

Власенко Ольга Николаевна

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ
НЕОПЕРАБЕЛЬНЫХ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ
ИШЕМИЕЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ**

14.01.17 – Хирургия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Ярославль – 2016

Работа выполнена в государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Научный руководитель:

Червяков Юрий Валентинович, доктор медицинских наук, доцент, ГБОУ ВПО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, профессор кафедры хирургии института последипломного образования.

Официальные оппоненты:

Мухин Алексей Станиславович, доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Нижегородская государственная медицинская академия» Минздрава России, заведующий кафедрой хирургии;

Бурлева Елена Павловна доктор медицинских наук, ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, профессор кафедры общей хирургии.

Ведущая организация

ГБОУ ВПО «Тверской государственный медицинский университет» Минздрава России.

Защита диссертации состоится « » _____ 2016 г. в _____ на заседании объединенного совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук Д 999.052.02 на базе ФГБУ «Национальный медико-хирургический Центр им. Н.И. Пирогова» Минздрава России и ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский институт им. М.Ф. Владимирского» (105203, Москва, ул. Нижняя Первомайская, д.70).

С диссертацией можно ознакомиться в медицинской библиотеке Института усовершенствования врачей ФГБУ «Национальный медико-хирургический Центр им. Н.И. Пирогова» Минздрава России (105203, Москва, ул. Нижняя Первомайская, д.70) и на сайте: <http://www.pirogov-center.ru>.

Автореферат разослан « » _____ 2016 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук,
профессор

С.А. Матвеев

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Перемежающейся хромотой страдает около 5% населения земного шара. В 85-90% случаев причиной является атеросклероз артерий нижних конечностей. В популяции лиц в возрасте старше 70 лет данная патология встречается от 15 до 20%. В пересчете на население Российской Федерации их число составляет около 2 млн человек. Из них нуждается в специализированном лечении, в том числе и хирургическом, не менее 1 млн больных (Гавриленко А.В., 2008).

В настоящее время главным способом восстановления адекватного кровоснабжения конечностей, способом сохранения их функции, продления жизни и улучшения ее качества у пациентов является хирургическое лечение. Но возможности дальнейшего улучшения результатов существующих стандартных реконструктивных операций в бедренно-берцовой зоне практически исчерпаны. Первичная проходимость аллопротезов через 5 лет составляет 49%, аутовенозных шунтов – 69% (Затевахин И.И. с соавт., 2011). Современные эндоваскулярные методы лечения окклюзий в бедренно-берцовом артериальном сегменте позволяют увеличить шансы больных на спасение конечности, но первичная проходимость артерий после эндоваскулярных процедур через 5 лет составляет всего 44%. (Затевахин И.И. с соавт., 2011). Приблизительно у 15-20% пациентов, нуждающихся в оперативном лечении, артериальные реконструкции не выполнимы вследствие дистального, либо распространенного мультифокального поражения артериального русла (Зудин А.М., 2013).

Кроме того, согласно данным А.В. Покровского и В.Н. Гонтаренко (2015), общее число оперативных вмешательств, выполняемое в специализированных отделениях, не превышает 20 тысяч в год, что недостаточно для спасения значительно большего числа больных с субкритической и критической ишемией нижних конечностей (КИНК).

Генная и клеточная терапия для лечения больных с хронической ишемией нижних конечностей (ХИНК) применяется в России с начала 2000-х годов (Шевченко Ю.Л., 2005). В 2008 году в ОАО «Институт стволовых клеток человека», г. Москва, был разработан препарат на основе плазмиды с геном VEGF165, который содержит ген фактора роста эндотелия сосудов. Фазы экспериментальных и клинических исследований проходили с 2008 по 2010 г. В 2011 году препарат под торговым наименованием Неоваскулген® внесен в Государственный реестр лекарственных средств Российской Федерации.

К настоящему времени разными авторами накоплен определенный клинический материал, показывающий эффективность генной терапии при хронической ишемии нижних конечностей II-III степени атеросклеротического генеза в сроки наблюдения от года до трех лет (Гавриленко А.В., 2011; Деев Р.В., 2014; Талицкий К.А., 2011; Червяков Ю.В.,

2012, 2015). Но в специальной литературе отсутствуют данные о результатах генного лечения ХИНК в более отдаленные сроки; нет сравнения эффективности стандартной сосудистой терапии и её сочетания с генной терапией у этой группы больных; не проводилась оценка изменения качества жизни пациентов после проведения геннотерапевтического лечения.

Цель исследования: сравнить результаты стандартной консервативной терапии и комплексного лечения в сочетании с генной терапией препаратом на основе плазмиды с геном VEGF165 у неоперабельных больных с хронической ишемией нижних конечностей II-III степени по классификации А.В. Покровского-Фонтейна на протяжении пяти лет.

Задачи исследования:

1. Оценить результаты стандартной консервативной терапии пациентов с хронической ишемией нижних конечностей II и III степени в пятилетние сроки наблюдения.

2. Определить эффективность комплексного консервативного лечения с использованием препарата стимулятора неоангиогенеза на основе гена VEGF165 у неоперабельных пациентов с хронической ишемией нижних конечностей II-III степени на протяжении пяти лет.

3. Сравнить эффективность консервативной терапии и комплексного лечения с применением генной терапии у пациентов с хронической ишемией нижних конечностей II-III степени в исследуемый временной период.

4. Провести сравнение влияния геннотерапевтического лечения хронической ишемией нижних конечностей и стандартной консервативной терапии на качество жизни пациентов в отдаленном периоде.

Научная новизна:

1. Впервые на самом большом в Российской Федерации клиническом материале изучены отдаленные результаты геннотерапевтического лечения препаратом на основе гена VEGF165 у больных с хронической ишемией нижних конечностей II и III степени в сроки до пяти лет.

2. Впервые проведено длительное пятилетнее наблюдение за пациентами и сравнение эффективности консервативного лечения и его сочетания с генной терапией.

3. Впервые определено влияние геннотерапевтического лечения на качество жизни больных с хронической ишемией нижних конечностей в отдаленном периоде.

Научно-практическая значимость работы:

1. Оценка эффективности применения препарата на основе плазмиды с геном VEGF165 в комплексном лечении больных с ХИНК II и III степени в отдаленном периоде позволяет рекомендовать данный метод лечения для

широкого применения в общехирургических и специализированных сосудистых стационарах, особенно в группе «неоперабельных» больных.

2. Высокая эффективность одного курса генной терапии больных с ХИНК II и III степени сохраняется в сроки не менее пяти лет.

3. Генное лечение позволяет улучшить качество жизни больных с ХИНК за счет значительного увеличения дистанции безболевого ходьбы.

4. При проведении лечения больных с ХИНК, в том числе и при сочетании с генной терапией, обязательна диспансеризация больных, постоянный мониторинг состояния здоровья, что позволяет снизить количество сердечно-сосудистых осложнений у больных с периферическим атеросклерозом.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Использование генной индукции неоангиогенеза препаратом на основе плазмиды с геном VEGF165 в комплексной терапии является эффективным способом лечения и предупреждения прогрессирования ХИНК у неоперабельных пациентов.

