

DOI: 10.15825/1995-1191-2022-4-124-134

ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛИКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ У ДОНОРОВ СО СМЕРТЬЮ МОЗГА ПРИ ПЕРЕСАДКЕ ПОЧЕК

Д.О. Кузьмин^{1, 2}, В.А. Мануковский¹, С.Ф. Багненко², О.Н. Резник^{1, 2, 4}, А.Н. Ананьев^{1, 2},
О.А. Воробьева³, С.Л. Воробьев³, Д.В. Гоголев^{1, 2}, В.С. Дайнеко^{1, 4}, А.А. Кутенков^{1, 2},
Н.А. Чичагова^{1, 2}, И.В. Ульянкина^{1, 2}

¹ ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи имени И.И. Джанелидзе», Санкт-Петербург, Российская Федерация

² ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

³ Национальный центр клинической морфологической диагностики, Санкт-Петербург, Российская Федерация

⁴ ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Целью данного исследования явилась разработка протокола медикаментозной защиты трансплантатов для повышения эффективности пересадки почек с помощью применения препарата поликлональных антител (ПКАТ) за счет элиминации из кровотока донора активированных форм нейтрофилов, хемо- и цитокинов, снижения уровня экспрессии молекул адгезии на эндотелии сосудов почек на предтрансплантационном этапе. **Материалы и методы.** В 2017 году нами был разработан и впервые применен протокол лекарственной коррекции ишемически-реперфузионного повреждения (ИРП) у донора с установленным диагнозом «смерть головного мозга» (ДСМ). Учитывая ограниченный временной интервал после процедуры диагностики смерти мозга, препарат «Тимоглобулин» (Sanofi Genzyme, Франция) вводился в организм донора в дозе 8 мг/кг внутривенно в течение 6 часов. Перед введением препарата и непосредственно перед началом холодовой перфузии выполнялся развернутый клинический анализ крови и биопсии трансплантатов почек. В исследуемую группу были включены 10 ДСМ (ср. возраст – $39,3 \pm 4,4$ года), которым вводился антигемоцитарный иммуноглобулин (АТГ), группой сравнения были 10 ДСМ (ср. возраст – $38,5 \pm 4,3$ года) без применения нового протокола. Донорские почки были пересажены 40 реципиентам (ср. возраст – $47,5 \pm 4,3$ года), которые также были разделены на 2 группы, в зависимости от полученного трансплантата (с АТГ и без АТГ). В центре органного донорства сформирован биобанк образцов от доноров различных категорий, в т. ч. с применением протокола терапевтической коррекции ИРП, и реципиентов для ретроспективной оценки эффективности применения ПКАТ. **Результаты.** По данным проведенной оценки результатов клинического анализа крови, в группе с введением АТГ наблюдалась устойчивая лейкопения (нейтропения и лимфопения) $1,46 \pm 0,18 \times 10^9/\text{л}$. У 15 (75%) реципиентов почек, полученных от доноров с введением АТГ, наблюдалась немедленная функция трансплантата, в контрольной группе – у 10 (50%) реципиентов. **Выводы.** Полученные данные свидетельствуют о перспективности внедрения предложенного протокола в клиническую практику, что позволит улучшить качество получаемых трансплантатов, их пригодность к дальнейшей пересадке, увеличить срок функционирования трансплантата за счет элиминации лейкоцитов как фактора возникновения ИРП, предупреждения развития ранней трансплантационной нефропатии, увеличения «донорского пула» за счет использования доноров с расширенными критериями (ДРК).

Ключевые слова: донорство и трансплантация органов, ишемия-реперфузия, поликлональные антитела.

