

Первый опыт генной терапии в комплексном консервативном лечении нереконструктабельных пациентов с угрожающей хронической ишемией нижних конечностей

Для корреспонденции:

Юрий Валентинович Червяков,
cheryurval@yandex.ru

Поступила в редакцию 2 июня 2020 г.
Исправлена 16 октября 2020 г.
Принята к печати 28 октября 2020 г.

Цитировать:

Червяков Ю.В., Ха Х.Н. Первый опыт генной терапии в комплексном консервативном лечении нереконструктабельных пациентов с угрожающей хронической ишемией нижних конечностей. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2020;24(4):83-91. <http://dx.doi.org/10.21688/1681-3472-2020-4-83-91>

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ORCID ID

Ю.В. Червяков, <http://orcid.org/0000-0001-5270-9968>

Х.Н. Ха, <http://orcid.org/0000-0002-4290-6965>

© Ю.В. Червяков, Х.Н. Ха, 2020
Статья открытого доступа, распространяется по лицензии [Creative Commons Attribution 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Ю.В. Червяков¹, Х.Н. Ха²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ярославль, Российская Федерация

² Центральный военный госпиталь № 108, Ханой, Вьетнам

Цель. Определить эффективность использования препарата на основе плазмиды с геном VEGF-165 в комплексном консервативном лечении нереконструктабельных пациентов с угрожающей хронической ишемией нижних конечностей с различными по тяжести трофическими изменениями на протяжении 1 года наблюдения.

Методы. Проведено комплексное консервативное лечение 43 нереконструктабельных больных с трофическими изменениями на фоне хронической критической ишемии нижних конечностей с использованием препарата на основе плазмиды с геном VEGF-165. Средний возраст пациентов 68,0 ± 9,8 года, 65 % мужчин, 35 % женщин. По классификации Wifl (англ. Wound, Ischemia, and foot Infection) больные разделены на 4 подгруппы: комбинация Wifl 130 — 37 % (n = 16); Wifl 131 — 21 % (n = 9); Wifl 230 — 21 % (n = 9); Wifl 231 — 21 % (n = 9). Конечные точки исследования: частота высокой ампутации, выживаемость без ампутации, общая смертность, заживление дефектов на стопе в течение 12 мес.

Результаты. Частота ампутации в группе — 28 %, выживаемость без ампутации — 63 %, общая смертность — 12 %, заживление трофических нарушений — 51 %. Получены лучшие результаты в подгруппе с комбинацией 130 по Wifl: выживаемость без ампутации — 94 %, сохранность конечности — 100 %, заживление трофических дефектов — 88 %.

Выводы. Использование препарата на основе плазмиды с геном VEGF-165 в комплексном лечении пациентов с нереконструктабельной угрожающей хронической ишемией нижних конечностей при комбинации 130 по Wifl является эффективным. При увеличении площади и глубины трофических изменений, наличии местной инфекции использование генной терапии мало эффективно (подгруппы 230 и 231 по Wifl). Утяжеление комбинации Wifl приводит к увеличению частоты ампутации, снижает выживаемость без ампутации и ухудшает заживление трофических дефектов. Не отмечено зависимости общей смертности от площади и глубины трофических изменений, а также от распространенности местной инфекции. Общая смертность между подгруппами 130, 131, 230, 231 по Wifl в течение 1 года наблюдения не различается (лог-ранк тест, p = 0,67).

Ключевые слова: классификация Wifl; препарат на основе плазмиды с геном VEGF-165; угрожающая хроническая ишемия нижних конечностей

Введение

Сердечно-сосудистые заболевания являются основной причиной смертности в мире. Распространенность атеросклероза магистральных артерий нижних конечностей в мире превышает 200 млн человек [1; 2]. В Российской Федерации эти цифры достигают 3 млн [3]. У большинства больных атеросклероз периферических артерий медленно прогрессирует, и через 5 лет у части пациентов (до 5–8 %) переходит в стадию критической ишемии нижних конечностей (КИНК) [3]. По материалам межобщественного согласительного документа по ведению пациентов с заболеванием периферических артерий (TASC II, 2007), распространенность КИНК достаточно высока и регистрируется в среднем от 500 до 1 000 на 1 млн человек [4].

Лечение КИНК, бесспорно, является прерогативой эндоваскулярной и реконструктивной хирургии [5]. Несмотря на стремительное развитие эндоваскулярных технологий в Российской Федерации за последние 10 лет, количество высоких ампутаций, связанных с периферическим атеросклерозом, в нашей стране не снижается и достигает 25–26 тыс. ежегодно [2].

У большой группы пациентов с КИНК (от 20 до 40 %) нет возможности выполнения реваскуляризации из-за следующих причин: отсутствие путей оттока, распространенность трофических нарушений, тяжесть сопутствующей патологии [6]. Такие больные определяются понятием нереконструктабельный пациент с угрожающей хронической ишемией нижних конечностей (ХИНК), и их лечение остается крайне сложным и нерешенным вопросом. Однако базисная терапия, рекомендованная в национальных рекомендациях по лечению больных заболеваниями артерий нижних конечностей, даже в сочетании с препаратами группы простагландина E1 у пациентов с угрожающей ХИНК не демонстрирует высокой эффективности [7–9].