2. У пациентов с ХИНК II и III степени в состав комплексной терапии целесообразно включать индукцию процесса неоангиогенеза в поражённых конечностях, что позволяет добиться высоких результатов лечения, сохраняющихся в сроки не менее пяти лет.

3. Применение генной терапии наиболее целесообразно по принципу превентивного лечения на стадии перемежающейся хромоты, не дожидаясь появления трофических изменений.

Внедрение результатов работы

Основные положения диссертации внедрены в практику работы ГБУЗ ЯО «Областная клиническая больница», ГБУЗ ЯО «ЯОКГВВ - МЦ «Здоровое долголетие» (Госпиталь ветеранов войн), ООО «Медицинский центр диагностики и профилактики» г. Ярославль. Результаты исследований используются для чтения лекций и проведения занятий с курсантами кафедры хирургии ИПДО ГБОУ ВПО «Ярославского государственного медицинского университета».

Апробация работы

Основные результаты работы доложены на заседании Тверского и Ярославского региональных отделений Российского общества хирургов (г. Тверь, 2014; г. Ярославль, 2014); на XIX Ежегодной сессии НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН с Всероссийской конференцией молодых ученых (г. Москва, 2015); на XXX и XXXI Международных конференциях Российского общества ангиологов и сосудистых хирургов (г. Сочи, 2015; г. Москва, 2015); на XII съезде хирургов России (г. Ростов-на-Дону, 2015); на I съезде хирургов Приволжского федерального округа (г. Нижний Новгород, 2016).

Публикации

Основные положения диссертации отражены в 16 работах в центральной печати, из них 5 статей в журналах, рекомендованных ВАК для публикации материалов диссертационных работ.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 157 страницах и состоит из следующих разделов: список сокращений, введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, клинической части с изложением и оценкой результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, приложения, списка использованной литературы, включающего 93 отечественных и 34 зарубежных источника. Материал иллюстрирован 61 рисунком и 13 таблицами.

Работа выполнена на базе кафедры хирургии института последипломного образования ГБОУ ВПО «Ярославский государственный медицинский университет» МЗ РФ (зав. кафедрой д.м.н. доцент И.Н. Староверов, ректор ЯГМУ д.м.н. профессор А.В. Павлов); на базе отделения сосудистой хирургии ГБУЗ ЯО «Областная клиническая больница» (зав. отделением д.м.н. доцент И.Н. Староверов, главный врач к.м.н. О.П. Белокопытов); хирургического отделения ГБУЗ ЯО «ЯОКГВВ – МЦ «Здоровое долголетие» (зав. отделением к.м.н. Н.И. Власенко, главный врач В.Г. Герасимов); ООО «Медицинский центр диагностики и профилактики» г. Ярославль (директор центра к.м.н. Т.В. Крюкова).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Методология и методы исследования

С 2009 по 2015 годы в ходе научного исследования проводилось лечение и наблюдение за 160 пациентами с ХИНК II-III степени по классификации А.В. Покровского-Фонтейна с оценкой результатов двух способов терапии в сроки до 5 лет наблюдения. Исследуемые набирались проспективно и ретроспективно в трех лечебных учреждениях: 45 человек в отделении сосудистой хирургии ГБУЗ ЯО ОКБ, 80 больных в хирургическом отделении ГБУЗ ЯО «ЯОКГВВ – МЦ «Здоровое долголетие» и 35 пациентов в ООО «Медицинский центр диагностики и профилактики» (г. Ярославль). Мужчин в исследовании было 116 человек (72,5%), женщин – 44 человека (27,5%), соотношение их составило 5:2. Средний возраст $65,6 \pm 7,8$ лет.

Все пациенты получали стандартную консервативную терапию согласно «Национальным рекомендациям по лечению пациентов с заболеваниями артерий нижних конечностей» (2010), а также препараты, рекомендованные

для лечения сопутствующей патологии в индивидуально подобранных терапевтических дозах.

Пациенты были разделены на 2 группы, согласно проводимому лечению. В первой группе применяли только стандартную консервативную терапию, во второй группе, кроме стандартного лечения, производилось введение геннотерапевтической конструкции в мышцы ишемизированной конечности. Препарат, стимулятор неоангиогенеза на основе плазмиды с геном VEGF165 представляет собой высокоочищенную сверхскрученную форму плазмиды рСМV-VEGF165, кодирующей эндотелиальный фактор роста сосудов (VEGF) под контролем промотора (управляющего участка ДНК). При проникновении молекул этой плазмиды внутрь клеток млекопитающих происходит выработка VEGF, стимулирующего клетки эндотелия, что приводит к росту кровеносных сосудов (васкуляризации) в области введения. Введение 1,2 мг препарата производилось дважды, с интервалом в 14 дней в ишемизированные мышцы голени в проекции задней и передней большеберцовой артерии.

Для объективного сравнения результатов лечения, пациенты в обеих группах были разделены на подгруппы согласно исходной степени ХИНК. Первая группа: **1А** подгруппа с II А степенью ХИНК – 10 человек (12,5%); **2А** с II Б степенью ХИНК – 36 пациентов (45%), что в сумме составило 46 наблюдений (57,5%) со II степенью хронической ишемии; **3А** подгруппа с III степенью ХИНК – 34 пациента (42,5%). Аналогично на подгруппы были разделены пациенты второй группы: **1В** подгруппа с II А степенью – 9 человек (11,3%); **2В** с II Б степенью ХИНК – 37 (46,3%), что вместе составило 46 пациентов (57,5%); **3В** подгруппа – 34 больных с III степенью ХИНК (42,5%). По большинству сравниваемых параметров между группами не выявлено значимых различий (таблица 1).

Для оценки результатов лечения были определены критерии его эффективности:

- **значительное улучшение** – уменьшение степени ишемии по классификации А.В. Покровского-Фонтейна;
- **умеренное улучшение** – сохранение прежней степени ишемии, с увеличением ДБХ от 50 до 100% от исходных значений;
- **удовлетворительный результат** – стабилизация ХИНК без значимого увеличения ДБХ при II Б степени, либо рецидивы КИНК при III степени ишемии без ампутации конечности;
- **умеренное ухудшение** – увеличение степени ишемии;
- **значительное ухудшение** – переход ХИНК в КИНК;
- **неудовлетворительный результат** – ампутация конечности, по которой проводилось исследование; смерть от любой причины.

