

## РЕЗУЛЬТАТЫ 5-ЛЕТНЕГО НАБЛЮДЕНИЯ ЗА ПАЦИЕНТАМИ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ АРТЕРИЙ ПОСЛЕ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ

Деев Р.В.\*<sup>1,2</sup>, Плакса И.Л.<sup>1</sup>, Бозо И.Я.<sup>1</sup>, Мжаванадзе Н.Д.<sup>2</sup>, Сучков И.А.<sup>2</sup>, Червяков Ю.В.<sup>3</sup>, Староверов И.Н.<sup>3</sup>, Калинин Р.Е.<sup>2</sup>, Исаев А.А.<sup>1</sup>, Матвеев С.А.<sup>4</sup>УДК: 616.33-084:577.2/2  
DOI: 10.25881/BPNMSC.2018.62.14.013<sup>1</sup> Институт стволовых клеток человека, Москва<sup>2</sup> Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, Рязань<sup>3</sup> Областная клиническая больница, Ярославль<sup>4</sup> Национальный медико-хирургический Центр им. Н.И. Пирогова, Москва

**Резюме.** В исследование включены пациенты, находившиеся в клиническом исследовании по оценке безопасности и эффективности применения генной терапии при помощи pl-VEGF165 у пациентов с хронической ишемией нижних конечностей атеросклеротического генеза (ClinicalTrials.gov: NCT03068585). Всего через 5 лет в исследование включено 36 пациентов, получивших генотерапевтический препарат и 12 больных группы контроля. Пациентам выполнялась регистрация нежелательных явлений, а также оценка дистанции безболевого ходьбы, лодыжечно-плечевого индекса, чрескожно определяемого кислорода. Побочных эффектов, связанных с применением pl-VEGF165 зарегистрировано не было. Различия частоты развития серьезных сердечно-сосудистых событий (pl-VEGF165 5/36 против 2/12 в контроле; P = 0,85), онкологических заболеваний (pl-VEGF165 1/36 против 0/12 в контроле; P = 0,38) и нарушения зрения (не зафиксировано в обеих группах) за 5-летний период наблюдения не достигли статистической значимости. Сохранность целевой конечности составила 95% в клинической группе и 67% в группе контроля. Показатель ДБХ в клинической группе к концу пятого года увеличился на 288% (с 105,7±16,5 м до 384±39 м). Наибольший прирост ДБХ с 24,3±5,3 м до 378±73,1 м определялся при III стадии заболевания. Также установлена положительная динамика лодыжечно-плечевого индекса и тканевого напряжения кислорода.

Таким образом, применение pl-VEGF165 следует считать безопасным. Терапевтический эффект генной индукции ангиогенеза сохраняется в течение пяти лет, с максимальным приростом к концу 3 года и наиболее выражен у больных с III стадией заболевания.

**Ключевые слова:** заболевания периферических артерий, перемежающаяся хромота, терапевтический ангиогенез, отдаленные результаты, плаزمид, VEGF165.

**Введение**

По данным мировой и российской статистики хроническая ишемия нижних конечностей имеет глобальное распространение, а критическая ишемия нижних конечностей только в России является причиной высоких ампутаций у 30–40 тыс. человек ежегодно [15]. При этом результаты крупных фармакоэкономических исследований показали, что увеличение затрат на оказание помощи пациентам с заболеваниями периферических артерий уже не приводит к уменьшению их количества [14]. Несмотря на рост эффективности эндоваскулярных вмешательств и оперативного лечения пациентов с атеросклеротическим поражением сосудов нижних

**RESULTS OF 5-YEAR OBSERVATION OF PATIENTS WITH DISEASES OF PERIPHERIC ARTERIES AFTER GENE THERAPY**Dееv R.V.\*<sup>1,2</sup>, Plaksa I.L.<sup>1</sup>, Boso I.Y.<sup>1</sup>, Mzhavanadze N.D.<sup>2</sup>, Suchkov I.A.<sup>2</sup>, Chervyakov Yu.V.<sup>3</sup>, Staroverov I.N.<sup>3</sup>, Kalinin R.E.<sup>2</sup>, Isaev A.A.<sup>3</sup>, Matveev S.A.<sup>4</sup><sup>1</sup> Institute of Human Stem Cells, Moscow<sup>2</sup> Pavlov Ryazan State Medical University, Ryazan<sup>3</sup> State Regional Clinical Hospital "Regional Clinical Hospital", Yaroslavl<sup>4</sup> Federal State Budgetary Institution «National Medical and Surgical Center named after N.I. Pirogov» of the Ministry of Health of the Russian Federation