Для корреспонденции: Кузьмин Денис Олегович. Адрес: 197345, Санкт-Петербург, ул. Будапештская, д. 3. Тел. (904) 648-68-38. E-mail: drkuzmind@gmail.com

Corresponding author: Denis Kuzmin. Address: 3, Budapestskaya str., St. Petersburg, 197345, Russian Federation. Phone: (904) 648-68-38. E-mail: drkuzmind@gmail.com

USE OF POLYCLONAL ANTIBODIES IN BRAIN-DEAD DONORS IN KIDNEY TRANSPLANTATION

D.O. Kuzmin^{1, 2}, V.A. Manukovsky¹, S.F. Bagnenko², O.N. Reznik^{1, 2, 4}, A.N. Ananiev^{1, 2}, O.A. Vorobyeva³, S.L. Vorobyev³, D.V. Gogolev^{1, 2}, V.S. Daineko^{1, 4}, A.A. Kutenkov^{1, 2}, N.A. Chichagova^{1, 2}, I.V. Uliankina^{1, 2}

¹ St. Petersburg Research Institute of Emergency Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

² Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

³ National Center for Clinical Morphological Diagnostics, St. Petersburg, Russian Federation

⁴ North-Western State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Objective. The objective of this study is to develop a therapeutic strategy for protecting grafts in order to improve the efficiency of kidney transplantation (KT) using polyclonal antibodies (pAbs) through elimination of activated forms of neutrophils, chemo- and cytokines from the donor's bloodstream, and a decrease in the level of expression of adhesion molecules on the renal vascular endothelium at the pre-transplant stage. **Materials and methods.** In 2017, we developed and for the first time applied a therapeutic strategy for ischemia-reperfusion injury (IRI) in a brain-dead donor (BDD). Given the limited time interval after brain death has been diagnosed, Timoglobulin (Sanofi Genzyme, France) was administered to the donor at a dose of 8 mg/kg intravenously for 6 hours. Before drug administration and immediately before the start of cold perfusion, a complete blood count and renal transplant biopsy were performed. The study group included 10 BDDs (mean age 39.3 ± 4.4 years) who received anti-thymocyte globulin (ATG). The comparison group included 10 BDDs (mean age 38.5 ± 4.3 years) who did not undergo the new strategy. Donor kidneys were transplanted to 40 recipients (average age 47.5 ± 4.3 years), who were also divided into 2 groups, depending on the graft received (with and without ATG). At the organ donation center, a biobank of specimens from donors of various categories, including those using the IRI therapeutic strategy and recipients for retrospective assessment of the effectiveness of pAbs, was formed. **Results.** Clinical blood test results show that in the ATG group, there was stable leukopenia (neutropenia and lymphopenia) of $1.46 \pm 0.18 \times 10^9/l$. Fifteen (75%) recipients of kidneys obtained from donors with ATG had immediate graft function; in the control group – 10 (50%) recipients. **Conclusion.** Data obtained testify to the prospects of implementing the proposed strategy in clinical practice, which will improve the quality of the resulting grafts and their suitability for subsequent transplantation, prolong graft functioning due to elimination of leukocytes as a factor of IRI, prevention of early allograft nephropathy, increase in the donor pool by using expanded criteria donors (ECDs).

Keywords: organ donation and transplantation, ischemia-reperfusion injury, polyclonal antibodies.

ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация является радикальным хирургическим методом лечения пациентов с терминальной стадией почечной недостаточности. Поэтому общепризнано, что пересадка почки представляет собой преимущественный метод лечения и обеспечивает лучшую выживаемость по сравнению с долгосрочным диализным лечением, а также предпочтительнее с точки зрения качества и продолжительности жизни реципиента [1]. Однако во всем мире отмечается дефицит подходящих донорских органов, и такой метод лечения остается малодоступным. Количество пересаженных почек в мире в 2020 г. составило всего 75 664 [GODT. Global Observatory on Donation and Transplantation. 2020. <http://www.transplant-observatory.org/reports>. Доступ 1 августа 2021].

На протяжении многих лет основным источником донорских органов были доноры с установленным диагнозом «смерть головного мозга» (ДСМ), органы которых считались идеальными. Однако постоянный

дефицит донорских органов послужил причиной использования для пересадки трансплантатов, полученных от доноров с расширенными критериями (ДПК). Данную категорию доноров раньше можно было расценивать как дополнительный ресурс трансплантации, однако на сегодняшний день он становится основным [2]. Использование ресурса ДПК, к которым относятся все доноры старше 60 лет, или в возрасте 50 лет и более, при наличии таких сопутствующих состояний, как артериальная гипертензия в анамнезе, уровень креатинина плазмы выше 132 мкмоль/л непосредственно перед процедурой эксплантации, сахарный диабет, избыточная масса тела (индекс массы тела >30), может приводить к высокому риску отсроченной функции [3]. Тем не менее данная категория доноров считается приемлемым ресурсом для трансплантации почек [4].