Таблица 1 – Сводная таблица по всем сравниваемым критериям между первой и второй группами

Критерий сравнения	Группа со стандартной терапией (n=80)	Группа с генной терапией (n=80)
Средний возраст	66,6±5,7 лет	64,6±9,4 лет
Пол:		
Мужчины (n=116)	52	64
Женщины (n=44)	28	16
Степень ишемии:		
ПА (n=19)	10	9
ПВ (n=73)	36	37
III (n=68)	34	34
Ампутации контралатеральной конечности в анамнезе	10	8
Гипертоническая болезнь	70	63
ИБС	38	32
Сахарный диабет, 2 тип	14	12
ОИМ	12	10
ОНМК	8	9
Заболевания легких	13	15

Всем пациентам перед включением в исследование, и затем ежегодно при каждом посещении, проводилось обследование общего состояния здоровья: анализ крови клинический; анализ крови биохимический; общий анализ мочи; ЭКГ; УЗИ органов брюшной полости; ФЛГ. Для оценки состояния дистального артериального русла выполнялась ультразвуковая доплерография (УЗДГ) с измерением макрогемодинамических показателей тока крови: линейной скорости кровотока (ЛСК), лодыжечно-плечевого индекса (ЛПИ); ультразвуковое дуплексное ангиосканирование артерий нижних конечностей для уточнения локализации окклюзионного процесса (УЗДС); измерение дистанции, проходимой пациентами без боли в ногах с помощью тредмил-теста (движение беговой дорожки со скоростью 3,2 км/час под углом 0 градусов). У пациентов с ампутированной в анамнезе контралатеральной конечностью измерение ДБХ производилось при помощи дозированной ходьбы под контролем врача со средней скоростью передвижения 3-3,2 км/час до появления боли в исследуемой конечности. Также, при каждом посещении, все пациенты заполняли стандартный русифицированный опросник SF 36 для объективной оценки физического здоровья (Physical health – PH) и психоэмоционального состояния больного

(Mental health – МН). Подсчет результатов проводился с помощью специальной программы-приложения «Test SF-36 by JR», ver. 1.2, содержащей в себе формулу подсчета баллов для оценки по всем шкалам качества жизни (КЖ).

Для проведения статистического анализа и моделирования использовались пакеты программ Statistica, версия 10.0 и MS Office (2010). Применялись методы описательной статистики: среднее (М), стандартное отклонение (SD), медиана (Me), 25 и 75 процентиля. Для сравнения связанных групп по количественным признакам применялся метод сравнения парных случаев Вилкоксона (Wilcoxon); независимых групп по количественным признакам – U-критерий Манна-Уитни; уровень статистической значимости результата (p-уровень достоверности, принятый меньше или равным 0,05). Анализ выживаемости и сохранности конечности проводился с помощью метода Каплана-Майера.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты использования стандартной консервативной терапии у больных с ХИНК в сроки до пяти лет

Статистическая достоверность изменения основных показателей кровотока в **1А подгруппе** не оценивалась в виду малой выборки. Но отмечена тенденция к постепенному снижению всех оцениваемых параметров (уменьшение ДБХ с 325 ± 49 (медиана 300 м (интерквартильный размах от 300 до 350 м)) до 269 ± 88 м (медиана 250 м (интерквартильный размах от 200 до 300 м)); ЛПИ с $0,69 \pm 0,1$ (медиана 0,735 (интерквартильный размах от 0,67 до 0,75)) до $0,67 \pm 0,08$ (медиана 0,65 (интерквартильный размах от 0,6 до 0,75)); ЛСК с $25,4 \pm 3,9$ (медиана 25 м/с (интерквартильный размах от 23 до 29 м/с)) до $24,6 \pm 3,4$ м/с (медиана 24 м/с (интерквартильный размах от 22,5 до 27 м/с))).

Динамика основных показателей кровотока у пациентов в **2А подгруппе** представлена в таблице 2.

Таблица 2 – Динамика изменений ДБХ, ЛПИ и ЛСК в подгруппе 2А в зависимости от сроков наблюдения (медиана и интерквартильный размах)

	Исх.	1 год	2 года	3 года	4 года	5 лет
ДБХ, м	100 (от 100 до 200)	100 (от 80 до 200)	100 (от 80 до 150)	100 (от 70 до 100)*	80 (от 50 до 100)*	80 (от 50 до 100)*
ЛПИ	0,56 (от 0,48 до 0,63)	0,54 (от 0,48 до 0,63)	0,52 (от 0,43 до 0,63)	0,5 (от 0,42 до 0,6)*	0,5 (от 0,4 до 0,57)*	0,5 (от 0,4 до 0,5)*
ЛСК, м/с	22 (от 19 до 24)	23 (от 18 до 24)	22 (от 16 до 23)*	21 (от 17 до 23)*	20 (от 17 до 22)*	18 (от 15 до 20)*

*достоверно при $p \leq 0,05$ по сравнению с исходными данными (Wilcoxon).

Динамика основных показателей кровотока у пациентов в **3А подгруппе** представлена в таблице 3.

Таблица 3 – Динамика изменений ДБХ, ЛПИ и ЛСК в подгруппе 3А в зависимости от сроков наблюдения (медиана и интерквартильный размах)

	Исх.	1 год	2 года	3 года	4 года	5 лет
ДБХ, м	25 (от 20 до 30)	30 (от 20 до 40)*	30 (от 30 до 40)	40 (от 30 до 50)*	40 (от 30 до 50)	40 (от 30 до 40)*
ЛПИ	0,31 (от 0,29 до 0,63)	0,3 (от 0,3 до 0,34)	0,3 (от 0,3 до 0,34)	0,3 (от 0,3 до 0,32)	0,3 (от 0,3 до 0,32)	0,3 (от 0,3 до 0,33)
ЛСК, м/с	12,5 (от 10 до 16)	13 (от 10 до 17)	13 (от 10 до 17)	14,5 (от 10,5 до 19)	14,5 (от 11 до 17)	12 (от 10 до 13)

*достоверно при $p \leq 0,05$ по сравнению с исходными данными (Wilcoxon).

Эффективность лечения через 5 лет в зависимости от исходной степени ХИНК в 1 группе представлена на рисунке 1. Общая выживаемость в группе с консервативным лечением составила 80% (рисунок 2). Причиной смерти у 12 пациентов стала сердечная патология (у 9 ОИМ, и 3 летальных исхода, связанных с осложнениями ХСН), в 1 случае ОНМК; 2 пациента скончались от рака толстого кишечника и 1 от осложнений после ранее выполненной ампутации. Сохранность конечностей во всей группе составила 91% (рисунок 3).

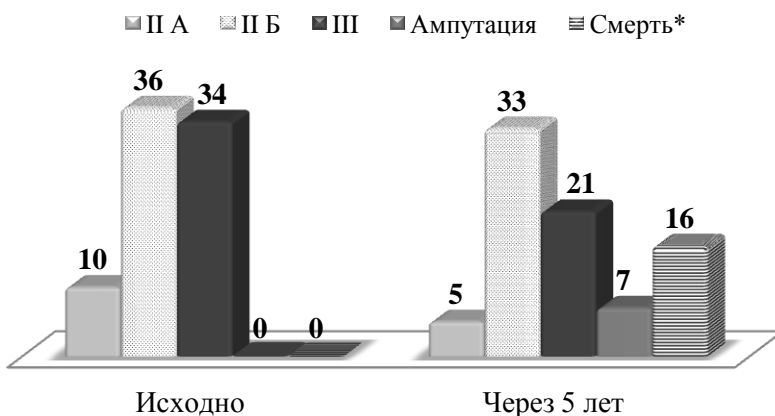


Рисунок 1 – Результаты лечения при стандартной терапии по степени ишемии за 5 лет наблюдения

*на 5-ом году наблюдения 2 пациента умерли после ранее выполненной ампутации исследуемой конечности.