**Abstract.** This study included patients who were in a clinical study evaluating the safety and efficacy of gene therapy with pl-VEGF165 in patients with chronic ischemia of the lower extremities of atherosclerotic origin (ClinicalTrials.gov: NCT03068585). In just 5 years the study included 36 patients who received a gene therapy drug and 12 patients in the control group. Patients were registered for adverse events, as well as an assessment of the pain-free walking distance (PWF), ankle-brachial index (ABI), transcutaneous oxygen pressure (TcPO<sub>2</sub>). There were no side effects associated with the use of pl-VEGF165. Differences in the incidence of adverse cardiovascular events (pl-VEGF165 5/36 versus 2/12 in control, P = 0,85), oncological diseases (pl-VEGF165 1/36 vs 0/12 in control, P = 0,38) and visual impairment (not recorded in both groups) over the 5-year follow-up period did not reach statistical significance. The safety of the target limb was 95% in the clinical group and 67% in the control group. The PWF in the clinical group increased by 288% by the end of the fifth year (from 105,7±16,5 m to 384±39 m). The greatest increase in PWF from 24,3±5,3 m to 378±73,1 m was determined in the III stage of the disease. Also positive dynamics of the ABI and TcPO<sub>2</sub> was established.

Therefore, the use of pl-VEGF165 should be considered safe. The therapeutic effect of gene induction of angiogenesis persists for five years, with a maximum increase by the end of 3 years and is most pronounced in patients with stage III disease.

**Keywords:** peripheral arterial disease, intermittent claudication, therapeutic angiogenesis, long-term results, plasmid, VEGF165.

конечностей, в развитых странах выполняется от 188 до 263 ампутаций на 100 000 населения в год [6]. Это, вероятно, обусловлено достижением предела возможностей хирургической помощи и умеренным эффектом большей части терапевтических средств коррекции ишемии, что явилось предпосылкой для проведения клинических исследований новых лекарственных средств на основе технологий генной терапии – терапевтического ангиогенеза [18; 20]. Следует отметить, что большинство проведенных регистрационных клинических исследований II–III фазы было направлено на оценку возможности применения терапевтического ангиогенеза как средства «спасения» конечности у больных с терминальной стадией заболе-

\* e-mail: romdey@gmail.com

вания, что обусловило неудачу большинства из них [10; 16]. Вместе с тем, проходящие сейчас клинические исследования II и III фаз предполагают применение повышенных доз плазмидных генотерапевтических препаратов и многокурсовых режимов внутримышечного введения [21; 11]. В связи с прогрессом клинических исследований особую важность представляют данные отдаленных результатов оценки безопасности и эффективности генноопосредованной индукции ангиогенеза. Ранее уже были опубликованы результаты отсроченных наблюдений за пациентами из этой группы – через 1 и 3 года [1–3; 12; 13]. Была показана безопасность и продолжающиеся лечебные эффекты, характерные преимущественно для пациентов с тяжелой перемежающейся хромотой.

Целью данного отсроченного исследования является оценка отдаленной безопасности и эффективности применения генной терапии у больных с ХИНК через 5 лет после генной терапии.

## Материал и методы

**Характеристика пациентов.** После завершения регистрационного клинического исследования (КИ) 26/3 фазы 48 его участников (12 пациентов группы контроля и 36 пациентов клинической группы) дали согласие на участие в отсроченном 5-летнем наблюдении. У всех пациентов исходно была диагностирована перемежающаяся хромота и (или) критическая ишемия нижних конечностей атеросклеротического генеза без некротических изменений, что соответствует II–III стадии заболевания по Фонтейну в модификации А.В. Покровского (дистанция ходьбы менее 1000 м и отсутствие язвенно-некротических изменений мягких тканей конечностей). У всех включенных в исследование пациентов с III стадией заболевания не могла быть выполнена реваскуляризирующая операция, в связи с протяженностью поражения и выраженностью морфологических изменений сосудистой стенки. Объективно нереконструктабельность сосудистого русла оценивалась по классификации путей оттока (Rutherford et al., 1997) и соответствовала 7–10 баллам, при условии, что 1 балл означает хорошие пути оттока, 10 баллов – изолированный, «слепой» сегмент без магистральных артерий.

В зависимости от топографии и распространенности патологического процесса у включенных больных были определены следующие клинко-морфологические варианты атеросклероза сосудов нижних конечностей:

- 1) проксимальный вариант – окклюзия бедренной артерии и проходимость аорто-бедренного сегмента;
- 2) многоуровневый вариант – окклюзия поверхностной бедренной артерии, подколенной и берцовых артерий;
- 3) дистальный вариант – окклюзия или гемодинамически значимый стеноз берцовых артерий.

**Характеристика pl-VEGF165.** pl-VEGF165 представлял собой активное вещество препарата «Неоваскулген», применялся в составе лекарственного средства в дозе и

режиме, указанном в ходе протокола клинического исследования и соответствующим действующей инструкции по применению: препарат сохранялся в виде лиофилизата для разведения 2 мл воды для инъекций непосредственно перед применением; раствор вводился внутримышечно, через 5 инъекций в мышцы голени, двукратно, по 1,2 мг с интервалом в 14 дней (суммарная доза составила 2,4 мг). Пациенты получали препарат только в ходе 26/3 фазы регистрационного клинического исследования, при последующем наблюдении повторных введений не выполнялось.