Отсроченная функция трансплантата и неудовлетворительные отдаленные результаты пересадки остаются основным препятствием для расширения

донорского пула. Для пересадки почек от ДРК характерно развитие более выраженного ИРП. Это вызвано нестабильностью гемодинамики у такого рода доноров, и как следствие, в почках у них развивается сложный комплекс событий, который характеризуется более тяжелым течением острого повреждения трансплантата [5].

Отсроченная функция наблюдается из-за сложного патофизиологического комплекса событий, связанных с ишемическим и гипоксическим повреждением и реперфузией после гипотермической консервации с длительным периодом восстановления после острого канальцевого некроза [6]. Некоторые исследователи считают, что у 23–38% реципиентов почки от посмертного донора, получающих лечение гемодиализом в течение первой недели после пересадки, риск потери трансплантата увеличивается до 40%. Значительная часть почек, полученных от доноров старше 50 лет или от доноров с высоким уровнем сывороточного креатинина, не используется [7].

Ключевыми патологическими механизмами,кумулятивное действие которых приводит к резкому снижению функционального резерва органов или, при наиболее неблагоприятном сценарии, необратимым изменениям, приводящим к непригодности для трансплантации, являются системная воспалительная реакция, каскад клеточной адгезии и активация лейкоцитов [8]. Наибольшее значение при этом имеет время нестабильности гемодинамики, тепловой ишемии и происходящая при этом «мобилизация лейкоцитов», имеющая мишенью микроциркуляторное русло и эндотелий органов. После запуска кровотока активированные нейтрофилы становятся главным источником продукции свободных радикалов и ферментов лизиса [9]. Необходимо отметить, что активация молекул адгезии инициирует миграцию нейтрофилов в трансплантат и лейкоцитарную инфильтрацию тканей в целом еще на донорском этапе, что еще более потенцирует реперфузионное повреждение почек в организме реципиента. Таким образом, ИРП способствует увеличению продолжительности пребывания в стационаре и уменьшению выживаемости трансплантата [10].

В свою очередь, ведущую роль в развитии ИРП играют активированные формы лейкоцитов. Массовая адгезия лейкоцитов к стенкам сосудов и друг к другу приводит в конечном счете к образованию крупных лейкоцитарных конгломератов, которые закупоривают просвет сосудов и резко ухудшают венозный отток. В таких скоплениях отдельные лейкоциты довольно сильно фиксированы друг к другу, но сами конгломераты разных размеров и иногда слабо фиксированы к стенке сосуда, поэтому через несколько минут после образования они смываются кровью и уносятся в более крупные сосуды. Однако в терминальные периоды кислородного голодания

тканей конгломераты сохраняются, и, по выражению К.П. Иванова (1992 г.), они останавливают «поезда эритроцитов», возникают лейкоцитарно-тромбоцитарные взаимодействия, что приводит к окклюзии сосудов все большего диаметра и к их деформации. Этим впоследствии объясняется трудность или невозможность восстановления микроциркуляции после глубокой гипоксии [11]. После восстановления кровотока главным действующим фактором ИРП становятся активированные нейтрофилы, продуцирующие свободные радикалы и ферменты лизиса [12].

Установлено, что в то время, когда начинается процесс ишемии-реперфузии, отмечается активация нейтрофилов и дальнейшее повреждение ткани путем высвобождения активной формы кислорода (АФК), протеиназ и катионных пептидов [13]. Под воздействием провоспалительных цитокинов и адгезивного каскада активируется никотинамид аденин динуклеотидфосфат (НАДФН)-оксидаза, что вызывает продукцию большого количества АФК нейтрофилами [14]. Нейтрофилы блокируют капиллярное русло, предотвращая реперфузию, что приводит к некрозу тканей и усилению иммунного ответа [15]. Нейтрофилы секретируют провоспалительные цитокины и хемокины, создавая положительную обратную связь [16]. Кроме того, миграция нейтрофилов вызывает потерю целостности эпителиального барьера и снижает регуляцию молекул адгезии [17].