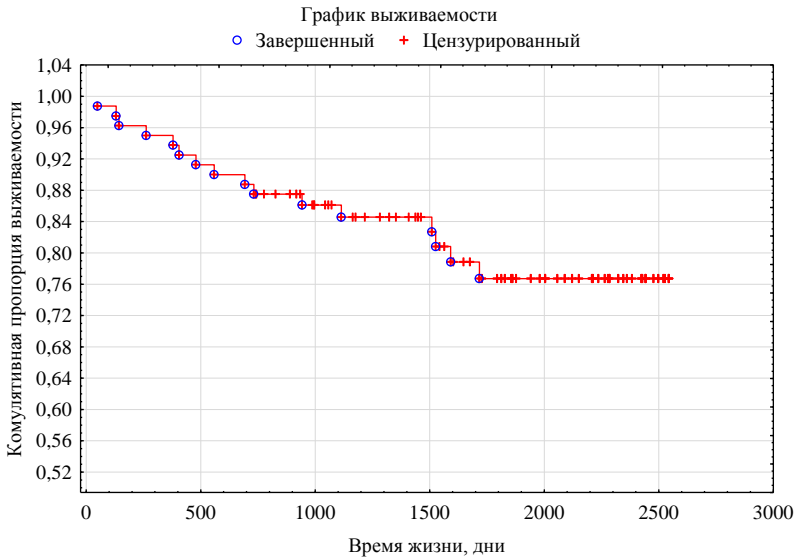


Рисунок 2 – Выживаемость пациентов группы консервативного лечения в зависимости от сроков наблюдения

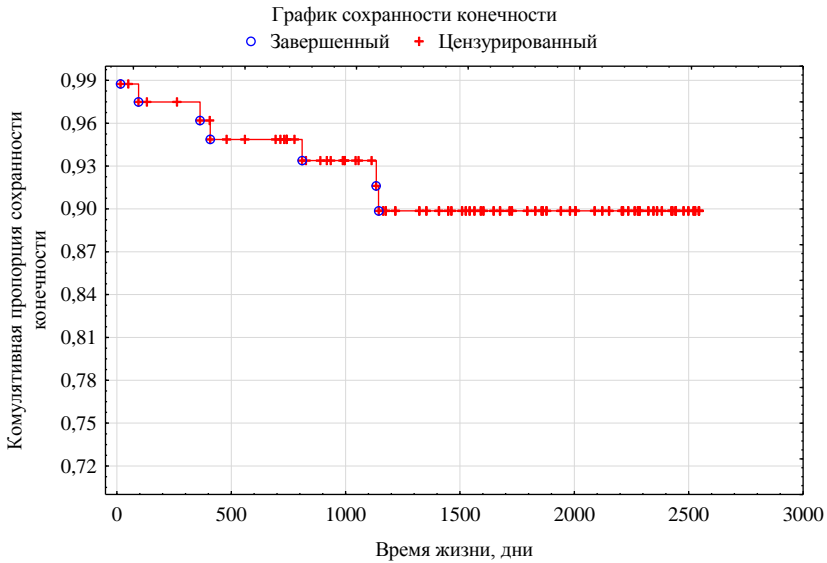


Рисунок 3 – Сохранность конечностей у пациентов группы консервативного лечения в зависимости от сроков наблюдения

Результаты комплексного лечения больных с использованием генной терапии в сроки наблюдения до пяти лет

При оценке динамики основных показателей кровотока у пациентов в 1В подгруппе отмечена тенденция к значительному увеличению исследуемых критериев: за 1-й год наблюдения прирост ДБХ составил в среднем 1000 м. В дальнейшем продолжилось небольшое увеличение этого показателя на протяжении последующих 4-х лет. В итоге за 5 лет отмечен рост ДБХ с 372 ± 132 м (медиана 300 м (интерквартильный размах от 250 до 500 м)) до 2000 ± 1414 м (медиана 2000 м (интерквартильный размах от 1000 до 3000 м)). Прирост ЛПИ составил 0,2 (с $0,63 \pm 0,17$ (медиана 0,57 (интерквартильный размах от 0,5 до 0,8)) до $0,83 \pm 0,04$ (медиана 0,83 (интерквартильный размах от 0,8 до 0,86))), ЛСК с $23,0 \pm 8,3$ м/с (медиана 21 м/с (интерквартильный размах от 19 до 30 м/с)) также осталась на уровне $23,0 \pm 1,4$ м/с (медиана 23 м/с (интерквартильный размах от 22 до 24 м/с)). Статистическая достоверность изменения данных не оценивалась в виду малой выборки в подгруппе.

Динамика основных показателей кровотока у пациентов **2В подгруппы** представлена в таблице 4.

Таблица 4 – Динамика изменений ДБХ, ЛПИ и ЛСК в подгруппе 2В в зависимости от сроков наблюдения (медиана и интерквартильный размах)

	Исх.	1 год	2 года	3 года	4 года	5 лет
ДБХ, м	100 (от 80 до 150)	250 (от 100 до 500)*	400 (от 200 до 600)*	500 (от 250 до 600)*	500 (от 200 до 600)*	500 (от 250 до 600)*
ЛПИ	0,5 (от 0,45 до 0,57)	0,5 (от 0,45 до 0,62)*	0,58 (от 0,46 до 0,65)*	0,57 (от 0,5 до 0,97)	0,57 (от 0,5 до 0,97)	0,6 (от 0,46 до 0,68)
ЛСК, м/с	16 (от 10 до 24)	19 (от 12 до 25,3)*	22 (от 11 до 29)	18 (от 11 до 34)*	18,5 (от 12 до 34)	18,5 (от 10 до 33)

*достоверно при $p \leq 0,05$ по сравнению с исходными данными (Wilcoxon).

Динамика основных показателей кровотока у пациентов в **3В подгруппе** представлена в таблице 5.

Осложнений либо ухудшений общего состояния после генного лечения не отмечено. Сохранность конечности в группе составила 94% (рисунок 4). Выживаемость 85% (рисунок 5). Одна смерть после ампутации, 3 пациента умерли от ОНМК (один после ранее выполненной ампутации). От кардиальной патологии скончались 6 человек (5 от ОИМ, 1 от ХСН). Отмечена летальность от онкологических заболеваний в 2-х наблюдениях (от рака правой почки и рака легких с метастазами в печень).

Таблица 5 – Динамика изменений ДБХ, ЛПИ и ЛСК в подгруппе 3В в зависимости от сроков наблюдения (медиана и интерквартильный размах)

	Исх.	1 год	2 года	3 года	4 года	5 лет
ДБХ, м	27,5 (от 20 до 50)	200 (от 60 до 300)*	250 (от 70 до 450)*	200 (от 100 до 300)*	175 (от 100 до 300)*	200 (от 100 до 350)*
ЛПИ	0,32 (от 0,2 до 0,38)	0,36 (от 0,22 до 0,5)	0,39 (от 0,28 до 0,5)*	0,33 (от 0,27 до 0,4)*	0,33 (от 0,25 до 0,5)*	0,31 (от 0,25 до 0,34)
ЛСК, м/с	10 (от 5 до 12)	11 (от 5 до 18)	12 (от 7 до 19)*	14,5 (от 4 до 23)*	11 (от 8 до 24)	12 (от 8 до 23)

*достоверно при $p \leq 0,05$ по сравнению с исходными данными (Wilcoxon).

