

Комплексное лечение пациентов с хронической ишемией нижних конечностей с использованием генных индукторов ангиогенеза: ближайшие и отдаленные результаты

А.В. Гавриленко, Д.А. Воронов, Н.П. Бочков

Российский научный центр хирургии им. Б.В. Петровского РАМН

Complex therapy of patients with chronic lower limb ischemia by angiogenesis gene inducers: immediate and long-term results

A.V. Gavrilenko, D.A. Voronov, N.P. Bochkov

B.V. Petrovsky Russian Scientific Center of Surgery, RAMS

Представлены результаты контролируемого исследования по использованию терапевтического ангиогенеза в комплексном лечении больных с хронической ишемией нижних конечностей (ХИНК). В исследование включено 134 пациента (74 — основная группа, 60 — контрольная) с ХИНК IIБ — III ст. по классификации Фонтена — Покровского. Стимуляция ангиогенеза была использована как в качестве самостоятельного метода лечения в сочетании с традиционной консервативной терапией, так и в дополнение к реконструктивным сосудистым операциям.

Доказано, что генно-инженерные стимуляторы ангиогенеза могут быть эффективно использованы в комплексном лечении пациентов с ХИНК, демонстрируя при этом приемлемую переносимость и безопасность. Показано, что технологии терапевтического ангиогенеза могут быть использованы как в качестве самостоятельного метода лечения, так и в сочетании с реконструктивными сосудистыми операциями для улучшения отдаленных результатов последних.

Ключевые слова: терапевтический ангиогенез, хроническая ишемия нижних конечностей, генно-инженерные стимуляторы.

Проблема эффективного лечения пациентов с хронической ишемией нижних конечностей (ХИНК) по-прежнему остается актуальной проблемой ангиологии и сосудистой хирургии, прежде всего, в связи с большой распространенностью патологии, трудностями и длительностью лечения, высокой степенью инвалидизации данной категории пациентов, а следовательно — в связи с важной медицинской, социальной и экономической значимостью. Современная ангиотропная фармакотерапия и возможности реконструктивной сосудистой хирургии позволяют достичь положительных результатов лечения у большой части пациентов. Однако существуют и некоторые ограничения возможностей существующих подходов к лечению, наиболее очевидных применительно к пациентам с т.н. «дистальными» формами поражения артерий нижних конечностей (т.е. диффузными поражениями дистальных отделов артериального русла), в отношении которых фармакотерапия эффективна лишь на ранних стадиях заболевания, а отдаленные результаты хирургического лечения не являются удовлетворительными. Именно эта категория пациентов вносит основной вклад неудовлетворительных результатов лечения ХИНК.

e-mail: bochkovnik@gmail.com

The controlled study results of using therapeutic angiogenesis in multimodality therapy of patients with chronic lower limb ischemia (CLLI) are presented. 134 patients (74 ones comprised the target group and 60 patients were the controls) with CLLI IIb-III stages according to the Fontaine-Pokrovsky classification were included into the study. Angiogenesis stimulation was used both as a separate treatment modality in combination with routine conservative therapy and as an adjuvant to reconstructive vascular surgery. It is proved that genetically engineered angiogenesis stimulators can be used in a multimodality therapy of patients with CLLI, demonstrating satisfactory tolerance and safety. Therapeutic angiogenesis technologies have been shown to be applied as an independent therapy and as in combination with reconstructive vascular surgery to improve a long-term outcome of the latter.

Key words: therapeutic angiogenesis, chronic lower limb ischemia, gene-engineered stimulators.