В последние годы больные угрожающей ХИНК являются предметом многочисленных исследований, в которых используют клеточную и генную терапию с целью стимуляции собственного ангиогенеза пациента. Однако клеточная терапия показала перспективность в лечении пациентов с КИНК и благоприятный профиль безопасности только в ретроспективных неконтролируемых исследо-

ваниях [10; 11]. Использование генной терапии рассматривается учеными и практиками как более перспективный метод лечения больных ишемической болезнью сердца и заболеваниями артерий нижних конечностей [12]. Наиболее изученными являются генетические конструкции, содержащие ген фактора роста эндотелия сосудов (англ. vascular endothelial growth factor, VEGF). Среди последних только *VEGF-165* является геном, зарегистрированным в Российской Федерации в качестве лекарственного средства для лечения пациентов с заболеваниями артерий нижних конечностей. Препарат «Неоваскулген» создан на основе плазмиды с геном *VEGF-165* [13]. Доказана его эффективность в лечении больных с ХИНК II–III ст. в сроки наблюдения до 5 лет [14–17]. Но вопрос о целесообразности применения генной терапии у пациентов с угрожающей ХИНК с трофическими нарушениями остается мало изученным.

Цель исследования — определить эффективность использования препарата на основе плазмиды с геном *VEGF-165* в комплексном консервативном лечении нереконструктабельных пациентов с угрожающей хронической ишемией нижних конечностей с различными по тяжести трофическими изменениями на протяжении 1 года наблюдения.

Методы

Проведено комплексное консервативное лечение и наблюдение за 43 больными с трофическими изменениями на фоне хронической критической ишемии согласно национальным рекомендациям по ведению пациентов с заболеваниями артерий нижних конечностей [7]. Исходно всем пациентам выполнялась диагностика состояния артериального русла нижних конечностей (мультиспиральная компьютерная томография или контрастная ангиография). При визуализации непроходимости дистального артериального русла больные были включены в группу нереконструктабельных пациентов с угрожающей критической ишемией нижних конечностей. Все больные получали первично лечение препаратами группы простагландина E1 в стандартных дозировках (40–60 мкг внутривенно капельно № 20). С учетом известной невысокой эффективности консервативного лечения IV ст. ХИНК по Фонтейну – Покровскому и высокого риска ам-

путации конечности в течение ближайшего года наблюдения в качестве альтернативы пациентам было предложено использование генного препарата на основе плазмиды с геном *VEGF-165*. Все пациенты перед использованием препарата были информированы, что ранее у больных угрожающей ХИНК его результативность не изучалась. Было получено информированное согласие на введение генной конструкции. Этический комитет ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России одобрил протокол исследования до начала проведения работы (№ 29 от 21.02.2018 г.).

Критерии включения пациентов:

- 1) возраст от 40 до 90 лет;
- 2) исходная проходимость проксимального артериального русла (аорто-бедренного сегмента) либо его стеноз не более 50 %; или проходимость после хирургического восстановления (операции давностью более 6 мес.);
- 3) нереконструкбельное дистальное поражение артерий нижних конечностей при клинике критической ишемии (по данным контрастной ангиографии верифицировали окклюзию всех магистральных артерий голени, значения периферического сопротивления были равны 8–10 баллам по шкале Рутерфорда);
- 4) присутствие различной степени выраженности трофических изменений на конечности в сочетании с угрожающей хронической ишемией нижних конечностей. Размеры и глубина трофических ран, а также тяжесть местной инфекции на стопе оценивались при помощи международной классификации Wifl (англ. Wound, Ischemia, and foot Infection) [18].

В исследование включались пациенты с комбинациями Wifl: 130, 131, 230, 231. Больные с обширными и глубокими трофическими язвами или некрозами (W-3), а также со средней и тяжелой степенью инфекции (Fi-2,3) исключались из исследования из-за высокого риска ампутации в течение ближайшего времени.

Критерии исключения из исследования были стандартными: повышенная чувствительность к любым компонентам, входящим в состав лекарственных препаратов; беременность, лактация; наличие алкогольной или наркозависимости; ин-

фекционные заболевания, инфекция вируса иммунодефицита человека, сепсис; неспособность пациента понять суть исследования; участие в других клинических исследованиях; декомпенсация сердечно-сосудистой системы, функции почек, печени. Дополнительными критериями исключения явились: онкологический анамнез в течение последних 5 лет; индивидуальная непереносимость применяемой генотерапевтической конструкции.

Все больные продолжали прием препаратов, рекомендованных для лечения сопутствующей патологии в терапевтических дозах, согласно индивидуальным показаниям. При местной инфекции на конечности применяли антибактериальные препараты с учетом посева из раны на флору и чувствительности к антибиотикам, а также перевязочные материалы на раны с учетом фазы раневого процесса и ее обсемененности микрофлорой. При наличии язвы или некроза на подошвенной или боковой поверхности стопы выполняли разгрузку ее опорной части с целью минимизации давления на хроническую рану.