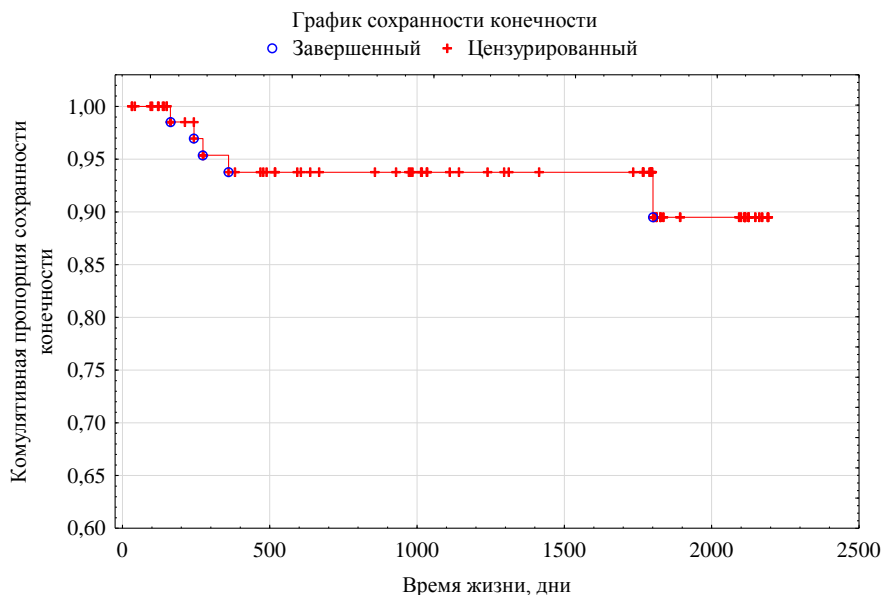


Рисунок 4 – График сохранности конечности у пациентов второй группы после проведения геннотерапевтического лечения

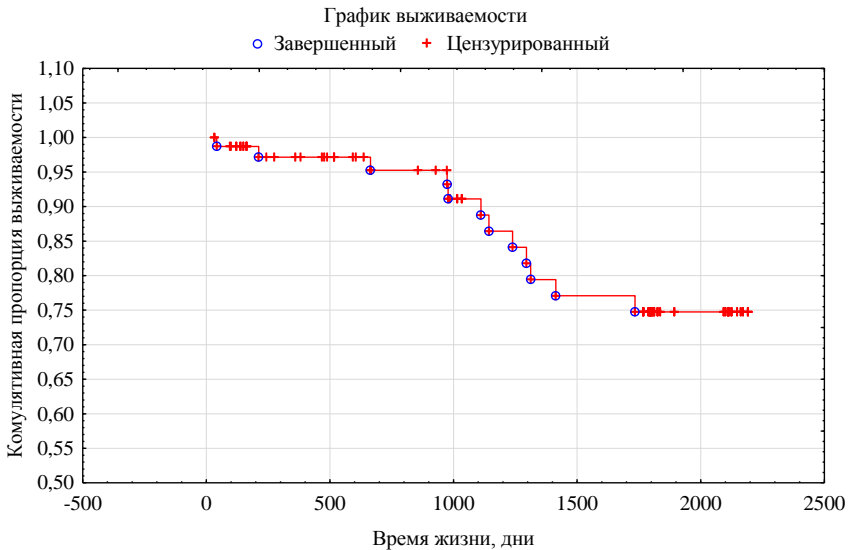


Рисунок 5 – График выживаемости пациентов второй группы после проведения геннотерапевтического лечения

Эффективность лечения в группе с генной терапией представлена графически на рисунке 6.

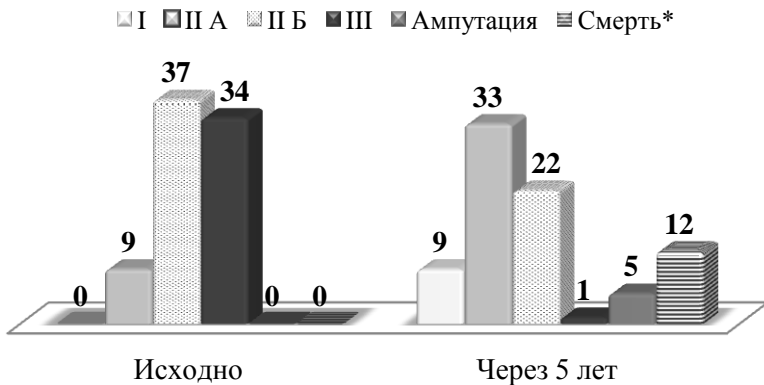


Рисунок 6 – Эффективность лечения в группе с генной терапией через 5 лет наблюдения

*на 5-ом году наблюдения 2 пациента умерли после ранее выполненной ампутации исследуемой конечности.

Динамика качества жизни больных со стандартной консервативной терапией и комплексным лечением в сроки до пяти лет наблюдения

В **первой группе** со стандартной терапией изменение КЖ оказалось незначимым на протяжении всего срока наблюдения, сохранившись практически на одном уровне. Исходно значение физического компонента (РН) составило $24,0 \pm 5,9$ баллов, за 1-й, 2-й и 3-й годы наблюдения показатель практически не претерпел изменения ($p=0,322$, $p=0,381$ и $p=0,171$). К 4-му году незначимо увеличился до $25,1 \pm 5,5$ баллов ($p=0,243$), к концу 5-го года составил $25,6 \pm 6,1$ баллов ($p=0,499$). Исходное значение психологического компонента (МН) равнялось $27,0 \pm 6,3$ баллов. Через 1 год показатель увеличился до $27,3 \pm 6,2$ баллов ($p=0,294$), на 2-ом году не менялся ($p=0,202$). На 3-м и 4-ом году был равен $27,0 \pm 5,7$ ($p=0,282$) и $27,8 \pm 5,7$ баллов ($p=0,741$), к концу наблюдения стал незначительно выше – $29,0 \pm 6,1$ баллов ($p=0,329$). Расчет производился при помощи критерия Wilcoxon.

При оценке КЖ у **второй группы** с применением генной терапии отмечен значительный рост как РН, так и МН уже за 1-й год наблюдения. В дальнейшем, в течение 4 лет они оставались стабильно высокими. При включении в исследование РН равнялось $25,6 \pm 5,8$ баллов, после курса генной терапии он увеличился сразу на 17,5 баллов, составив $43,1 \pm 8,7$ ($p=0,00000$), на 2-м году $49,6 \pm 9,6$ баллов ($p=0,00000$). На 3-ем году $51,7 \pm 9,6$ баллов ($p=0,00000$). Максимальное значение его отмечено к концу 5-го года – $53,2 \pm 9,2$ баллов ($p=0,00001$). Исходное значение МН составило $28,1 \pm 6,1$ баллов. За 1 год наблюдения он увеличился на 14 баллов до $43,3 \pm 9,5$ ($p=0,00000$). В последующие годы отмечена тенденция к плавному росту показателя. За 2-й год $47,9 \pm 10,3$ баллов ($p=0,00000$), в 3-й и 4-й годы значение оставалось на том же уровне, составив к концу исследования $55,1 \pm 9,7$ баллов ($p=0,00001$). Расчет производился при помощи критерия Wilcoxon.