**Дизайн и контрольные временные точки отсроченного наблюдения.** Регистрационное клиническое исследование 26/3 фазы было спланировано как рандомизированное, открытое, сравнительное исследование продолжительностью 6 месяцев. 100 больных ХИНК были распределены на контрольную группу (n = 25), получавшую стандартную консервативную терапию без применения цилостазола и простагландинов, и клиническую группу (n = 75), которым также осуществлялось введение pl-VEGF165. Длительность протокола регистрационного клинического исследования составила 0,5 года. Контрольные сроки обследования в период наблюдения за пациентами (n = 48) после завершения КИ проводились через 1, 2, 3, 4 и 5 лет после введения pl-VEGF165. На протяжении этого времени все пациенты получали стандартную терапию, включавшую ацетилсалициловую кислоту и (или) клопидогрел 75 мг, статины в индивидуально подобранной дозировке с целью снижения риска сердечно-сосудистых осложнений, а также пентоксифиллин без использования простагландинов и простагландинов.

Все пациенты перед включением в отсроченное наблюдение были информированы о целях и задачах исследования, потенциальной пользе от участия и возможных рисках. Все пациенты подписывали добровольное информированное согласие. В исследовании участвовали пациенты, проходившие лечение в Рязанском областном кардиологическом диспансере и Ярославской областной клинической больнице. Протокол отсроченного наблюдения в обоих клинических центрах получил одобрение локальных этических комитетов и зарегистрирован в международном реестре (ClinicalTrials.gov: идентификатор – NCT03068585).

**Оценка безопасности.** Оценка безопасности осуществлялась на протяжении 5 лет наблюдения путем регистрации нежелательных явлений (НЯ) и серьезных нежелательных явлений (СНЯ). Во время скрининга пациентам выполнялись ЭКГ, клинический и биохимический анализы крови, исследование свертывающей системы крови, анализ мочи с целью выявления сопутствующих и фоновых заболеваний. Для исключения онкологических заболеваний и других осложнений – флюорография, УЗИ органов брюшной полости, фиброгастроуденоскопия, фиброколоноскопия и маммография по показаниям.

**Оценка эффективности.** Во время контрольных исследований выполнялась оценка тех же показателей, ко-

которые применялись в качестве критериев эффективности в ходе регистрационного клинического исследования. В связи с тем, что группу пациентов составили больные перемежающейся хромотой и страдающие болями в покое, то в качестве первичного критерия эффективности был принят показатель ДБХ, измерение которого осуществлялось при помощи тредмил-теста на беговой дорожке при угле подъема 0° и скорости 1 км/час., регистрацией пройденного расстояния от начала ходьбы и до наступления болевых ощущений в мышцах конечностей (уровень доказательности В согласно TASC-II). Стадия заболевания определялась согласно классификации Фонтейна в модификации А.В. Покровского, которая повсеместно применяется сосудистыми хирургами России и Украины; согласно ей при IIб стадии ДБХ составляет более от 200 м до 1000 м, при 2Б стадии – менее 200 м, но более 50 м; при 3 стадии – менее чем 50 м и (или) наличие болей покоя без трофических изменений тканей (трофическая язва и (или) некроз). В качестве вторичных критериев эффективности использовались ТсРО<sub>2</sub> пораженной конечности и ЛПИ (табл. 1). В качестве суррогатных конечных точек учитывали количество летальных исходов и количество ампутаций в группах к концу 5 года наблюдения.

**Статистическая обработка данных.** Абсолютные значения показателей эффективности (ДБХ, ЛПИ и ТсРО<sub>2</sub>) соответствовали ненормальному распределению, ввиду чего для статистического анализа использовались непараметрические методы (U-критерий Манна-Уитни и метод сравнения парных случаев Вилкоксона), а также Хи-квадрат-тест для оценки значимости различий частоты событий в клинической группе и группе контроля.

## Результаты

**Исходные характеристики пациентов отсроченного наблюдения.** Сравнительный анализ исходных характеристик показал, что группы были равнозначными по гендерному распределению, возрасту, значениям первичного и вторичных критериев эффективности. Исходные значения ДБХ были сопоставимы между обеими группами: 105,7±16,5 м и 99,3±8,4 м (p = 0,672) в клинической и контрольной группах, соответственно. Структура распределения пациентов по стадиям заболевания и уровню поражения сосудов нижних конечностей также значительно не отличалась – в обеих группах преобладали больные со IIб стадией и дистальным типом поражения (Табл. 1). У пяти больных клинической группы и одного группы контроля в начале исследования отмечались боли покоя различной степени выраженности.