Одним из современных, принципиально новых по принципам действия и перспективных для дальнейшего изучения и использования подходов в лечении пациентов с хроническими ишемическими поражениями тканей (в т.ч. с ХИНК, ишемической болезнью сердца) является применение методов индукции ангиогенеза, основанных на использовании самоэкспрессирующихся генно-инженерных конструкций с генами, кодирующими синтез белков-факторов ангиогенеза (сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), ангиогенина (ANG), фактора роста фибробластов и др.). Введение таких конструкций в ишемизированные ткани может обеспечивать длительный синтез ростовых факторов, что ведет к развитию дополнительной сосудистой сети и, следовательно, к увеличению перфузии ткани и снижению степени ишемии. Данные методики могут быть использованы как в качестве самостоятельного метода лечения (преимущественно у пациентов со средними степенями ишемии), так и в сочетании с реконструктивными сосудистыми операциями для улучшения отдаленных результатов последних.

К настоящему времени за рубежом и в России опубликованы результаты экспериментальных и кли-

нических исследований, посвященных терапевтическому ангиогенезу [1–6]. Следует отметить, что результаты данных работ не всегда совпадают по выводам, а подчас и противоречат друг другу. Связано это, прежде всего, с отсутствием «стандартного» подхода к проведению подобного рода исследований: использованием существенно отличающихся друг от друга экспериментальных моделей, принципиально разных генно-инженерных конструкций, различными критериями отбора пациентов и принципами оценки эффективности. Тем не менее, в связи с общим небольшим количеством исследований по терапевтическому ангиогенезу, любая новая работа по данной проблеме может внести свой вклад в оценку нового метода лечения и поэтому является актуальной.

Российский научный центр хирургии РАМН совместно с Институтом молекулярной генетики РАН и НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи занимается исследованием возможностей применения генных технологий лечения ХИНК уже более 10 лет. Проведенная работа включала несколько этапов: от идеи и создания оригинальных генно-инженерных конструкций, через исследования на экспериментальных моделях к клиническому использованию у пациентов. На различных стадиях работы изучались разные конструкции с генами ангиогенеза: нативные плазмиды и вирусные векторные конструкции с генами VEGF и ANG. Все эти конструкции были испытаны на биологических моделях (куриных эмбрионах), на модели ишемии задней конечности крыс в экспериментах. Была показана эффективность в плане индукции ангиогенеза и безопасность. Результаты данных исследований представлены в наших предшествующих работах [2, 3]. Положительные результаты экспериментальных работ позволили нам провести апробацию данного метода лечения в клинической практике. На проведение клинического исследования было получено разрешение Этического комитета РНЦХ РАМН, а от каждого больного, включенного в исследование — письменное информированное согласие.

Цель настоящей работы: оценка клинической эффективности, ближайших и отдаленных результатов использования генно-инженерных конструкций с генами VEGF и/или AGN в комплексном лечении пациентов с ХИНК.

Материал и методы

Всего в проспективное контролируемое исследование на различных его этапах вошло 134 пациента с ХИНК IIБ–III степени (по классификации Фонтена-Покровского), в том числе 116 мужчин и 18 женщин в возрасте от 43 до 80 лет (средний возраст 61 ± 7 лет). Этиологией заболевания во всех случаях был атеросклероз, у 29 пациентов имелся сопутствующий сахарный диабет 2-го типа, у 3 пациентов были признаки сочетанного артериитического процесса. ХИНК IIБ степени была диагностирована у 89 пациентов, III степени — у 45. У всех пациентов, включенных в данное исследование, имелись выраженные диффузные изменения (вплоть до окклюзии) артерий голени.

Пациенты были распределены на основную (74 больных) и контрольную (60 больных) группы. В лечении пациентов основной группы дополнительно к стандартным методам применялись генные индукторы ангиогенеза, растворы которых вводились инъ-

екционно в икроножную группу мышц пораженной конечности: нативные плазмиды с генами VEGF и ANG — 27 пациентам, вирусные векторные конструкции CELO-ANG — 18; Ad5-ANG — 15; Ad5-(ANG + VEGF) — 14 пациентам.

Стимуляция ангиогенеза была использована как в качестве самостоятельного метода лечения в сочетании с традиционной консервативной терапией (39 пациентов), так и в дополнение к реконструктивным сосудистым операциям (35 пациентов): к бедренно-подколенному аутовенозному шунтированию (21 больной), аорто-бедренному (глубокобедренному) шунтированию — 9 больных, артериализации поверхностного венозного кровотока голени и стопы — 5 больных.