Сравнение результатов стандартной терапии и комплексного лечения в сроки до пяти лет

У пациентов с исходной II Б степенью ХИНК отмечена следующая динамика по критериям эффективности лечения (рисунки 7, 8, 9).

При сравнении количественных признаков между подгруппами пациентов с II Б степенью ХИНК с помощью U-критерия Манна-Уитни, выявлено достоверное увеличение как основного критерия (ДБХ, $p=0,000004$), так и вторичного (ЛПИ, $p=0,0028$) у пациентов с применением генной терапии, по сравнению со стандартным лечением на протяжении всего срока наблюдения.

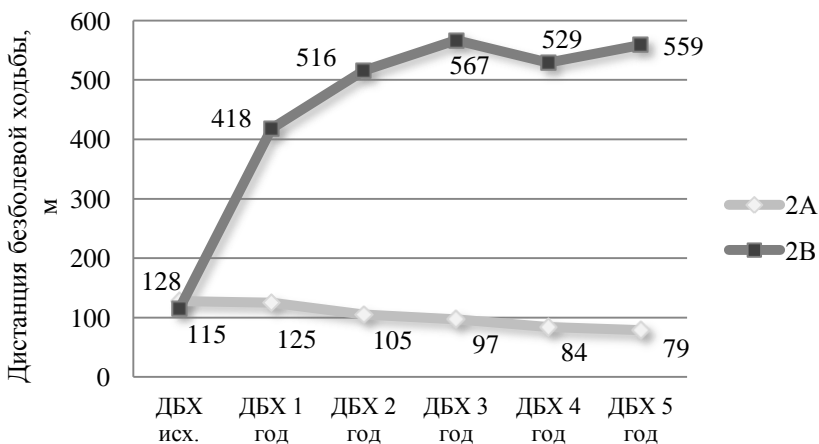


Рисунок 7 – Изменение ДБХ у пациентов с II Б степенью ХИНК в 1-ой и 2-ой группах в различные сроки наблюдения

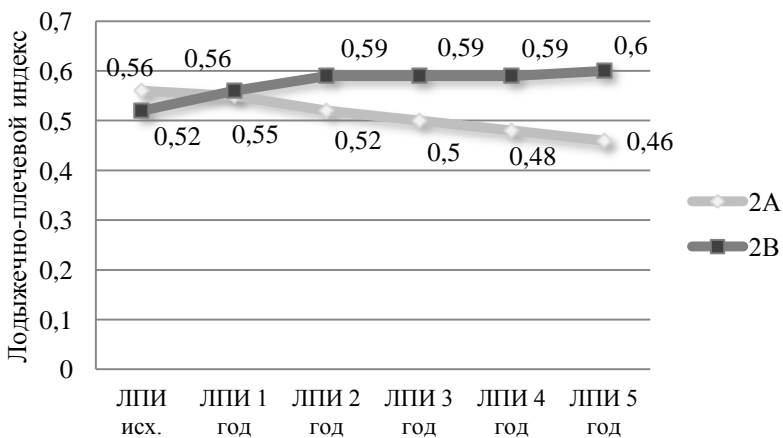


Рисунок 8 – Изменение ЛПИ у пациентов с II Б степенью ХИНК в 1-ой и 2-ой группах в различные сроки наблюдения

При сравнении значений ЛСК достоверного различия к концу срока наблюдения между подгруппами выявлено не было ($p=0,6$), хотя отмечена тенденция к росту показателя после генной терапии.

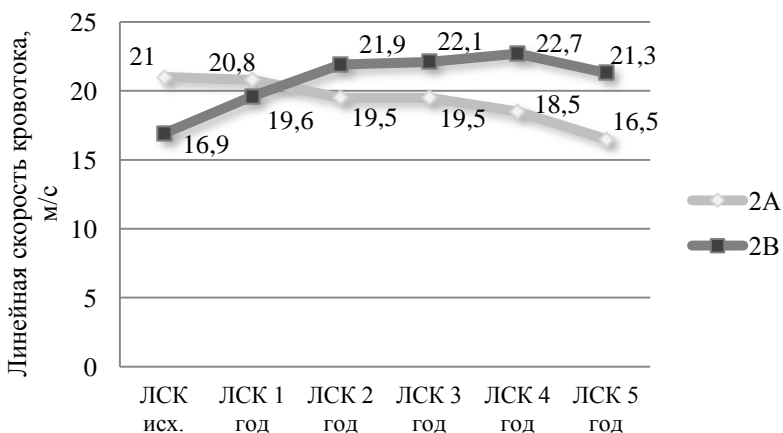


Рисунок 9 – Изменение ЛСК у пациентов с II Б степенью ХИНК в 1-ой и 2-ой группах в различные сроки наблюдения

В обеих подгруппах было выполнено одинаковое количество ампутаций. Сохранность конечности составила 97%. Выживаемость во 2А подгруппе составила 75% (9 смертей, одна после высокой ампутации конечности), во 2В 86,5% (5 летальных исходов). У больных с II Б степенью ХИНК использование препарата на основе плазмиды с геном VEGF165 в составе комплексного лечения значительно влияет на увеличение среднего значения ДБХ (до 500%) ($p=0,007$). У большей части больных (67%), отмечено значительное и умеренное улучшение, в то время как при стандартном лечении аналогичный результат получен только в 3% наблюдений.

При исходной III степени ХИНК получены следующие результаты (рисунки 10, 11, 12). При сравнении количественных признаков между подгруппами пациентов с III степенью ХИНК с помощью U-критерий Манна-Уитни, выявлено достоверное увеличение основного критерия – ДБХ ($p=0,00015$), у пациентов с применением генного лечения, по сравнению со стандартной консервативной терапией на протяжении всего периода наблюдения. При сравнении вторичных критериев (ЛСК, ЛПИ) достоверного различия между подгруппами выявлено не было ($p=0,916$ и $p=0,857$ соответственно).

Сохранность конечности в 3А подгруппе составила 82% (ампутации были выполнены у 6 человек), в 3В – 88% (4 ампутации к пятому году наблюдения). Выживаемость в обеих подгруппах равна 88% (по 4 летальных исхода).