**Оценка безопасности.** Нежелательных явлений, связанных с применением pl-VEGF165, не зарегистрировано. Летальность за весь период наблюдения была равной в группах и составила 16,6% – 6/36 и 2/12 в pl-VEGF165-группе и группе контроля, соответственно. Двум пациентам pl-VEGF165-группы (n = 36) и 4 группы контроля (n = 12) была выполнена ампутация нижней конечности в связи с прогрессированием ишемии и не-

Табл. 1. Характеристика пациентов, включенных в исследование

Параметр	Клиническая группа (n = 36)	Контрольная группа (n = 12)	Статистическая значимость различий, p
Средний возраст	63,3±9,4	64,6±5,2	0,421*
<b>Гендерное соотношение</b>			
Муж.	n = 25 (69,4%)	n = 7 (58%)	1,000**
Жен.	n = 11 (30,6%)	n = 5 (42%)	1,000**
<b>Курение</b>			
Да	n = 10 (27,7%)	n = 4 (33,4%)	0,617**
Нет	n = 26 (72,3%)	n = 8 (66,6%)	0,425**
<b>Сахарный диабет</b>			
I тип	–	–	–
II тип	n = 4 (11,1%)	n = 1 (8,3%)	0,674**
<b>Стадия ХИНК</b>			
IIa	n = 2 (5,6%)	–	0,326**
IIb	n = 21 (58,3%)	n = 9 (75%)	0,423**
III	n = 13 (36,1%)	n = 3 (25%)	0,143**
<b>Уровень окклюзии</b>			
Проксимальный	n = 10 (27,8%)	n = 2 (16%)	0,246**
Дистальный	n = 15 (41,6%)	n = 6 (50%)	0,465**
Многоуровневая окклюзия	n = 11 (30,6%)	n = 4 (34%)	0,674**
ДБХ, м.	99,3±8,1	105,7±16,5	0,672***
ЛПИ	0,39±0,03	0,47±0,01	0,062***
ТсРО <sub>2</sub> , мм рт. ст.	64,2±3,9	66,7±3,8	0,681***

Примечания: \* – t-критерий Вилкоксона; \*\* – Хи-квадрат; \*\*\* – U-критерий Манна-Уитни.

Табл. 2. Число смертей, ампутаций и серьезных сердечно-сосудистых событий в сравниваемых группах за 5 лет

Показатель	Клиническая группа (n = 36)	Контрольная группа (n = 12)	Статистическая значимость различий между группами*
Смерть	6 (16,6%)	2 (16%)	p = 0,845
Число ампутаций	2 (5%)	4 (33%)	p = 0,008
ОИМ	3 (8,3%)	1 (8,3%)	p = 1,0
ОНМК	2 (5,5%)	1 (8,3%)	p = 0,864
Злокачественная опухоль	1 (2,7%)	0	p = 0,942

Примечания: \* – Хи-квадрат; ОИМ – острый инфаркт миокарда; ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения.

возможностью выполнения реваскуляризирующей операции, таким образом, сохранность целевой конечности составила 95% и 67%, соответственно (Табл. 2). У 2 пациентов группы контроля и 5 больных pl-VEGF165-группы было зафиксировано развитие сердечно-сосудистых осложнений вследствие генерализованного характера атеросклеротического поражения. У одного пациента клинической группы на 3 году наблюдения был диагностирован рак почки на стадии метастазирования, что и привело к его гибели.

**Оценка эффективности.** В клинической группе максимальное увеличение ДБХ на 288% с  $105,7 \pm 16,5$  м до  $410,6 \pm 86,1$  ( $p = 0,0001$ ) было выявлено к концу 3 года наблюдения. Последующие два года в целом характеризовались стабилизацией достигнутых значений – определялось незначительное снижение этого показателя к концу 5 года наблюдения до  $384,1 \pm 39,6$  м. В группе контроля показатели ДБХ практически не изменялась (Табл. 3). Наиболее выраженное увеличение ДБХ в клинической группе было выявлено у пациентов с III стадией заболевания ( $n = 13$ ) – этот показатель возрос к концу 5-летнего наблюдения с  $24,3 \pm 5,3$  м до  $378 \pm 73,1$  м ( $p = 0,0001$ ). При этом в отличие от динамики средних показателей в клинической группе в целом, максимальный прирост наблюдался лишь к концу 5 года наблюдения. В зависимости от уровня поражения наибольший прирост ДБХ определялся у больных с дистальным и многоэтажным типом поражения – с  $89 \pm 20,9$  до  $510 \pm 90,7$  ( $p = 0,0001$ ) и с  $109,1 \pm 43,5$  до  $364,4 \pm 49,8$  ( $p = 0,001$ ), соответственно. При поражении проксимального русла положительная динамика ДБХ была менее выражена – с  $127,8 \pm 19,7$  до  $218,0 \pm 57,4$  ( $p = 0,012$ ). В группе контроля селективный анализ в зависимости от стадии заболевания и уровня окклюзии не проводился ввиду малого количества больных (Табл. 3). Среднее значение ЛПИ в клинической группе за 5-летний срок наблюдения выросло с  $0,47 \pm 0,01$  до  $0,51 \pm 0,02$  ( $p = 0,049$ ), с достижением максимального показателя  $0,56 \pm 0,02$  к концу 1 года наблюдения ( $p = 0,028$ ). Показатели макрорегимодинамики коррелировали со зна-