По основным исходным клиническим признакам, а также по объему консервативной терапии, соответствующие подгруппы основной и контрольной групп статистически значимо не отличались.

Отдаленные результаты лечения изучены в сроки от 6 до 52 мес.

В качестве критериев оценки результатов лечения использовались проходимость шунтов, дистанция безболевого ходьбы, лодыжечно-плечевой индекс, время восстановления исходных ультразвуковых показателей кровотока при проведении тредмил-теста, перфузия мышц по данным радиоизотопных методов исследования, индекс качества жизни. В подгруппе консервативной терапии анализ проводился отдельно для пациентов с IIБ и III классификационной степенью, в подгруппе хирургического лечения — в зависимости от использованной генной конструкции.

Статистический анализ средних показателей производился с использованием критерия Стьюдента с поправкой для малых групп. Для сравнения непараметрических показателей использовался точный критерий Фишера. В качестве уровня статистической значимости различий принималось значение $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Результаты использования генных стимуляторов ангиогенеза в качестве самостоятельного метода лечения представлены на рис.1. Видно, что по показателям дистанции безболевого ходьбы и качества жизни статистически значимо лучшие результаты получены в основной группе (по сравнению с контрольной) как при IIБ, так и при III классификационной степени ишемии. В то же время по показателю времени восстановления исходных параметров кровотока, косвенно отражающему функциональный резерв микроциркуляции, пограничные (по статистической значимости) различия между основной и контрольной группами удалось получить только для пациентов с IIБ ст. У пациентов основной группы с ХИНК III ст. наблюдалось статистически значимое снижение этого показателя по сравнению с исходным показателем, однако степень снижения не достигала уровня статистической значимости различий с контрольной группой. Следует также обратить внимание, что относительные (от исходного) изменения всех анализируемых выше показателей у пациентов с ХИНК IIБ ст. превышали таковые у пациентов с III ст. По показателю динамики лодыжечно-плечевого индекса каких либо статистически значимых различий получено не было.