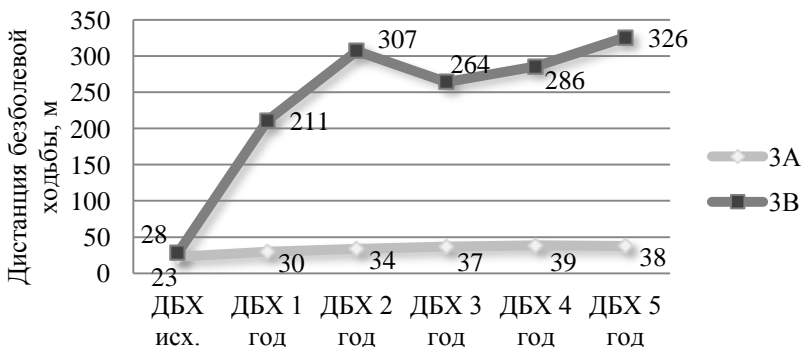


Рисунок 10 – Изменение ДБХ у пациентов с III степенью ХИНК в 1-ой и 2-ой группах в различные сроки наблюдения

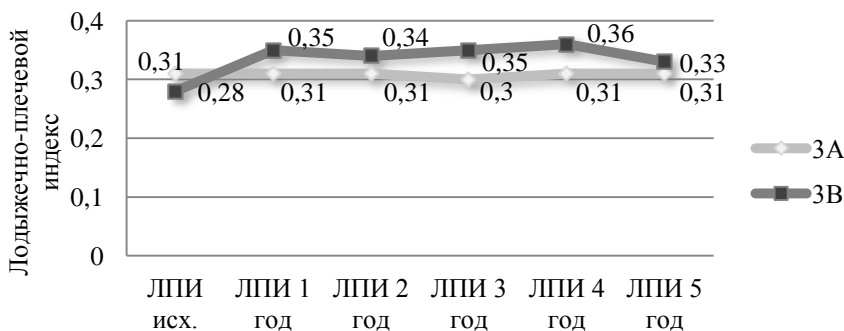


Рисунок 11 – Изменение ЛПИ у пациентов с III степенью ХИНК в 1-ой и 2-ой группах в различные сроки наблюдения

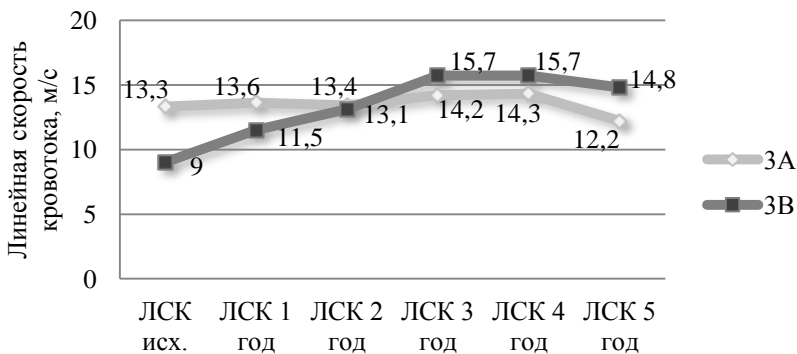


Рисунок 12 – Изменение ЛСК у пациентов с III степенью ХИНК в 1-ой и 2-ой группах в различные сроки наблюдения

При декомпенсации кровообращения в конечности (ХИНК III степени) включение в состав консервативного лечения генной терапии с высокой степенью достоверности влияет на увеличение дистанции безболевого ходьбы у большинства пациентов (до 1200%) ($p=0,001$).

Значительное и умеренное улучшение на протяжении 5 лет отмечено в 82% наблюдений, что значительно выше, чем при стандартном лечении (24%). Изменения ЛПИ и ЛСК также были статистически значимы в подгруппе с генной терапией. Значимых изменений ЛПИ и ЛСК в подгруппе со стандартной консервативной терапией не выявлено.

Таким образом, на основании проведенного исследования, показано достоверное влияние генной терапии на купирование клинических проявлений ХИНК, и, как следствие, значительное повышение как физического, так и психологического компонентов качества жизни.

Выводы

1. Стандартное консервативное лечение при хронической ишемии нижних конечностей II степени на протяжении пяти лет эффективно в 37% наблюдений (в 2% наблюдений степень ишемии уменьшилась до более легкой, в 35% осталась на исходном уровне). Оно позволяет сохранить конечность у 98% больных, но значимо не влияет на дистанцию безболевого ходьбы. У большей части выживших пациентов (57%) сохранилась исходная дистанция безболевого ходьбы.

2. При хронической ишемии нижних конечностей III степени консервативное лечение имеет низкую эффективность. В большинстве случаев (59%) наблюдаются рецидивы критической ишемии, для купирования которых пациентам необходимо проходить дополнительные курсы стационарного лечения. Уменьшение степени хронической ишемии нижних конечностей до более легкой (II Б) отмечено в 24% наблюдений. Сохранность конечности в сроки до пяти лет составила 82%. Изменения дистанции безболевого ходьбы были статистически малозначимы.

3. Комплексное лечение с использованием препарата на основе гена VEGF165 у пациентов с хронической ишемией нижних конечностей II степени в сроки до пяти лет эффективно в 78% случаев. У 54% пациентов степень хронической ишемии нижних конечностей уменьшилась до I, либо II А степени; у 11% осталась исходная степень ишемии но с увеличением дистанции безболевого ходьбы на 100% и более ($p=0,035$). Только у 13% больных не отмечено достоверного увеличения проходимого без боли в ногах расстояния с сохранением исходной степени ишемии нижней конечности. Сохранность конечностей составила 98%.

4. Генная терапия при III степени хронической ишемии нижних конечностей имеет высокую эффективность. Значительное и умеренное улучшение зарегистрировано у 82% пациентов. В 41% наблюдений степень хронической ишемии нижних конечностей уменьшилась до II Б степени, еще у

41% больных даже до II А степени ($p=0,018$) без рецидивов критической ишемии за весь период наблюдения. Сохранность конечности составила 88%.

5. Комплексное лечение с использованием препарата на основе гена VEGF165 у пациентов с хронической ишемией нижних конечностей как II, так и III степени значительно превосходит по эффективности стандартную консервативную терапию. Значимого влияния на сохранность конечности в сроки наблюдения до пяти лет не отмечено, хотя тенденция к лучшему результату имеется у генного лечения ($p=0,07$). Не зафиксировано различий по выживаемости больных в данный временной период между обоими способами лечения.

6. Определено высокое влияние геннотерапевтического метода лечения хронической ишемии нижних конечностей как II, так и III степени на качество жизни пациентов в отдаленном периоде до пяти лет в отличие от стандартной консервативной терапии. У 94% пациентов зафиксировано значительное достоверное увеличение показателей физического и психологического компонентов здоровья после консервативного лечения в сочетании с генной терапией (от $p=0,00098$ до $p=0,000000$).

Практические рекомендации

1. Генная терапия является малоинвазивной процедурой, не требует госпитализации, проводится амбулаторно.

2. В понятие «неоперабельный» больной необходимо включать не только пациентов с критической ишемией, которым показано оперативное лечение, но оно по различным причинам невыполнимо, но и больных в стадии перемежающейся хромоты, когда нет показаний для хирургического вмешательства, но страдает качество их жизни.

3. Наиболее целесообразно проводить генную стимуляцию ангиогенеза у больных с II степенью хронической ишемии нижних конечностей в качестве превентивного лечения, не дожидаясь значительного снижения качества жизни пациентов, развития критической ишемии.

4. Для достижения максимального эффекта от генной терапии рекомендуем дробное паравазальное введение препарата в ишемизированные мышцы голени по ходу задней и передней большеберцовых артерий.