Средний возраст пациентов в исследовании равен $68,0 \pm 9,8$ года (95% доверительный интервал 63–77). Распределение по гендерному признаку: 65 % мужчин, 35 % женщин. Сопутствующая патология: ишемическая болезнь сердца присутствовала у 83 % пациентов, гипертоническая болезнь в 86 % наблюдений, сахарный диабет отмечен у 65 % больных, острые нарушения мозгового кровообращения в анамнезе у 9 %. Окклюзия зоны бедренно-дистальной реконструкции — 23 %, высокая ампутация контрлатеральной конечности — 9 %. Распределение больных по классификации Wifl по комбинации признаков: Wifl 130 — 37 % (n = 16); Wifl 131 — 21 % (n = 9); Wifl 230 — 21 % (n = 9); Wifl 231 — 21 % (n = 9). В табл. 1 представлено сравнение пациентов каждой группы по базовым характеристикам.

Первичная конечная точка исследования: частота высокой ампутации, выживаемость без ампутации, общая смертность в течение 12 мес.; вторичная: заживление трофических дефектов на стопе.

Введение генного препарата проводилось во время стационарного курса консервативной сосудистой терапии либо значительно чаще амбулаторно. Был разработан способ паравазального введения лекарства под контролем ультразвуко-

Табл. 1. Базовые характеристики пациентов из сравниваемых групп

Показатель	Комбинации Wifi			
	130	131	230	231
Возраст, годы	65,6 ± 10,2	70,4 ± 6,8	68,7 ± 10,5	70,6 ± 11,1
Мужчины, n (%)	12 (75)	5 (55,6)	6 (66,7)	5 (55,6)
Женщины, n (%)	4 (25)	4 (44,4)	3 (33,3)	4 (44,4)
Рост, см	170,2 ± 11,2	172,0 ± 10,4	169,7 ± 12,8	172,8 ± 13,4
Вес, кг	77,3 ± 9,3	75,2 ± 8,6	74,0 ± 9,7	75,4 ± 8,8
Сопутствующая патология				
ИБС, n (%)	16 (93,7)	8 (88,9)	9 (100)	6 (66,7)
АГ, n (%)	16 (100)	8 (88,9)	8 (88,9)	8 (88,9)
ХСН, n (%)	4 (25)	0 (0)	1 (11,1)	1 (11,1)
ХСМН, n (%)	2 (12,5)	0 (0)	1 (11,1)	1 (11,1)
СД, n (%)	7 (43,8)	4 (44,4)	3 (33,3)	5 (55,6)
ХОБЛ, n (%)	1 (6,3)	0 (0)	1 (11,1)	1 (11,1)
ХПН, n (%)	1 (6,3)	1 (11,2)	0 (0)	0 (0)

Примечание. ИБС — ишемическая болезнь сердца; АГ — артериальная гипертензия; ХСН — хроническая сердечная недостаточность; ХСМН — хроническая сосудистая мозговая недостаточность; СД — сахарный диабет; ХОБЛ — хроническая обструктивная болезнь легких; ХПН — хроническая почечная недостаточность.

вой доплерографии в мышцы голени (Способ лечения хронической ишемии нижних конечностей атеросклеротического генеза при окклюзии артерий голени: пат. № 2694826 С1 Рос. Федерация № 2018120816А, заявл. 05.06.2018, опубл. 17.07.2019). Введение препарата было умеренно болезненным и не требовало применения местных анестетиков. За время наблюдения пациентами было совершено 5 визитов: первый — скрининг, второй и третий — двукратное введение препарата (1,2 мг) с интервалом в 2 нед., четвертый — через 6 мес. после лечения (180 дней ± 7 сут.), пятый — через 1 год (365 дней ± 10 сут.). Во время визитов выполнялся физикальный осмотр, оценка локального статуса, фотодокументация язвенных дефектов, лабораторное и инструментальное обследование.

Статистический анализ

Описание количественных данных выполняли в зависимости от вида их распределения. При этом учитывались объемы выборок, количество подгрупп, соответствие вида распределения признака в каждой подгруппе закону нормального распределения. Вычислялись меры центральной тенденции: среднее значение, стандартное отклонение, 95% доверительный интервал. Лог-ранк тест использован для сравнения результатов меж-

ду подгруппами. Полученные данные отображали в таблице и графически. Значение $p < 0,05$ считалось статистически значимым. Использовали программное обеспечение статистики SPSS (версия 2.0).

Результаты

После введения препарата на основе плазмиды с геном *VEGF-165* зафиксировано отсутствие нежелательных явлений или осложнений как местного, так и системного характера у всех пациентов. Клинически значимых изменений в лабораторных анализах (общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови) в динамике не отмечено. В течение всего срока наблюдения 6 больным (14 %) потребовались дополнительные госпитализации для повторного проведения лечения препаратами группы простагландина E1.

По итогам проведенного исследования был произведен статистический анализ и получены следующие результаты:

- 1) частота ампутации в группе — 28 % (n = 12);
- 2) выживаемость без ампутации — 63 % (n = 27);
- 3) общая смертность — 12 % (n = 5);
- 4) заживление трофических нарушений — 51 % (n = 22).