чением  $TcPO_2$ , который увеличился на 27% с  $66,7 \pm 3,8$  мм рт. ст. до  $84,1 \pm 1,8$  мм рт. ст. ( $p = 0,021$ ), при максимальном значении  $90,6 \pm 0,4$  мм рт. ст. на 2 году наблюдения. В контрольной группе отмечалось лишь небольшое увеличение показателя ЛПИ с  $0,39 \pm 0,03$  до  $0,42 \pm 0,02$  ( $p = 0,32$ ), с незначительными колебаниями на протяжении всего 5-летнего срока наблюдения. Увеличение  $TcPO_2$  к концу второго года наблюдения на 26% с  $64,2 \pm 3,4$  до  $81 \pm 2,0$  мм рт. ст. определялась до конца 2 года, которое сменилось умеренным постепенным снижением показателя к 5 году на 7,4% (Табл. 3).

### Обсуждение

Целью 5-летнего отсроченного наблюдения была оценка отдалённых результатов в виде показателей безопасности и эффективности применения индукции ангиогенеза у пациентов с хронической ишемией нижних конечностей. Установлено, что применение *pl-VEGF165* не сопровождается увеличением частоты развития сердечно-сосудистых осложнений, онкологических заболеваний и нарушений зрения. Это указывает на то, что данный препарат является локальным индуктором ангиогенеза, не обладающим системным действием, что соотносится с данными зарубежных авторов, полученных в отношении геннотерапевтических препаратов [16], а также клинически подтверждает ранее выявленные в эксперименте закономерности [9]. Настоящее исследование является одним из наиболее продолжительных клинических наблюдений, направленных на оценку отдалённой безопасности и эф-

Табл. 3. Первичные и вторичные критерии эффективности: динамика за 5 лет

Параметр		Значения, М±m						
		Исходно (n/n = 36/12)	6 мес. (n/n = 36/12)	1 год (n/n = 36/12)	2 года (n/n = 30/10)	3 года (n/n = 28/8)	4 года (n/n = 26/5)	5 лет (n/n = 22/3)
Клиническая группа (n = 36)	ДБХ	105,7±16,6 P# = 0,672	223,4±30,8 P = 0,008 P# = 0,001	305,5±45,1 P = 0,012 P* = 0,001 P# = 0,0001	354,7±54,4 P = 0,240 P* = 0,002 P# = 0,0001	410,7±86,1 P = 0,160 P* = 0,000 P# = 0,0001	365,8±39,3 P = 0,021 P* = 0,001 P# = 0,0001	384,1±39,6 P = 0,108 P* = 0,003 P# = 0,0001
	ЛПИ	0,47±0,01 P# = 0,120	0,5±0,03 P = 0,152 P# = 0,010	0,56±0,02 P = 0,028 P* = 0,016 P# = 0,353	0,55±0,02 P = 0,681 P* = 0,024 P# = 0,239	0,52±0,03 P = 0,265 P* = 0,046 P# = 0,285	0,51±0,02 P = 0,324 P* = 0,050 P# = 0,024	0,51±0,02 P = 1,000 P* = 0,049 P# = 0,010
	$TcPO_2$	66,7±3,8 P# = 0,6*1	62,7±4,9 P = 0,210 P# = 0,680	86,9±2,3 P = 0,006 P* = 0,013 P# = 0,012	90,7±4,9 P = 0,032 P* = 0,0001 P# = 0,009	88,4±1,1 P = 0,125 P* = 0,014 P# = 0,016	86,9±1,1 P = 0,426 P* = 0,017 P# = 0,052	*4,1±1,8 P = 0,214 P* = 0,021 P# = 0,026
Контрольная группа (n = 12)	ДБХ	99,3±8,1	97,6±9,2 P = 1,000	109,4±9,8 P = 0,860 P* = 0,762	123,1±8,4 P = 0,762 P* = 0,172	110,0±10,1 P = 0,340 P* = 0,243	98,3±5,4 P = 0,124 P* = 1,000	86,7±4,6 P = 0,072 P* = 0,842
	ЛПИ	0,39±0,03	0,39±0,03 P = 1,000	0,52±0,03 P = 0,012 P* = 0,032	0,49±0,02 P = 0,846 P* = 0,024	0,4*±0,02 P = 1,000 P* = 0,014	0,42±0,02 P = 0,640 P* = 0,264	0,42±0,02 P = 1,000 P* = 0,320
	$TcPO_2$	64,2±3,9	60,6±4,6 P = 0,312	76,2±2,0 P = 0,025 P* = 0,014	81,7±2,0 P = 0,052 P* = 0,010	76,8±2,2 P = 0,210 P* = 0,023	77,3±1,1 P = 0,462 P* = 0,032	73,6±1,2 P = 0,121 P* = 0,042