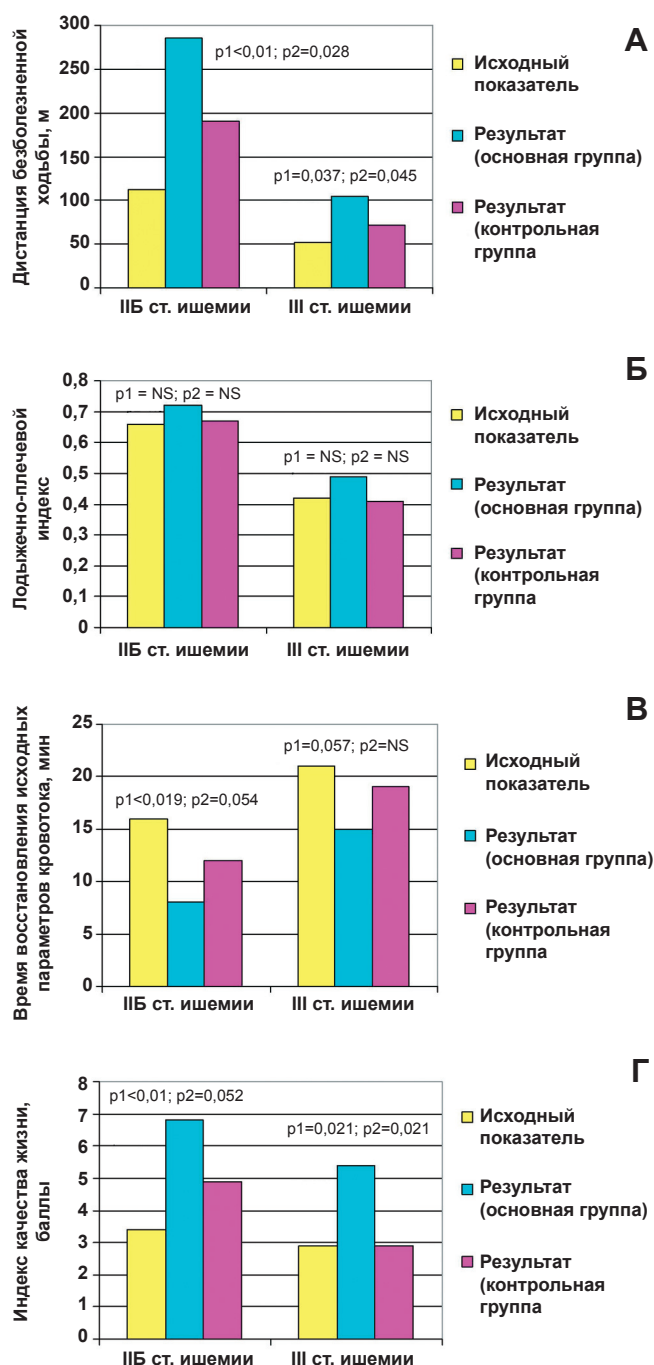


Рис. 1. Отдаленные результаты использования генных индукторов ангиогенеза у пациентов с хронической ишемией нижних конечностей в качестве изолированного метода лечения:

А – дистанция безболевого ходьбы;

Б – лодыжечно-плечевой индекс;

В – время восстановления исходных параметров кровотока при тредмил-тесте;

Г – индекс качества жизни;

$p1$ – статистическая значимость различий исходного показателя и показателя после лечения в основной группе;

$p2$ – статистическая значимость различий показателя в основной и контрольной группах после лечения

Таким образом, при использовании «генотерапии» в качестве самостоятельного метода лечения наиболее клинически значимые положительные результаты были получены у пациентов с ХИНК IIБ ст., тогда как при ишемии III ст., несмотря на получение отдельных статистически значимых положительных результатов, клинический результат лечения был более умеренным. Наиболее показательной с точки зрения оценки клинической эффективности является дистанция безболевого ходьбы. В нашем исследовании у пациентов с IIБ ст. применение методов стимуляции ангиогенеза привело к увеличению дистанции безболевого ходьбы в среднем до 300 м, что фактически позволяет этим пациентам осуществлять умеренные повседневные физические нагрузки без каких-либо ограничений. В то же время у пациентов с ХИНК III ст., несмотря на более чем стопроцентный прирост данного показателя по сравнению с исходным, абсолютные значения средней дистанции безболевого ходьбы после лечения составляли около 100 метров. О слабой эффективности изолированного применения метода генотерапевтического ангиогенеза при консервативном лечении у пациентов с ХИНК III ст. свидетельствуют и показатели времени восстановления исходных параметров кровотока при тредмил-тесте. Таким образом, полученные нами результаты позволяют заключить, что в качестве изолированного метода лечения «генотерапия» эффективна при наличии достаточного функционального резерва микроциркуляции, т.е. в основном лишь при средних степенях ишемии конечностей.

Более интересным и целесообразным подходом, на наш взгляд, является комплексное лечение: сочетание реконструктивных сосудистых операций с генно-инженерными технологиями стимуляции ангиогенеза. При этом хирургический этап направлен на восстановление магистрального, а методы генотерапии – на развитие коллатерального кровотока, микроциркуляции, снижение общего периферического сопротивления сосудов и увеличение перфузии дистальных отделов конечности.

Непосредственные и ближайшие результаты хирургического лечения в основной и контрольной группах по оцениваемым клиническим параметрам статистически значимо не различались. Это вполне закономерно, так как для развития микроциркуляторного русла под воздействием индукторов ангиогенеза необходимо определенное время.

