

# Генная терапия в России: три года опыта

Кандидат медицинских наук

**Р.В.Деев**

*Знаете ли вы, что в нашей стране есть препарат для генной терапии? Этот препарат успешно лечит распространенное возрастное заболевание, он прошел клинические испытания и с 2012 года продается на территории России. И сам препарат — отечественный, причем единственный в своем роде, аналогов в мире нет. Типичная реакция человека, который слышит об этом впервые: «Да ладно, не может такого быть». Не может, но бывает. Рассказать читателям о препарате, получившем название «Неоваскулген», мы попросили кандидата медицинских наук Романа Вадимовича Деева, директора по науке ОАО «Институт стволовых клеток человека» ([www.hsci.ru](http://www.hsci.ru)).*

## Идея и воплощение

Идея применения плазмидных генных конструкций для индукции роста сосудов в терапевтических целях, конечно, принадлежит не Институту стволовых клеток человека. История вопроса насчитывает как минимум два десятка лет — пионерами здесь были доктор Джеффри Иснер с соавторами (США), которые провели пилотное исследование, сначала на одной пациентке, потом на трех, и опубликовали результаты в середине 90-х. В этом отношении мы шли по их следам, но конкретная разработка, положенная в основу препарата, российская. Плазмидную конструкцию, содержащую ген фактора роста сосудов, создали и в 2007 году запатентовали два специалиста: хорошо знакомый читателям «Химии и жизни» доктор биологических наук, профессор С.Л.Киселев (Институт биологии гена РАН, Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова) и доктор биологических наук, профессор А.В.Иткес (Российский университет дружбы народов).

Однако не каждая идея, сколь угодно красивая и теоретически верная, воплощается в жизнь. В первую очередь это касается медицины, отрасли по необходимости консервативной, где всегда актуально утверждение «лучшее — враг хорошего». Первый вопрос, который мы задали себе, прежде чем начать работу: существует ли непреодоленная проблема, которую можно решить с помощью этой плазмиды? Где она может быть нужна и нужна ли вообще?

Атеросклероз сосудов — это сужение просвета артерий из-за отложений холестерина и других веществ, которое может приводить к ишемии — нарушению кровоснабжения органов и тканей. У всех на слуху ишемическая болезнь сердца — одно из основных причин смертности в мире: атеросклероз коронарных артерий приводит к поражению сердечной мышцы, возможные следствия — стенокардия или инфаркт. Но начинать наше исследование с ишемической болезни сердца нам не хотелось. Решением этой проблемы активно и достаточно успешно занимаются хирурги, существует множество фармацевтических средств разных групп, которые поддерживают миокард. Конечно, о победе над инфарктом пока не приходится говорить, и все же это не та область, где новый препарат был бы воспринят с энтузиазмом.

Мы стали думать, какие еще ишемические заболевания имеют существенное социальное значение, и вспомнили термин, знакомый каждому студенту-медику: «перемежающаяся хромота» — симптом ишемии сосудов нижних конечностей. Сужение сосудов не пропускает кровь к мышцам — кожа ног становится сухой, ступни мерзнут, после продолжительной ходьбы начинаются боли в ногах, вынуждающие человека остановиться и отдохнуть. Звучит вроде бы нестрашно, однако эта проблема не менее значима, чем ишемия миокарда. А возможно, и более — потому что ей уделяют куда меньше внимания и разработчики диагностических средств, и фармацевтические компании, и социальные органы. Между тем боли после долгой ходьбы — лишь начало. Ишемия неизбежно будет прогрессировать, безболевая дистанция сократится от километра (что считается уже клинической стадией болезни) до 200 м и менее, затем начнутся боли в покое, а далее — язвенно-некротические изменения тканей и в перспективе ампутация из-за гангрены.

Сегодня врачи говорят о пандемии атеросклероза, и Россию эта пандемия не обошла стороной. Факторы риска для этой болезни хорошо известны: курение и алкоголь, недостаток физической активности, несбалансированное питание, стрессы. Риск выше для гипертоников, людей с избыточным весом, страдающих диабетом, для тех, у кого повышен уровень холестерина и особых липопротеинов в крови. Существует наследственная предрасположенность к атеросклерозу: о ней говорят, если у больного имеются кровные родственники-мужчины, умершие от инфаркта или инсульта до 55 лет, и женщины — до 65 лет. Мужчины более предрасположены к раннему развитию атеросклероза, чем женщины, и для всех риск увеличивается с возрастом.