Табл. 2. Результаты лечения по конечным точкам исследования по комбинациям Wifi в течение 1 года наблюдения

Показатель	Комбинации Wifi			
	130	131	230	231
Частота высокой ампутации, n (%)	0 (0)	3 (33)	4 (44)	5 (56)
Выживаемость без ампутации, n (%)	15 (94)	5 (56)	4 (44)	3 (33)
Общая смертность, n (%)	1 (6)	1 (11)	1 (11)	2 (22)
Заживление трофических нарушений, n (%)	14 (88)	4 (44)	3 (33)	1 (11)

Рис. 1. Сравнение кривых сохранности нижних конечностей по комбинациям Wifi в течение 1 года наблюдения (лог-ранк тест, $p = 0,01$)

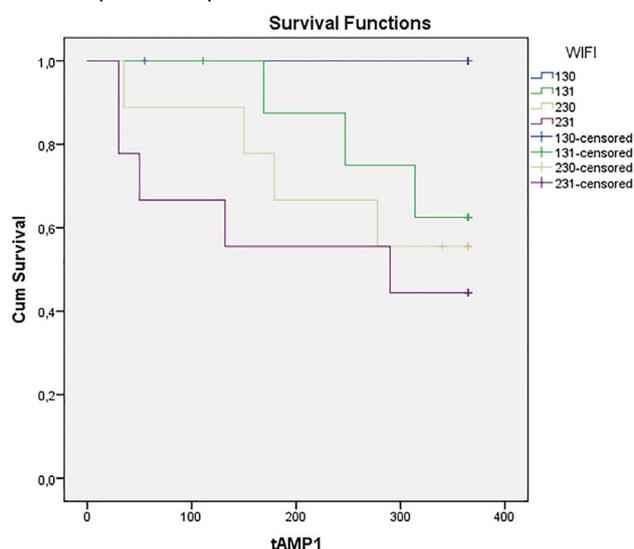


Рис. 2. Сравнение кривых выживаемости без ампутации по комбинациям Wifi в течение 1 года наблюдения (лог-ранк тест, $p = 0,01$)

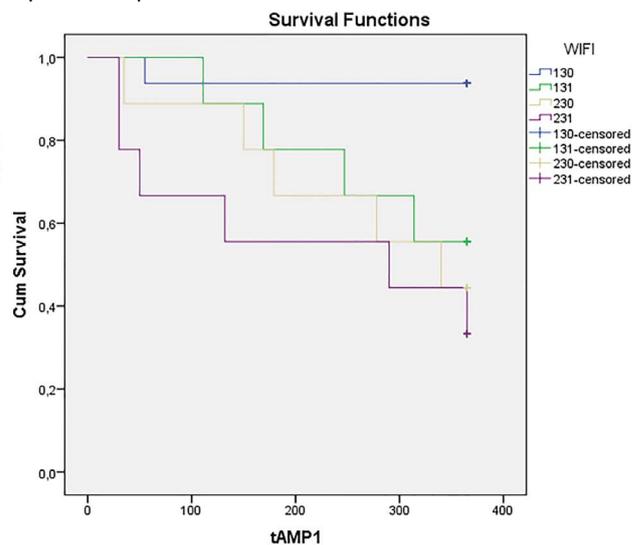


Рис. 3. Сравнение кривых заживления трофических язв по комбинациям Wifi в течение 1 года наблюдения (лог-ранк тест, $p = 0,001$)

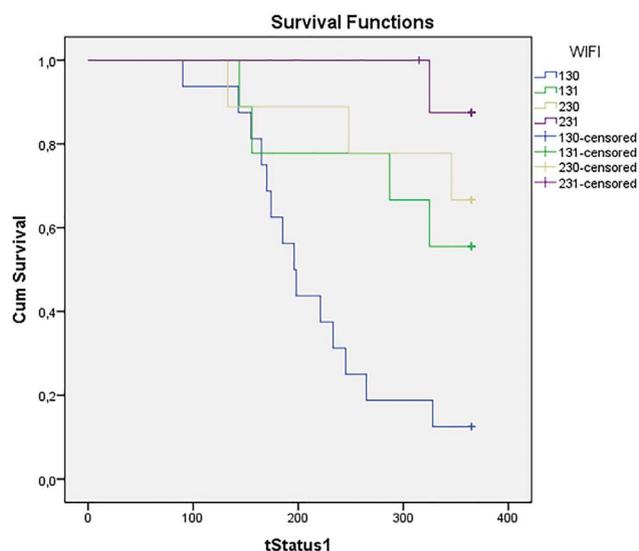
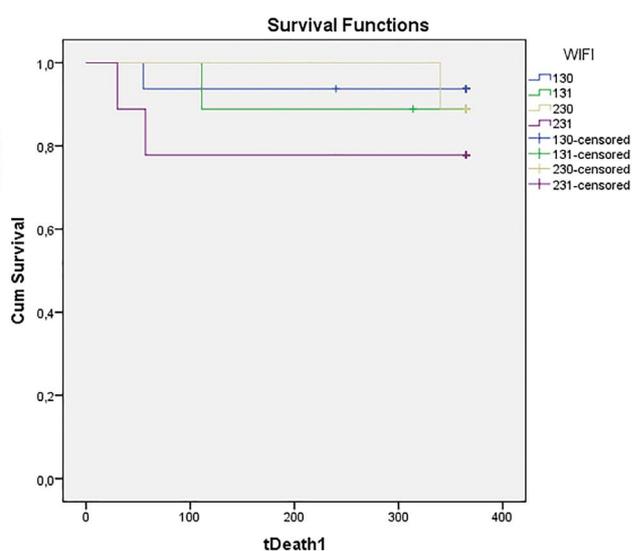


Рис. 4. Сравнение кривых общей смертности по комбинациям Wifi в течение 1 года наблюдения (лог-ранк тест, $p = 0,67$)



Результаты лечения по всем конечным точкам исследования раздельно по комбинациям Wifl представлены в табл. 2.

