: results of the HGF-0205 trial. *J Vasc Surg*. 2010 Dec;52(6):1525-1530.
doi: 10.1016/j.jvs.2010.07.044.
15. Richard J. Update on clinical trials evaluating the effect of biologic therapy in patients with critical limb ischemia. *J Vasc Surg*. 2012;56:264-266.
doi: 1016/j.jvs.2012.03.255.