Хронической ишемией нижних конечностей (ХИНК) во всем мире страдают около двухсот миллионов человек. Существует статистика по этому заболеванию в США, в странах Европы и Юго-Восточной Азии. Данные по России тоже имеются, но весьма приблизительные. Помимо проблем со сбором, обработкой и распространением информации, есть и объективные сложности. Допустим, инфаркт миокарда во всех статистических отчетах пишется отдельной строчкой, подсчитывать случаи просто. Но как учитывать ХИНК? На ранних стадиях пациенты зачастую не обращаются к врачам. Если же учитывать поздние случаи, с некрозом и ампутациями, то не всегда возможно выделить те случаи, где причиной ампутации был, например, диабет или травмы. Вообще говоря, этот раздел статистики достаточно печален, — большинство из нас не представляет, сколько ног ежегодно отрезают в нашей стране. Подсчитано, что только в США в год выполняется около 150 тысяч ампутаций. В нашей стране, по оценкам врачей-экспертов, — от 45 тысяч до 150 тысяч в год, с учетом состояния здравоохранения и культуры заботы о своем здоровье.

По приблизительным данным, ежегодно в России около 300 тысяч человек получают диагноз «хроническая ишемия нижних конечностей». Как правило, это люди в возрасте 55—50 лет и старше, но бывают и ранние случаи. Мы считаем, что всего в стране живет от миллиона до двух миллионов граждан с этим заболеванием. Прогноз для них неблагоприятный. Если гово-

# Как это работает

**А**ктивное вещество неоваскулгена — плаزمид, то есть замкнутая в кольцо молекула ДНК. Производят ее биотехнологическим методом: клетки кишечной палочки *Escherichia coli*, живущие в биореакторе, многократно копируют плазмиду, затем ее выделяют и очищают. Плазмиды содержат человеческий ген *vegf*, который кодирует белок — эндотелиальный фактор роста сосудов (VEGF — vascular endothelial growth factor;

эндотелий здесь — выстилка сосудов, их внутренний слой). У этого белка есть несколько изоформ, в данном случае используется VEGF165, состоящий из 165 аминокислот. Показано, что именно такой белок наиболее мощно стимулирует деление сосудистых клеток.

Препарат вводят пациенту в болевую ногу несколькими уколами. Плазмиды проникают в клетки ишемизированной ткани, которые начинают синтезировать

белок по «чертежу» гена. Не вся ДНК окажется внутри клеток, но повода для беспокойства тут нет: время жизни этой плазмиды в организме вне клетки — десятки минут, потом ее разрушают ферменты, так что генетическая конструкция не попадет ни в какие другие органы и ткани, ее действие будет только местным.

Клетки начинают синтезировать и выделять VEGF165. Он проникает в сосудистое русло и связывается с рецепторами эндотелиальных клеток. Это команда: «Начинаем выращивать здесь новый сосуд». Клетки активно делятся, мигрируют в сторону ишемизированной ткани и начинают формировать новую трубочку сосуда, обходной путь для крови. Это не менее сложный процесс, чем строительство новой дороги: необходимо организовать съезд с основной магистрали, расчистить трассу, то есть растворить плотные ткани на пути сосуда. Разумеется, трубочка, состоящая из эндотелиальных клеток, должна еще одеться снаружи мышечным слоем и волокнами соединительной ткани. В итоге кровотоки восстановлены, ткани снова полноценно снабжаются кислородом и питательными веществами — ишемия отступает.



## БОЛЕЗНИ И ЛЕКАРСТВА

речь о наиболее тяжелых стадиях, третьей и четвертой (боли в покое и некрозы), то в течение года после постановки диагноза приблизительно четверть их умирает из-за прогрессирования атеросклероза, в том числе в других анатомических регионах; четверть переживает ампутацию, у четверти поражение сосудов ног прогрессирует, и только у четверти современная медицина может добиться хоть какой-то стабилизации.