График кривых сохранности нижних конечностей по комбинациям Wifl показал увеличение количества ампутации при более тяжелых комбинациях по системе Wifl (лог-ранк тест, $p = 0,01$, рис. 1).

Аналогичные результаты получены при рассмотрении зависимости выживаемости без ампутации (лог-ранк тест, $p = 0,01$, рис. 2) и заживления трофических язв (лог-ранк тест, $p = 0,001$, рис. 3) от тяжести по комбинациям Wifl.

График кривых общей смертности демонстрирует недостоверное увеличение количества смертности при более тяжелых комбинациях по системе Wifl (лог-ранк тест, $p = 0,67$, рис. 4).

На рис. 5–7 представлены клинические примеры по заживлению трофических дефектов у больных при различных комбинациях Wifl при использовании генной терапии до введения препарата на основе плазмиды с геном *VEGF-165* (A) и через 12 мес. после начала лечения (B).

Рис. 5. Больной М. 1956 г. р. Комбинация Wifl 130: до введения препарата на основе плазмиды с геном *VEGF-165* (A); через 12 мес. после начала лечения (B)



Рис. 6. Больной Е. 1957 г. р. Комбинация Wifl 131: до введения препарата на основе плазмиды с геном *VEGF-165* (A); через 12 мес. после начала лечения (B)



Рис. 7. Больной С. 1969 г. р. Комбинация Wifl 230: до введения препарата на основе плазмиды с геном *VEGF-165* (A); через 12 мес. после начала лечения (B)



Обсуждение

Во всех зарубежных публикациях о терапевтическом ангиогенезе при угрожающей ХИНК генные препараты используются в общей группе больных без детализации по размерам и глубине некрозов, по распространенности инфекции на стопе. Существует всего один Кокрановский системный обзор о генной терапии у больных с КИНК от 2017 г. [19]. Он включает 14 исследований (около 1 400 участников). В нем тоже не проводилось разделение пациентов по указанным признакам. Выводы обзора следующие: влияние факторов роста на количество высоких ампутаций конечностей у людей с КИНК остается неясным. Но логично предположить, что результативность генной терапии у больных может различаться — применение препаратов группы простагландина E1 при КИНК IV ст. в краткосрочном периоде это демонстрируют [9].

Для проверки этой гипотезы мы решили провести первое в РФ исследование эффективности зарегистрированного препарата на основе плазмиды с геном *VEGF-165* у пациентов с угрожающей ХИНК, предварительно разделив их на подгруппы с использованием международной классификации Wifl. Анализируя полученные данные, мы можем сделать вывод о том, что использование классификации Wifl при оценке тяжести трофических изменений у пациентов с КИНК целесообразно. Ее применение позволяет выделить часть больных, у которых консервативное лечение с использованием генной терапии может быть эффективным. Результат лечения в виде улучшения регионарного кровообращения при II и III ст. хронической ишемии достигается в сроки от 4 до 6 мес. Об этом свидетельствуют увеличение плотности капилляров в ишемизированных мышцах, изменение значений транскутанного напряжения кислорода в дистальный отделах конечности, линейной скорости кровотока по берцовым артериям и лодыжечно-плечевого индекса [13; 20; 21]. В нашем исследовании мы не ставили целью изучение микроциркуляции.

Включение в комплексное консервативное лечение генного препарата позволило снизить количество ампутаций, увеличить выживаемость без ампутации и заживление трофического дефекта, но только у больных подгруппы 130 по комбинациям Wifl. Не выявлено зависимости общей выживаемости пациентов от комбинаций Wifl.

Ограничения

Исследование имеет следующие ограничения: количество выборки и количество событий в подгруппах были небольшими. Кроме того, группы сравнения невозможно выровнять по большинству базовых характеристик (рост, вес, пол, сопутствующая патология), которые также могли влиять на результат лечения. Представленная работа является одноцентровым исследованием и требует дополнительного подтверждения гипотезы на большем клиническом материале.

Заключение

Применение препарата на основе плазмиды с геном *VEGF-165* в комплексе консервативного лечения больных с нереконструктабельной угрожающей ХИНК при комбинации 130 по Wifl является эффективным. В результате достигается заживление трофических дефектов у 88 % больных, выживаемость без ампутации составляет 94 %, сохранность конечности — 100 %. При увеличении глубины трофических дефектов до костей, суставов или сухожилий и / или при присоединении местной инфекции использование генной терапии мало эффективно (подгруппы 230 и 231 по Wifl).

Частота ампутации, выживаемость без ампутации и заживление трофических язв на раннем сроке наблюдения коррелирует с комбинациями Wifl. Утяжеление комбинации Wifl приводит к увеличению частоты ампутации ($p = 0,01$), снижает выживаемость без ампутации ($p = 0,01$) и ухудшает заживление трофических дефектов ($p = 0,001$).