Отдаленные результаты комплексного хирургического и генно-терапевтического лечения представлены на рис. 2. Сохранность конечностей в основной и контрольной группах составила 84,3% и 87,9% соответственно ($p = 0,968$). По приросту показателя лодыжечно-плечевого индекса после операции статистически значимых различий между пациентами основной и контрольной групп получено не было: магистральный тип кровотока был восстановлен у всех пациентов. В то же время при использовании всех векторных конструкций были получены статистически значимо лучшие (по сравнению с контрольной группой) показатели прироста дистанции безболевого ходьбы, мышечной перфузии, уменьшения времени восстановления исходных показателей кровотока и улучшения качества жизни. Стойкость максимально достигнутого клинического эффекта для разных векторных конструкций была также различной. Количество пациентов, у которых максимально достиг-

нутый клинический эффект операции сохранялся более 12 мес. составил: при использовании CELO-ANG – 77%, Ad5-ANG – 82%, Ad5-(ANG+VEGF) – 93%, в контрольной группе – 76%. Таким образом, наиболее длительным максимально достигнутый клинический эффект был в группе, где использовалась комбинированная аденовирусная конструкция Ad5-(ANG+VEGF).

Основные нежелательные реакции, связанные с введением генных конструкций, представлены в таблице. Следует отметить, что введение всех векторных конструкций приводило к развитию системной воспалительной реакции в той или иной степени, однако в случае использования аденовирусных векторов ее выраженность была минимальной. Наиболее выра-

женной реакция была при введении векторных конструкций на основе вируса CELO. Как уже указывалось выше, стойкость максимального достигнутого клинического эффекта при использовании вируса CELO была меньшей по сравнению с Ad5. Наконец, развитие воспалительной реакции при использовании векторов CELO показано нами и в морфологических исследованиях экспериментальной серии. На основании полученных результатов можно предположить, что ангиогенный эффект (в особенности при использовании вирусных векторных конструкций) на начальных этапах может быть обусловлен не только прямым действием синтезируемых ростовых факторов, но также и развивающейся иммуновоспалительной реакцией.