### Те же и плазмиды

Что может сделать для таких людей сосудистая хирургия? Самый простой вариант — механически исправить сосуды: заменить проблемный участок протезом либо создать путь для обходного кровотока. Но во-первых, приблизительно у четверти пациентов анатомическое строение сосудов таково, что сделать хирургическую реконструкцию невозможно. Во-вторых, атеросклероз не всегда поражает крупные сосуды — это могут быть и артерии ниже щели коленного сустава, в голени. Диаметр сосудов там небольшой, и велика вероятность, что хирургическая операция не даст желаемого результата из-за тромбирования шунтов, разрастания эндотелия и т. д. Специалисты открыто признают, что сосудистая хирургия всех проблем в этой области не решает.

Когда не может помочь хирургия, остается медикаментозное воздействие. Но фармакология тоже не предлагает чудо-лекарства. Стандартная терапия таких пациентов подразумевает назначение препаратов, улучшающих реологические свойства крови, расслабляющих тонус сосудистой стенки. Когда ишемия становится критической, переходит из второй стадии в третью и далее — в четвертую, добавляют препараты группы простагландинов, которые расширяют мелкие сосуды. Кровь

туда «проваливается», кровоснабжение тканей улучшается, и худшего удастся избежать. Но каждые полгода эту терапию приходится повторять, до тех пор, пока сосуды реагируют на простагландины.

Кроме того, в Европе и в Соединенных Штатах зарегистрирован препарат цилостазол. Хотя механизм его действия не совсем понятен, но то, что он улучшает периферический кровоток, показано достоверно. Цилостазол рекомендован к применению в Европе и в США, у нас же ситуация своеобразная: препарат упомянут в Национальных рекомендациях по ведению пациентов с заболеваниями периферических артерий, но пока не разрешен к применению на территории РФ. Кроме того, Европейское медицинское агентство в марте 2013 года выпустило пресс-релиз, в котором говорилось о побочных эффектах цилостазола, связанных с нарушением работы сердца. Теперь противопоказанием к применению считается хроническая сердечная недостаточность. А это сильно ограничивает и его применение у пациентов с ишемией нижних конечностей: сердечников среди них много, атеросклероз — явление системное.

Рассмотрев эту ситуацию, мы решили, что действие, которые разработчики предполагали для плазмидной конструкции с геном VEGF, — ангиогенез, создание de novo сосудов микроциркуляторного русла, — может оказаться полезным. Естественно, мы не делали пафосных заявлений о победе над ишемией. Наш препарат не лечит от атеросклероза, но он восстанавливает кровообращение там, где оно нарушено, и позволяет крови добраться до обедненных кислородом и питательными веществами клеток и тканей.

Медицинское сообщество, как я уже упоминал, достаточно консервативно, хирургическое — в особенности. Мы понима-

ли, что за нашу правоту придется побороться. Неоваскулген был зарегистрирован в 2011 году, и с тех пор мы ведем разъяснительную работу — ездим по стране, проводим конференции и симпозиумы, общаемся с докторами, рассказываем им о препарате, что-то корректируем и в наших представлениях с учетом того, что узнаем от них. В принципе, сейчас начинается самое интересное. Позади клинические исследования, которые подтвердили безопасность и эффективность препарата для значительной части пациентов. Результаты говорили сами за себя (подробнее о них чуть позже), они были убедительны для экспертов, а мнение экспертов убедило официальных лиц. Стало понятно, что ангиогенная терапия как самостоятельный элемент комплексного лечения имеет право на существование, и началась тонкая, почти ювелирная работа — подгонка препарата под конкретные клинические ситуации: нужно было понять, кому он показан в первую очередь, когда его следует назначать в сочетании с хирургической реконструкцией, с препаратами других фармакологических групп.

Сегодня в мире разрешено к клиническому применению всего пять генных препаратов: три для лечения злокачественных новообразований, четвертый — глибера, для лечения редкого наследственного заболевания — дефицита липопротеиолипазы, и наш неоваскулген. Необходимо понимать, что генная терапия бывает разной. Лечение наследственных заболеваний предполагает мощную долговременную коррекцию нарушений в геноме. Так действует глибера и другие подобные ей препараты, которые еще не вышли на рынок, но в скором времени, вероятно, появятся. Нам же требуется лишь временная индукция ангиогенеза — наша генетическая конструкция работает в клетках от суток до 10—14 дней, запускает процесс роста сосудов и затем исчезает. Ни о каком «вмешательстве в геном», конечно, говорить не приходится.