Общая смертность у пациентов с угрожающей ХИНК не зависит от площади и глубины трофических изменений, а также от распространенности местной инфекции ($p = 0,67$).

Список литературы / References

1. Зудин А.М., Засорина М.А., Орлова М.А. Эпидемиологические аспекты хронической критической ишемии нижних конечностей. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2014;10:78-72. [Zudin A.M., Zazorina M.A., Orlova M.A. Epidemiology of chronic critical limb ischemia. *Pirogov Russian Journal of Surgery = Khirurgiya. Zhurnal imeni N.I. Pirogova*. 2014;10:78-72. (In Russ.)]
2. Харазов А.Ф., Каляев А.О., Исаев А.А. Распространенность симптомной ишемии нижних конечностей в Российской Федерации. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2016;7:58-61. [Kharazov A.F., Kalyev A.O., Isaev A.A. Pad prevalence in Russian Federation. *Pirogov Russian Journal of Surgery = Khirurgiya. Zhurnal imeni N.I. Pirogova*. 2016;7:58-61. (In Russ.)] <https://doi.org/10.17116/hirurgia2016758-61>
3. Кошкин В.М., Сергеева Н.А., Кузнецов М.Р. Консервативная терапия у больных хроническими облитерирующими

- заболеваниями артерий нижних конечностей. Современные представления. *Медицинский совет*. 2015;8:6-9. [Koshkin V.M., Sergeeva N.A., Kuznetsov M.R., Nastavsheva O.D. Conservative therapy in patients with chronic obliterating diseases of lower limb arteries. Current views. *Medical Council = Meditsinskiy sovet*. 2015;8:6-9. (In Russ.)]
4. Norgren L., Hiatt W.R., Dormandy J.A., Nehler M.R., Harris K.A., Fowkes F.G.R., TASC II Working Group. Inter-society consensus for the management of peripheral arterial disease (TASC II). *J Vasc Surg*. 2007;45(15):S5-S67. PMID: 17223489. <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2006.12.037>
 5. Белов Ю.В., Винокуров И.А. Концепция подхода к хирургическому лечению критической ишемии нижних конечностей. *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия*. 2015;8(5):9-13. [Belov Yu.V., Vinokurov I.A. The concept of surgical treatment of critical limb ischemia. *Russian Journal of Cardiology and Cardiovascular Surgery = Kardiologiya i serdechno-sosudistaya khirurgiya*. 2015;8(5):9-13. (In Russ.)] <https://doi.org/10.17116/kardio2015859-13>
 6. Becker F., Robert-Ebadi H., Ricco J.-B., Setacci C., Cao P., de Donato G., Eckstein H.H., De Rango P., Diehm N., Schmidli J., Terao M., Moll F.L., Dick F., Davies A.H., Lepäntalo M., Apelqvist J. Chapter I: Definitions, epidemiology, clinical presentation and prognosis. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2011;42(Suppl 2):S4-S12. [https://doi.org/10.1016/S1078-5884\(11\)60009-9](https://doi.org/10.1016/S1078-5884(11)60009-9)
 7. Национальные рекомендации по ведению пациентов с заболеваниями артерий нижних конечностей. Москва; 2013. 74 с. Режим доступа: https://www.mrckb.ru/files/recommendations_LLA.pdf [National guidelines for the management of patients with lower limb artery diseases. Moscow; 2013. 74 p. Available from: https://www.mrckb.ru/files/recommendations_LLA.pdf (In Russ.)]
 8. Покровский А.В., Чупин А.В., Паршин П.Ю., Михайлов И.П., Лавренов В.Н., Харазов А.Ф., Кутырев О.Е. Применение генерического простагландина E1 ВАП 20® у больных с критической ишемией нижних конечностей: Проспективное исследование. *Ангиология и сосудистая хирургия*. 2013;19(2):17-24. [Pokrovsky A.V., Chupin A.V., Parshin P.Yu., Mikhailov I.P., Lavrenov V.N., Kharazov A.F., Kutyrev O.E. Administration of the generic prostaglandin E1 VAP 20® in patients with lower limb critical ischaemia: a prospective study. *Angiology and vascular surgery*. 2013;19(2):17-24. (In Russ.)]
 9. Червяков Ю.В., Ха Х.Н., Климов А.Е., Гавриленко А.В. Ближайшие результаты консервативного лечения «нереконструктивных» больных с критической ишемией нижних конечностей с трофическими изменениями. *Ангиология и сосудистая хирургия*. 2019; 25(2):11-15. [Chervyakov Yu.V., Kha Kh.N., Klimov A.E., Gavrilenko A.V. Immediate results of conservative treatment of patients with unreconstructable critical limb ischaemia and trophic changes. *Angiology and vascular surgery*. 2019;25(2):11-15. (In Russ.)] <https://doi.org/10.33529/ANGIO2019201>