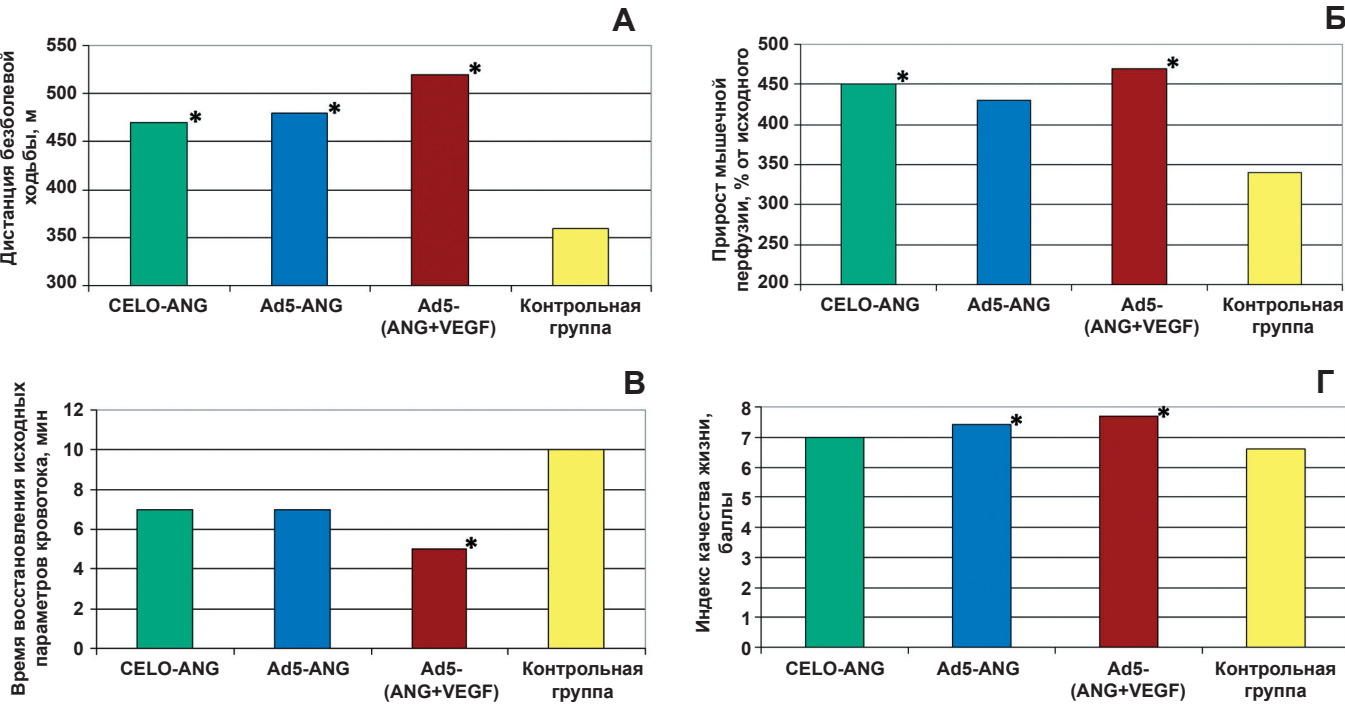


Рис. 2. Отдаленные результаты комплексного лечения с использованием генетических конструкций в сочетании с реконструктивными сосудистыми операциями: А – дистанция безболевого ходьбы; Б – прирост мышечной перфузии (по данным сцинтиграфии); В – время восстановления исходных параметров кровотока при тредмил-тесте; Г – индекс качества жизни; * – различия с показателем в контрольной группе статистически значимы

Основные нежелательные реакции после введения генетических конструкций

Нежелательная реакция	Нативные плазмиды с ANG и VEGF (n = 27)	Векторные вирусные конструкции		
		CELO-ANG (n = 18)	Ad5-ANG (n = 15)	Ad5-(ANG+VEGF) (n = 14)
Случаи гиперергических реакций	–	1	–	1*
Максимальная температура тела после введения конструкции, °C	37,4	39,4	38,0	37,7
Максимальная длительность температурной реакции, сут.	3	6	3	4
Выраженность болевых ощущений в конечности	+	++	+	+
Выраженность отека конечности	+	++	+	++
Выраженность системной воспалительной реакции	+	+++	++	++

Выводы

Генно-инженерные стимуляторы ангиогенеза могут быть эффективно использованы в комплексном лечении пациентов с ХИНК.

Предложенные методы лечения демонстрируют приемлемую переносимость и безопасность.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бокерия Л.А., Демидова О.А., Аракелян В.С. и др. Опыт лечения хронической ишемии нижних конечностей с помощью генного препарата сосудисто-эндотелиального фактора роста VEGF165 — ангиостимулина. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания» 2006; 7(1): 74–81.
2. Бочков Н.П., Константинов Б.А., Гавриленко А.В. и др. Генно-инженерные технологии в лечении хронической ишемии нижних конечностей. Вестник РАМН 2006; 9–10: 6–11.
3. Константинов Б.А., Бочков Н.П., Гавриленко А.В. и др. Экспериментальные и клинические результаты использования генно-инженерных конструкций с геном ангиогенина в лечении хрониче-

Генные индукторы ангиогенеза могут быть использованы как в качестве самостоятельного метода лечения, так и в сочетании с реконструктивными сосудистыми операциями для улучшения отдаленных результатов последних.

ской ишемии нижних конечностей. Медицинская генетика 2005; 4(7): 327–31.

4. Lederman R.J., Mendelsohn F.O., Anderson R.D. et al. Therapeutic angiogenesis with recombinant fibroblast growth factor-2 for intermittent claudication (TRAFFIC study). Lancet 2002; 359:2053–8.

5. Makinen 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. Mol. Ther. 2002; 6: 127–33.

6. Rajagopalan S., Mohler E.R., Lederman R.J. et al. Regional angiogenesis with vascular endothelial growth factor in peripheral arterial disease. Circulation 2003; 108: 1933–8.

Поступила 05.05.2011