Именно поэтому препарат вводят местно, в те участки, где необходимо вырастить новые сосуды. За рубежом пытались вводить похожие конструкции внутривенно и внутриартериально, но особого смысла в этом не было: при контакте с кровью препарат быстро разрушался. Это и хорошо, потому что обеспечивает безопасность: плазмида не может попасть в другие отдаленные участки организма и не запустит процесс ангиогенеза там, где он нежелателен.

Что касается генно-терапевтических препаратов для лечения хронической ишемии нижних конечностей, пока на рынке есть только неоваскулген, но через некоторое время могут появиться и другие. Сошла с дистанции компания «Sapofi-Aventis», спонсировавшая клинические испытания плазмидной конструкции с геном фактора роста фибробластов. Фибробласты участвуют в созревании сосуда — собираются вокруг трубочки эндотелия и формируют прочную стенку, но это уже не инициация процесса, а следующий этап. Начинать

с подстегивания фибробластов было рискованной идеей, и она не увенчалась успехом. Однако в мире проводится еще не менее десятка исследований в этой области, часть их перешла со второй на третью фазу клинических испытаний. Достаточно удачно японские ученые завершили исследование своего препарата. Это плазмида, похожая на нашу, но в качестве терапевтического фактора в ней использован ген фактора роста гепатоцитов HGF (гепатоциты — клетки печени, но в данном случае этот белок, несмотря на название, стимулирует рост того же эндотелия сосудов). У себя в Японии они успешно завершили третью фазу, однако не стали регистрировать, производить и продавать препарат, нашли инвестиции, чтобы организовать клинические испытания в США и вместо небольшого рынка внутри страны пойти на глобальный.

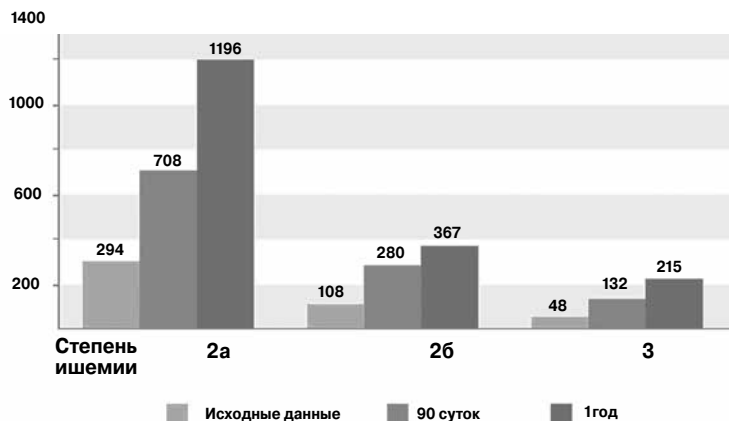
## Результаты

Наш препарат прошел все этапы клинических испытаний. В российских нормативных документах они не называются «тремя фазами», но смысл от этого не меняется: первый этап — оценка безопасности, второй этап — определение режима дозирования, наиболее частых побочных действий, первые данные об эффективности, и третий — точное определение эффективности и более редкие побочные эффекты и осложнения. Три организации, в которых проводились клинические испытания, — это Российский научный центр хирургии им. Б.В.Петровского, Рязанский государственный медицинский университет и Ярославская областная клиническая больница.