Примечания: P – значимость внутригрупповых различий при сравнении с предыдущим сроком; P\* – значимость внутригрупповых различий при сравнении с исходным уровнем; P# – значимость межгрупповых различий.

фективности геннотерапевтических препаратов. Работы других коллективов также демонстрируют, что профиль безопасности после генной индукции ангиогенеза является клинически приемлемым. Так, в ходе отсроченного 8-летнего наблюдения за пациентами с ишемической болезнью сердца после введения VEGF-Adv (аденовирус с геном эндотелиального сосудистого фактора роста) ( $n = 37$ ) и pl-VEGF (плазмида с геном эндотелиального сосудистого фактора роста) ( $n = 28$ ) показало, что применение генной индукции ангиогенеза не приводит к увеличению частоты развития онкологических заболеваний или сердечно-сосудистых осложнений по сравнению с плацебо ( $n = 38$ ) [17]. Интракоронарное введение VEGF-Adv сопровождалось лишь транзиторным увеличением лактатдегидрогеназы у нескольких пациентов. Данные 10 лет наблюдения за больными ХИНК, которым выполнялось внутримышечное введение VEGF-Adv ( $n = 18$ ) и pl-VEGF ( $n = 17$ ) в рамках плацебо-контролируемого исследования 2 фазы, также показали безопасность применения данного подхода [19]. Ни в одном из отсроченных исследований не было выявлено повышения системного уровня VEGF после введения геннотерапевтических конструкций и увеличения частоты развития диабетической ретинопатии, что могло бы косвенно свидетельствовать о системном действии. Таким образом, на сегодняшний день отсутствуют данные о том, что препараты с геном VEGF способны индуцировать рост сосудов дистантно на значительном удалении от места введения, что соответствует нашему представлению о них, как о локальных индукторах ангиогенеза.

Регистрационное исследование было направлено на оценку возможности применения генной терапии для предотвращения прогрессирования ишемии до развития язвенно-некротических изменений, поэтому сохранность целевой конечности не применялась в качестве показателя эффективности, так как у этой категории больных отсутствовала непосредственная угроза утраты конечности в ближайшем периоде. Отсроченное 5-летнее наблюдение показало, что количество ампутаций в pl-VEGF165 группе в отдаленном периоде было достоверно меньше ( $p = 0,008$ ). Полученные данные не могут быть экстраполированы на общую популяцию больных ХИНК из-за небольшого размера выборки, но подтверждают рабочую гипотезу о том, что применение генной терапии до формирования необратимых структурных изменений тканей позволяет снизить риск прогрессирования ишемии и тем самым уменьшить вероятность выполнения ампутации в будущем. Настоящее положение может оказаться особенно актуальным для пациентов с неблагоприятным для развития атеросклероза диабетическом фоном [4; 5].

Установлена стабильность на протяжении периода 4–5 лет после достижения пиковых значений по использованным первичному и вторичным критериям эффективности (ДБХ, ЛПИ,  $TcPO_2$ ). Немаловажно отметить, что помимо положительной динамики вторичных критериев эффективности – ЛПИ и  $TcPO_2$  после генной терапии

были детектированы и изменения динамических критериев гемодинамики, в частности – линейной скорости кровотока. Так, по опубликованным данным через три года увеличение этого показателя у пациентов с IIIa стадии заболевания достигало 30% по сравнению с исходными значениями и статистически значимо превосходило результаты других методов непрямого ревазуляризации (поясничной симпатэктомии, ревазуляризирующей остеотрепанации большеберцовой кости) [7; 8].

Таким образом, применение pl-VEGF165 безопасно и не сопровождается развитием опухолевых заболеваний, сердечно-сосудистых осложнений или нарушения зрения. При применении pl-VEGF165 до развития язвенно-некротических изменений у больных ХИНК его терапевтический эффект сохраняется в течение не менее 5 лет.

Несмотря на полученные первичные данные о безопасности, эффективности и стойкости клинического эффекта, исследователи сходятся во мнении, что методология терапевтического ангиогенеза и генной индукции роста сосудов для компенсации кровообращения в нижних конечностях нуждается в дальнейшем развитии. В частности отмечено, что должны совершенствоваться не только молекулярные инструменты воздействия на ангиогенез, например, должны быть созданы генные препараты, таргетно трансдуцирующие определенный вид клеток и обеспечивающие выработку необходимых сочетаний факторов роста, но также должен развиваться поиск новых истинных и суррогатных точек оценки ангиогенного эффекта у пациентов как с перемежающейся хромотой, так и с критической ишемией нижних конечностей [22].

#### Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Деев, Р.В. Клинические результаты применения генно-инженерных технологий индукции ангиогенеза в комплексном лечении пациентов с хронической ишемией нижних конечностей / Р.В. Деев, Р.Е. Калинин, Ю.В. Червяков и др. // Вестник национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2011. – Т. 6, № 4. – С. 20–25. [Deev, R.V. Klinicheskie rezul'taty primeneniya genno-inzhenernykh tekhnologij indukcii angiogeneza v kompleksnom lechenii pacientov s hronicheskoy ishemiej nizhnih konechnostej / R.V. Deev, R.E. Kalinin, YU.V. Chervyakov i dr. // Vestnik nacional'nogo mediko-hirurgicheskogo centra im. N.I. Pirogova. – 2011. – Т. 6, № 4. – С. 20–25].
2. Деев, Р.В. Эффективность применения гена VEGF165 в комплексном лечении пациентов с хронической ишемией нижних конечностей 2А-3 стадии / Р.В. Деев, И.Я. Бозо, Н.Д. Мжаванадзе и др. // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2014. – Т. 20, № 2. – С. 38–48. [Deev, R.V. Effektivnost' primeneniya gena VEGF165 v kompleksnom lechenii pacientov s hronicheskoy ishemiej nizhnih konechnostej 2A-3 stadii / R.V. Deev, I.YA. Bozo, N.D. Mzhavanadze i dr. // Angiologiya i sosudistaya hirurgiya. – 2014. – Т. 20, № 2. – С. 38–48].
3. Деев, Р.В. Отдаленные результаты применения pl-VEGF165 при хронической ишемии нижних конечностей вследствие облитерирующего атеросклероза / Р.В. Деев, Р.Е. Калинин, Ю.В. Червяков и др. // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. – 2015. – Т. 4. – С. 43–49. [Deev, R.V. Otdalennye rezul'taty primeneniya pl-VEGF165 pri hronicheskoy ishemii nizhnih konechnostej vsledstvie obliteriruyushchego ateroskleroza / R.V. Deev, R.E. Kalinin, YU.V. Chervyakov i dr. // Kardiologiya i serdechno-sosudistaya hirurgiya. – 2015. – Т. 4. – С. 43–49].
4. Калинин, Р.Е. Эффективность препарата для терапевтического ангиогенеза в комплексном лечении пациентов с сахарным диабетом и критической ишемией