5. После курса генного лечения необходимо рекомендовать пациентам тренировочную ходьбу от 2 до 5 км в день в зависимости от исходной степени хронической ишемии на протяжении 6 месяцев.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Новиков, Ю. В. Зависимость результатов комплексного лечения больных с ХОЗАНК препаратом на основе гена VEGF от интервала его введения [Текст] / Ю.В.Новиков, И.Н.Староверов, Ю.В.Червяков, Е.Г.Нерсесян, **О.Н.Власенко** // *Ангиология и сосудистая хирургия.* –2013. – Т.19, №3. – С.277-279.
2. Староверов, И. Н. Первый опыт генотерапевтического лечения больных с хронической ишемией нижних конечностей при сочетании периферического атеросклероза и диабетической ангиопатии [Текст] / И.Н.Староверов, Ю.В.Червяков, Е.Г.Нерсесян, О.М.Лончакова, **О.Н.Власенко** // *Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания».* – 2013. – Т.14, №6 (прил.). – С.248.
3. Червяков, Ю. В. Сравнительные результаты генотерапевтического лечения и приемов непрямой реваскуляризации у больных с ХОЗАНК в сроки до трех лет [Текст] /Ю. В.Червяков, И.Н.Староверов, **О.Н.Власенко**, Е.Г.Нерсесян, А.А.Исаев, Р.В.Деев // *Ангиология и сосудистая хирургия.*– 2014, - Т.20, №2 (прил.). – С.365-366.
4. Червяков, Ю. В. Возможности генной терапии в лечении хронических облитерирующих заболеваний артерий нижних конечностей [Текст] / Ю. В. Червяков, И. Н. Староверов, Е. Г. Нерсесян, **О. Н. Власенко**, А. А. Исаев, Р. В. Деев // *Хирургия им. Н.И. Пирогова.* – 2014. – №4. – С.40-45.
5. Червяков, Ю. В. Влияние генной терапии на качество жизни и измерение объективных показателей кровоснабжения нижних конечностей у пациентов с периферическим атеросклерозом [Текст] / Ю. В. Червяков, И. Н. Староверов, **О. Н. Власенко** // *Вестник экспериментальной и клинической хирургии.* – 2015, Т.8, №4. – С. 318-324.
6. **Власенко, О. Н.** Качество жизни у больных с ХИНК II после проведения генной терапии [Текст] / О. Н. Власенко // *Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания».* – Москва, 2015. – Т.16, №3. – С. 218.
7. **Власенко, О. Н.** Качество жизни у больных с ХКИНК III после проведения генной терапии [Текст] / О. Н. Власенко // *Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания».* – Москва, 2015. – Т.16, №3. – С. 218.
8. Червяков, Ю. В. Отдаленные результаты генотерапевтического лечения ХОЗАНК в сроки до четырех лет [Текст] / Ю. В. Червяков, И. Н. Староверов, Р. В. Деев, **О. Н. Власенко** // *Материалы XXX Международной конференции «Новые направления в лечении сосудистых больных».* – Сочи, 2015. – Т.21, №2. – С. 673-674.
9. Новиков, Ю. В. Эффективность химической десимпатизации поясничных ганглиев у пациентов с возвратной ишемией нижних конечностей [Текст] / Ю. В. Новиков, И. Н. Староверов, Ю. В. Червяков, О. М. Лончакова,

О. Н. Власенко // Материалы XXX Международной конференции «Новые направления в лечении сосудистых больных». – Сочи, 2015. – Т.21, №2. – С. 437.

10. Новиков, Ю. В. Сравнительная оценка прямых методов реваскуляризации при поражении бедренно-подколенного сегмента у пациентов с рестенозом [Текст] / Ю. В. Новиков, И. Н. Староверов, Ю. В. Червяков, О. М. Лончакова, **О. Н. Власенко** // Материалы XXX Международной конференции «Новые направления в лечении сосудистых больных». – Сочи, 2015. – Т.21, №2. – С. 438-440.

11. Червяков, Ю. В. Влияние генотерапевтического лечения на качество жизни пациентов с хронической ишемией нижних конечностей [Текст] / Ю. В. Червяков, И. Н. Староверов, **О. Н. Власенко** // Успенские чтения: Материалы научно-практической конференции врачей России с международным участием, посвященной 60-летию кафедры общей хирургии Тверского государственного медицинского университета. – Тверь, 2015. – Выпуск 8. – С. 165-166.

12. Червяков, Ю. В. Эффективность генной терапии при хронической ишемии нижних конечностей в сроки до четырех лет [Текст] / Ю. В. Червяков, И. Н. Староверов, Р. В. Деев, **О. Н. Власенко** // Материалы XII Съезда хирургов России «Альманах института хирургии им. А.В. Вишневского» – Ростов-на-Дону, 2015. – С. 2.

13. Червяков, Ю. В. Отдаленные результаты до 3 лет использования непрямых способов реваскуляризации у больных с хронической ишемией нижних конечностей [Текст] / Ю. В. Червяков, И. Н. Староверов, А. В. Борисов, **О. Н. Власенко**, Е. Г. Нерсеян, С. Н. Лавлинский // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 2015. – Т.174, №2. – С. 84-88.

14. **Власенко, О. Н.** Мониторинг качества жизни пациентов с хронической ишемией нижних конечностей после генотерапевтического лечения [Текст] / О. Н. Власенко // Врач-аспирант. – 2015, №.4.1(71). – С. 199-203.

15. Червяков, Ю. В. Отдаленные результаты лечения больных с хронической ишемией нижних конечностей методами непрямого реваскуляризации и генной терапии [Текст] / Ю. В. Червяков, И. Н. Староверов, **О. Н. Власенко**, А. А. Исаев, Р. В. Деев // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2016. – Т.22, №1.- С. 29-37.

16. Червяков, Ю. В. Влияние генной терапии на качество жизни у пациентов с периферическим атеросклерозом нижних конечностей [Текст] / Ю. В. Червяков, И. Н. Староверов, **О. Н. Власенко** // Материалы I съезда хирургов Приволжского федерального округа. – Нижний Новгород, 2016. – С.16-17.

Список сокращений

VEGF (vascular endothelial growth factor) – фактора роста эндотелия сосудов

МН (mental health) – физический компонент здоровья

РН (physical health) – психологический компонент здоровья

ДБХ – дистанция безболевого ходьбы

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИБС – ишемическая болезнь сердца

КЖ – качество жизни

КИНК – критическая ишемия нижних конечностей

ЛПИ – лодыжечно-плечевой индекс

ЛСК – линейная скорость кровотока

млн - миллион

ТсрО₂ – транскутанное напряжение кислорода в тканях

УЗДГ – ультразвуковая доплерография

УЗДС – ультразвуковое дуплексное ангиосканирование

УЗИ – ультразвуковое исследование

ФЛГ – флюорография

ХИНК – хроническая ишемия нижних конечностей

ЭКГ – электрокардиография

Научное издание

Власенко Ольга Николаевна

Эффективность генной терапии в лечении неоперабельных пациентов с хронической ишемией нижних конечностей

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Подписано в печать /дата/

Формат 60x90/16

Усл.-печ.л. 1,37. Уч.-изд. л. 1,0.

Тираж ... экз. Заказ № ...

Федеральное государственное бюджетное учреждение
Национальный медико-хирургический Центр им. Н.И. Пирогова
Министерства здравоохранения Российской Федерации
105203,
ул. Нижняя Первомайская, д. 70
Россия, Москва
E-mail: institutuvr@yandex.ru
<http://www.pirogov-center.ru>