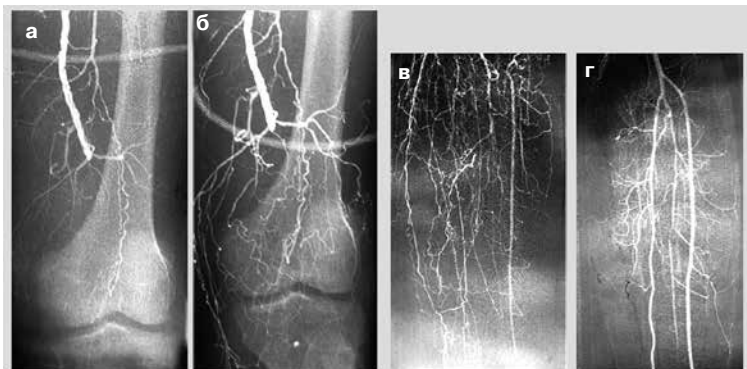
Для первого этапа обычно привлекают здоровых молодых добровольцев. Однако в нашем случае это было бы неэтично, поскольку речь все-таки шла о генной терапии. В этом вопросе у нас было полное согласие с представителями контролирующего органа (на тот момент, в 2009 году, это была Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения, теперь же функция регистрации лекарственных препаратов передана в непосредственно в Минздрав): здоровым людям генную конструкцию вводить не стоит, нужно совместить первый этап с началом второго и проводить оценку безопасности уже на пациентах. В таком решении не было ничего необычного: во всем мире сильнодействующие препараты, например те, что используют в психиатрии, на здоровых добровольцах не тестируют.

Препарат испытывали при второй и третьей стадии ХИНК по общепринятой классификации А.В.Покровского — Фонтейна. Стадия 2а — пациент может пройти около километра, а дальше начинаются боли. Уже на этой стадии в метаболизме мышечных волокон происходят необратимые изменения. Стадия 2б — безболевая дистанция 200 метров и менее, а третья стадия, когда говорят уже о критической ишемии нижних конечностей — боли в покое, при сидении и лежании. При этих же стадиях сейчас показано применение неоваскулгена — то есть практически при всех, за исключением первой, бессимптомной, когда пациент даже не знает, что болен, и четвертой, некротической, когда образуются язвы и гангрены. Впрочем, бывали случаи, когда доктора назначали препарат и на четвертой стадии как терапию отчаяния, закрывая глаза на инструкции. Потому что эффект превосходил наши самые оптимистические предположения.

Доктора, принимавшие участие в клинических испытаниях, как правило, начинали их с колоссальным скепсисом. Многоопытному хирургу, передавшему десятку, если не сотне тяжелых пациентов, прекрасно представляющему и все возможности терапии, и прогнозы, предлагают сделать больному какие-то инновационные уколы — реакцию трудно представить. А потом проходят две недели, раздается звонок, и доктор говорит: «У меня пациент бросил костыли и самостоятельно поднимается на третий этаж». Такая история произошла в Ростове-на-Дону, где проверяли эффективность препарата под руководством доктора медицинских наук,



При лечении неоваскулгеном расстояние в метрах, которое пациент может преодолеть без боли, значительно возрастает уже через три месяца (Р.В.Деев, Р.Е.Калинин, Ю.В.Червяков и др. «Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И.Пирогова», 2011, 4, 20—25)



Ангиография сосудов пациента выше и ниже колена в начале (а, б) и через полгода лечения (в, г). Хорошо заметны новые сосуды (П.Г.Швальб и др., «Клеточная трансплантология и тканевая инженерия», 2011, VI, 3: 76–83)

профессора Ростовского государственного медицинского университета Ивана Ивановича Кательницкого. Сейчас мы зарегистрировали препарат и на Украине, где врачи его встретили не с меньшим, а возможно, и с большим недоверием, чем их российские коллеги. Недавно я получил от одного из них электронное письмо с заголовком: «Это бомба!» — настолько он был изумлен результатом.

Сразу отмечу, что чудесные истории, к сожалению, происходят не с каждым больным. Как и для любого лекарственного средства, есть категория пациентов, которые не отвечают на терапию неоваскулгеном. Мы пытаемся разобраться, почему так происходит и что тут можно исправить. Кроме того, далеко не все пациенты страдают только атеросклерозом: у кого-то он протекает на фоне диабета, или у кого-то развивается тромбангиит (болезнь Бюргера), и это, конечно, ухудшает результат. Приблизительно 15% больных реагируют на лечение не так, как бы мы хотели, — очень и очень незначительно. Однако есть четкая положительная тенденция, и даже можно отметить, что чем тяжелее ишемия, тем ярче выражен клинический эффект. Некоторых больных мы наблюдаем уже два-три года. Коллеги из Ярославля (И.Н.Староверов, Ю.В.Червяков) подвели статистику по четырем годам — мы видим, что пациент, который с трудом мог пройти 50 метров, через два года отправляется на дальние прогулки, безболевая дистанция выросла до трех километров. Был примечательный случай и на ранней стадии: пациента, страстного охотника, не устраивали боли в ногах после первого километра, и он сам приобрел препарат. Сейчас этот человек охотится на лося, проходит в быстром темпе многие километры.