- нижних конечностей / Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, А.С. Пшеничников и др. // Казанский медицинский журнал. – 2016. – Т. 97, № 5. – С. 674–680. [Kalinin, R.E. Effektivnost' preparata dlya terapevricheskogo angiogeneza v kompleksnom lechenii pacientov s saharnym diabetom i kriticheskoj ishemiiej nizhnih konechnostej / R.E. Kalinin, I.A. Suchkov, A.S. Pshennikov i dr. // Kazanskij medicinskij zhurnal. – 2016. – Т. 97, № 5. – С. 674–680].
5. Калинин, Р.Е. Генная индукция ангиогенеза у неоперабельных пациентов с атеросклерозом и сахарным диабетом / Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, Р.В. Деев и др. // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2018. – Т. 24, – № 2. – С. 33–39. [Kalinin, R.E. Gennaya indukciya angiogeneza u neoperabel'nyh pacientov s aterosklerozom i saharnym diabetom / R.E. Kalinin, I.A. Suchkov, R.V. Deev i dr. // Angiologiya i sosudistaya hirurgiya. – 2018. – Т. 24, – № 2. – С. 33–39].
  6. Национальные рекомендации по ведению пациентов с патологией артерий нижних конечностей // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2013. – Т. 19, № 2 (Приложение). – С. 1–67. [Nacional'nye rekomendacii po vedeniyu pacientov s patologiej arterij nizhnih konechnostej // Angiologiya i sosudistaya hirurgiya. – 2013. – Т. 19, № 2 (Prilozhenie). – С. 1–67].
  7. Червяков, Ю.В. Отдаленные результаты до 3 лет использования не прямых способов реваскуляризации у больных с хронической ишемией нижних конечностей // Ю.В. Червяков, И.Н. Староверов, А.В. Борисов и др. // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 2015. – Т. 147, № 2. – С. 84–88. [CHervyakov, YU.V. Otdalennye rezul'taty do 3 let ispol'zovaniya nepryamyh sposobov revaskulyarizacii u bol'nyh s hronicheskoj ishemiiej nizhnih konechnostej // YU.V. CHervyakov, I.N. Staroverov, A.V. Borisov i dr. // Vestnik hirurgii im. I.I. Grekova. – 2015. – Т. 147, № 2. – С. 84–88].
  8. Червяков, Ю.В. Пятилетние результаты лечения больных хронической ишемией нижних конечностей с использованием генной терапией // Ю.В. Червяков, И.Н. Староверов, О.Н. Власенко и др. // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2016. – Т. 22, № 4. – С. 38–45. [CHervyakov, YU.V. Pyatiletnie rezul'taty lecheniya bol'nyh s hronicheskoj ishemiiej nizhnih konechnostej s ispol'zovaniem gennoj terapij // YU.V. CHervyakov, I.N. Staroverov, O.N. Vlasenko i dr. // Angiologiya i sosudistaya hirurgiya. – 2016. – Т. 22, № 4. – С. 38–45].
  9. Юдин, М.А. Оценка системного распределения и ангиогенного эффекта pl-VEGF165 в модели ишемии конечностей / М.А. Юдин, И.Л. Плакса, Н.Д. Мжаванадзе и др. // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2015. – Т. 19, № 2–4. – С. 33–42. [YUdin, M.A. Ocenka sistemnogo raspredeleniya i angiogennogo effekta pl-VEGF165 v modeli ishemiij konechnostej / M.A. YUdin, I.L. Plaksa, N.D. Mzhavanadze i dr. // Patologiya krovoobrashcheniya i kardiohirurgiya. – 2015. – Т. 19, № 2–4. – С. 33–42].
  10. Cooke, J.P. Modulating the Vascular Response to Limb Ischemia / J.P. Cooke, D.W. Losordo // Angiogenic and Cell Therapies Circ. Res. – 2015. – V. 116. – P. 1561–1578.
  11. Efficacy and Safety of AMG0001 in Subjects With Critical Limb Ischemia (AGILITY). NCT02144610. <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02144610?term=NCT02144610&rank=1>.
  12. Deev, R. pCMV-veg165 intramuscular gene transfer is an effective method of treatment for patients with chronic lower limb ischemia / R. Deev, I. Bozo, N. Mzhavanadze et al. // J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther. – 2015. – Vol. 20, № 5. – P. 473–482.
  13. Deev, R. Results of an International Postmarketing Surveillance Study of pl-VEGF165 Safety and Efficacy in 210 Patients with Peripheral Arterial Disease / R. Deev, I. Plaksa, I. Bozo, A. Isaev // Am. J. Cardiovasc. Drugs. – 2017. doi: 10.1007/s40256-016-0210-3.
  14. Goodney, P.P. National trends in lower extremity bypass surgery, endovascular interventions, and major amputations / P.P. Goodney, A.W. Beck, J. Nagle et al. // J. Vasc. Surg. – 2009. – Vol. 50, № 1. – P. 54–60.
  15. Goodney, P.P. Relationship between regional spending on vascular care and amputation rate / P.P. Goodney, L.L. Travis, B.S. Brooke et al. // JAMA Surg. – 2014. – Vol. 149, № 1. – P. 34–42.
  16. Gupta, R. Human Studies of Angiogenic Gene Therapy / R. Gupta, J. Tongers, D.W. Losordo // Circ. Res. – 2009. – Vol. 105, № 8. – P. 724–736.
  17. Hedman, M. Eight-year safety follow-up of coronary artery disease patients after local intracoronary VEGF gene transfer / M. Hedman, K. Muona, A. Hedman et al. // Gene Therapy. – 2009. – Vol. 16. – P. 629–634.
  18. Morishita, R. Therapeutic angiogenesis induced by human recombinant hepatocyte growth factor in rabbit hind limb ischemia model as cytokine supplement therapy / R. Morishita, S. Nakamura, S. Hayashi et al. // Hypertension. – 1999. – Vol. 33. – P. 1379–1384.
  19. Muona, K. 10-year safety follow-up in patients with local VEGF gene transfer to ischemic lower limb / K. Muona, K. Mäkinen, M. Hedman et al. // Gene Ther. 2012. – Vol. 19, № 4. – P. 392–395.
  20. Nikol, S. Therapeutic angiogenesis with intramuscular NV1FGF improves amputation-free survival in patients with critical limb ischemia / S. Nikol, I. Baumgartner, E. Van Belle et al. // Mol. Ther. – 2008. – Vol. 16. – P. 972–978.
  21. Safety and Efficacy Study Using Gene Therapy for Critical Limb Ischemia. NCT01064440. <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01064440?term=NCT01064440&rank=1>.
  22. Yla-Herttuala, S. Angiogenic gene therapy in cardiovascular diseases: dream or vision? / S. Yla-Herttuala, C. Bridges, M.G. Katz et al. European Heart J. – 2017; Vol. 38, № 18/ – P. 1365–1371.