 10. Walter D.H., Krankenberg H., Balzer J.O., Kalka C., Baumgartner I., Schlüter M., Tonn T., Seeger F., Dimmeler S., Lindhoff-Last E., Zeiher A.M., PROVASA Investigators. Intraarterial administration of bone marrow mononuclear cells in patients with critical limb ischemia: a randomized-start, placebo-controlled pilot trial (PROVASA). *Circ Cardiovasc Interv*. 2011;4(1):26-37. PMID: 21205939. <https://doi.org/10.1161/CIRCINTERVENTIONS.110.958348>
 11. Bisdas T., Borowski M., Stavroulakis K., Torsello J., CRITISCH Collaborators. Endovascular therapy versus bypass surgery as first-line treatment strategies for critical limb ischemia: Results of the interim analysis of the CRITISCH registry. *JACC Cardiovasc Interv*. 2016;9(24):2557-2565. PMID: 28007205. <https://doi.org/10.1016/j.jcin.2016.09.039>
 12. Еремеева М.В., Голухова Е.З., Бокерия Л.А., Киселев С.Л. Стимуляция неоангиогенеза при ишемии миокарда. Первый этап доклинических испытаний плазмидной ДНК VEGF. *Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. Сердечно-сосудистые заболевания*. 2001;2(3):136. [Eremeyeva M.V., Golukhova E.Z., Bokeriya L.A., Kiselev S.L. Stimulation of neoangiogenesis in myocardial ischemia. The first stage of preclinical testing of VEGF plasmid DNA. *The Bulletin of Bakoulev Center Cardiovascular Diseases = Буллетень NTSSSKH им. А.Н. Бакулева РАМН. Сердечно-сосудистые заболевания*. 2001;2(3):136. (In Russ.)]
 13. Швальб П.Г., Гавриленко А.В., Калинин Р.Е., Червяков Ю.В., Воронцов Д.А., Староверов И.Н., Грязнов С.В., Мжаванадзе Н.Д., Нерсисян Е.Г., Киселев С.Л., Исаев А.А., Деев Р.В. Эффективность и безопасность применения препарата «Неоваскулген» в комплексной терапии пациентов с хронической ишемией нижних конечностей (IIB-III фаза клинических испытаний). *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2011;6(3):76-83. [Shvalb P.G., Gavrilenko A.V., Kalinin R.E., Chervyakov Yu.V., Voronov D.A., Staroverov I.N., Gryaznov S.V., Mzavanadze N.D., Nersesyan E.G., Kiselev S.L., Isaev A.A., Deev R.V. Efficacy and safety of application "Neovasculgen" in the complex treatment patients with chronic lower limb ischemia (IIB-III phase of clinical trials). *Cellular Transplantation and Tissue Engineering*. 2011;6(3):76-83. (In Russ.)]
 14. Деев Р.В., Калинин Р.Е., Червяков Ю.В., Староверов И.Н., Плакса И.Л., Мжаванадзе Н.Д., Поздеев Д.В., Далгатов Г.Д., Исаев А.А. Отдаленные результаты применения *pl-VEGF165* при хронической ишемии нижних конечностей вследствие облитерирующего атеросклероза. *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия*. 2015;8(4):43-49. [Deev R.V., Kalinin R.E., Chervyakov Yu.V., Staroverov I.N., Plaksa I.L., Mzavanadze N.D., Pozdeev D.V., Dalgatov G.D., Isaev A.A. Long-term results of *PL-VEGF165* intramuscular gene transfer in patients with atherosclerotic chronic lower limb ischemia. *Russian Journal of Cardiology and Cardiovascular Surgery = Kardiologiya i serdechno-sosudistaya khirurgiya*. 2015;8(4):43-49. (In Russ.)] <https://doi.org/10.17116/kardio20158443-49>
 15. Червяков Ю.В., Староверов И.Н., Власенко О.Н., Нерсисян Е.Г., Исаев А.А., Деев Р.В. Отдаленные результаты лечения больных с хронической ишемией нижних конечностей методами непрямой реваскуляризации и генотерапии. *Ангиология и сосудистая хирургия*. 2016;22(1):29-37. [Chervyakov Yu.V., Staroverov I.N., Vlasenko O.N., Nersesyan E.G., Isaev A.A., Deev R.V. Remote results of treatment of patients with chronic lower-limb ischaemia by means of indirect revascularization and gene therapy. *Angiology and vascular surgery*. 2016;22(1):29-37. (In Russ.)]
 16. Червяков Ю.В., Власенко О.Н., Ха Х.Н. Пятилетние результаты консервативной терапии больных с атеросклерозом артерий нижних конечностей в стадии критической ишемии. *Пермский медицинский журнал*. 2017;34(5):20-27. [Chervyakov Yu.V., Vlasenko O.N., Kha Kh.N. Five-year conservative therapy results in patients with lower extremity arterial atherosclerosis at critical ischemia stage. *Perm Medical Journal*. 2017;34(5):20-27. (In Russ.)] <https://doi.org/10.17816/pmj34520-27>
 17. Deev R., Plaksa I., Bozo I., Mzhavanadze N., Suchkov I., Chervyakov Y., Staroverov I., Kalinin R., Isaev A. Results of 5-year follow-up study in patients with peripheral artery disease treated with *PL-VEGF165* for intermittent claudication. *Ther Adv Cardiovasc Dis*. 2018;12(9):237-246. PMID: 29996720, PMCID: PMC6116753. <https://doi.org/10.1177/1753944718786926>
 18. Червяков Ю.В., Ха Х.Н., Гавриленко А.В., Климов А.Е. Дифференцированный подход к лечению декомпенсиро-