В рамках клинического исследования пациенты заполняли опросники, позволяющие оценить изменения в качестве жизни. Там было несколько шкал, которые сводились к двум компонентам: физическому здоровью и психологическому благополучию. Выяснилось, что физический компонент улучшается с очень хорошей достоверностью, это видно на примере той же дистанции безболевого ходьбы. А вот психологические улучшения, хотя и были отмечены, не достигли статистически значимой разницы. Может быть, дело в том, что ноги все равно начинают болеть, пускай и после долгой ходьбы, а хочется, чтобы не болели совсем, а может, людям трудно поверить в хорошее после тяжелой болезни и мрачных перспектив, или всему виной российская ментальность, о которой так много говорят. Любопытно было бы сравнить результаты по этому показателю в других странах.

## Цена вопроса

Сколько стоит препарат, во что обойдется лечение? Препарату, увы, дорогой. Точные цены в статье приводить нет смысла — проще посмотреть в Интернете, но настраиваться надо на сумму порядка ста тысяч рублей за одну упаковку. Если учесть, что

курс простагландинов стоит в среднем около 40 тысяч рублей и повторять его нужно каждые полгода, а эффект от неоваскулгена сохраняется и даже усиливается минимум два-три года, то картина не такая пессимистическая. Но все-таки почему так дорого и нельзя ли дешевле?

Вот что говорит по этому поводу наш генеральный директор, непосредственный руководитель данного направления А.А.Исаев: «И как разработчикам, и как врачам, нам хотелось бы, чтобы препарат был доступным для всех граждан России, в том числе и по цене. С нашей точки зрения, желательный вариант развития событий — включение неоваскулгена в перечень лекарственных средств, которые могут быть закуплены за счет федерального или регионального бюджета и предоставлены пациентам, нуждающимся в таком лечении. Такое решение экономически обоснованно: как ни странно, пациент с одной ногой или вообще без ног обходится государству дороже, чем покупка препарата, который позволит избежать ампутации. Значительное количество официальных лиц у нас считает, что ногу отрезать дешевле, нежели предотвратить ампутацию, но расчеты это опровергают. Некоторую надежду дает и то, что неоваскулген официально является «инновационным препаратом», то есть включен в соответствующие списки как приоритетный и заслуживающий поддержки со стороны государства».

Понятно, что себестоимость неоваскулгена не может быть совсем уж низкой. Выращивание *E.coli* в биореакторе, манипуляция с ней, выделение и очистка плазмиды, подготовка лекарственной формы, контроль качества — все это труд квалифицированного персонала, дорогостоящие приборы и реактивы. Но интересно, что себестоимость только производственной части в России примерно в восемь раз выше, чем если бы то же самое делалось, допустим, в Израиле. Причина простая: и оборудование, и расходные материалы — все это у нас импортное, что и увеличивает затраты. Кроме того, вложения в клинические испытания, в обучение врачей, безусловно, нужно постепенно окупить. Есть свои интересы и у нашего дистрибьютора, компании «Сотекс», — это одна из компаний, входящих в группу «Протек», достаточно известную на фармацевтическом рынке. Их работа тоже необходима, это они поставляют препарат в регионы, чтобы он был доступен не одним столичным жителям.

Мы, со своей стороны, предпринимая все усилия для того, чтобы препарат подтвердил свою эффективность в ходе широкого применения, — ежемесячно проводим выездные мероприятия, встречи, круглые столы, общаемся с врачами, отвечаем на вопросы. Глядя на карту РФ, я уже могу назвать специалистов по сосудистой хирургии в каждом регионе. Нельзя сказать, чтобы это был парад единодушия, — у каждого практикующего врача свой опыт и свое отношение к показаниям и противопоказаниям. Но о препарате знают, его применяют, и это для нас главное. Когда есть результаты и они убедительны для экспертного сообщества в конкретном регионе, разговаривать с чиновниками уже проще. Если все сложится удачно, в арсенале сосудистых хирургов вскоре появится новый полезный инструмент.