- ванной ишемии нижних конечностей с использованием системной классификации WIfI. *Ангиология и сосудистая хирургия*. 2019;25(1):9-16. [Chervyakov Yu.V., Kha Kh.N., Gavrilenko A.V., Klimov A.E. Differentiated approach to treatment of decompensated lower limb ischaemia with the use of the WIfI classification system. *Angiology and vascular surgery*. 2019;25(1):9-16. (In Russ.)] <https://doi.org/10.33529/angio2019101>
19. Gorenai V., Brehm M.U., Koch A., Hagen A. Growth factors for angiogenesis in peripheral arterial disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;6(6): CD011741. PMID: 28594443, PMCID: PMC6481523. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD011741.pub2>
 20. Мавликеев М.О., Плотников М.В., Максимов А.В., Гафиятуллина Г.Р., Муртазин А.И., Терегулов Ю.Э., Шамсутдинова И.И., Гумерова А.А., Ризванов А.А., Киясов А.П. Патогистологическая оценка состояния скелетной мышцы после прямой генной терапии VEGF165 пациентов с хроническими облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей. *Гены и клетки*. 2014;9(3-1):105-111. [Mavlikeev M.O., Plotnikov M.V., Maksimov A.V., Gafiyatullina G.R., Murtazin A.I., Teregulov U.E., Shamsutdinova I.I., Gumerova A.A., Rizvanov A.A., Kiyasov A.P. Pathohistological assessment of skeletal muscle after direct gene therapy with VEGF165 of patients with peripheral arterial diseases. *Genes and Cells*. 2014;9(3-1):105-111. (In Russ.)]
 21. Червяков Ю.В., Староверов И.Н., Нерсисян Е.Г., Исаев А.А., Деев Р.В. Терапевтический ангиогенез в лечении больных с хроническими облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей. Ближайшие и отдаленные результаты. *Ангиология и сосудистая хирургия*. 2012;18(3):19-27. [Chervyakov Yu.V., Staroverov I.N., Nersesyan E.G., Isaev A.A., Deev R.V. Therapeutic angiogenesis in treatment of patients with chronic obliterating diseases of lower limb arteries. *Angiology and vascular surgery*. 2012;18(3):19-27. (In Russ.)]

The first experience of gene therapy for the complex treatment of no-option chronic limb-threatening ischemia

Yuri V. Chervyakov¹, Hoai N. Ha²

¹Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russian Federation

²The 108 Military Central Hospital, Hanoi, Vietnam

Corresponding author. Yuri V. Chervyakov, cheryurval@yandex.ru

Aim. To evaluate the effects of complex treatments with no-option chronic limb-threatening ischemia patients with ulcers, using plasmid-based vascular endothelial growth factor-165 (VEGF-165) gene therapy in a one year follow-up period.

Methods. In total, 43 patients with no-option chronic limb-threatening ischemia were enrolled in a one year follow-up study. All patients received standard conservative treatment in combination with gene therapy. The mean patient age was 68.0 ± 9.8 years; 65 % men and 35 % women. Patients were divided into four subgroups according to WIfI (Wound, Ischemia, and foot Infection) combinations: 130 — 37 % (n = 16); 131 — 21 % (n = 9); 230 — 21 % (n = 9), and 231 — 21 % (n = 9). Effectiveness criteria were set at major amputation rates, amputation-free survival rates, total mortality, and rates of ulcer healing in the one year follow-up period.

Results. Major amputation rates, amputation-free survival rates, total mortality, and rates of ulcer healing during the one year follow-up were; 28, 63, 12 and 51 %, respectively. Separately, a subgroup of WIfI 130 combination patients experienced significant improvements (p = 0.01): amputation-free survival — 94 %, limb salvage rates — 100 %, and rate of ulcer healing — 88 %.

Conclusion. Using a plasmid-based VEGF-165 gene therapy approach in the subgroup with the WIfI 130 combination was beneficial. Gene therapy was not effective in patients with large ulcer areas and depth, and local infections (subgroups; 230 and 231). The higher WIfI combinations led to an increase in major amputation rates, reduced amputation-free survival and ulcer healing rates. Total mortality was independently not associated with ulcer area and depth, and severity of local infection. Total mortality between subgroups 130, 131, 230, 231 for WIfI combinations during 1 year of follow-up was not statistically differences (log-rank test, p = 0.67)

Keywords: chronic limb-threatening ischemia; plasmid-based vascular endothelial growth factor 165; Wound, Ischemia, and foot Infection classification

Received 2 June 2020. Revised 16 October 2020. Accepted 28 October 2020.

Conflict of interest: Authors declare no conflicts of interest.

Funding: The study did not have sponsorship.

ORCID ID

Yu.V. Chervyakov, <http://orcid.org/0000-0001-5270-9968> H.N. Ha, <http://orcid.org/0000-0002-4290-6965>

Copyright: © 2020 Chervyakov et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution 4.0 License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

How to cite: Chervyakov Yu.V., Ha H.N. The first experience of gene therapy for the complex treatment of no-option chronic limb-threatening ischaemia. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiokhirurgiya = Circulation Pathology and Cardiac Surgery*. 2020;24(4):83-91. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.21688/1681-3472-2020-4-83-91>