ИРП инициируется эпизодом ишемии, когда в части или целом органе ограничивается кровоснабжение, вызывая гибель клеток, которая дополнительно усугубляется при возобновлении кровотока. Ишемия приводит к гипоксии тканей, которая вызывает накопление метаболитов и АФК, а именно супероксида, пероксида водорода и гидроксильных радикалов. АФК увеличивают количество внутриклеточного кальция, вызывая изменения pH и одновременно истощая запасы аденазинтрифосфорной кислоты, что приводит к повреждению клеточных органелл и некрозу клеток. Длительные периоды ишемии, продолжающиеся от нескольких минут до получаса, вызывают необратимые эффекты, которые усиливаются при реперфузии. Во время реперфузии ишемизированная ткань наполняется кислородом. Это активирует метаболиты и АФК, что приводит к воспалительной реакции, вызывающей ишемически-реперфузионное повреждение [18].

По мнению Z.V. Schofield et al. (2013), ИРП – это сложный физиологический процесс, но неоспоримую ведущую роль в нем играют нейтрофилы, которые могут проникать в поврежденную ткань уже через несколько минут после активации. Цитокины, АФК и система комплемента также имеют важное значение в патогенезе ИРП, поскольку они поддерживают, активируют и усиливают деструктивную функцию нейтрофилов. Тем не менее недавние исследования

снова обратили внимание на роль нейтрофилов как ключевого игрока в патофизиологии ИРП [12].

При растущем дефиците донорских органов, все более широком использовании органов субоптимального качества особое значение приобрело изучение патофизиологических процессов, развивающихся в организме посмертного донора. Понимание основ патологических изменений в трансплантатах позволяет рассматривать новые возможности воздействия на них, в том числе посредством применения новых методик лекарственной терапии на дотрансплантационном этапе в организме донора, которые могут послужить эффективным средством увеличения продолжительности службы трансплантатов, полученных в том числе и от ДРК [19].

Белки EpcAM (Epithelial cell adhesion molecule; молекула клеточной адгезии эпителия) экспрессируются на мембране эпителиальных почечных клеток, где она участвует в клеточных и межклеточных взаимодействиях. Степень экспрессии EpcAM значительно увеличивается в процессе восстановления почечной ткани и коррелирует с тяжестью последствий ИРП. Регенерация ткани трансплантата требует очень высокого уровня экспрессии EpcAM для развития процессов клеточной пролиферации, миграции и дифференцировки [20]. Предполагается, что длительная и массивная экспрессия EpcAM ассоциирована с его тропностью к процессам пролиферации и адгезии клеток, что наблюдается после ИРП. Таким образом, регуляция экспрессии EpcAM прямо связана с потребностью в регенерации почечной ткани [21].

Во всем мире ведутся исследования, направленные на поиск высокоспецифичных биомаркеров неблагоприятных состояний в трансплантации. Создание трансплантационных биобанков, сформированных по стандартной методике, должно гарантировать получение достоверных статистических и клинических данных, в результате оценки которых должны быть введены новые способы терапевтической коррекции ИРП в организме донора. Сбор, обработка и хранение различных типов образцов на всех этапах донорского процесса, во время трансплантации органов, а также в послеоперационном периоде могут служить основой создания уникальных биобанков. Такие биобанки будут представлять собой матрицу для «сквозных» проспективных лонгитюдных исследований. Использование современных геномных технологий, в том числе секвенирования следующего поколения, позволит системно подойти к изучению ишемии-реперфузии и генетических основ реакций отторжения трансплантата, обеспечит индивидуальный подход к назначению иммуносупрессивных препаратов исходя из генетических профилей донора и реципиента. В долгосрочной перспективе можно будет решать более смелые задачи, такие как изучение процес-

сов «умирания» с точным определением момента наступления необратимых изменений. Это позволит пересмотреть существующие критерии определения пригодности органов для трансплантации, отойти от эмпирического подхода к генетически обоснованному [22].

Цель исследования: разработать и внедрить новый способ лекарственной терапии на дотрансплантационном этапе в организме ДСМ, который может послужить эффективным средством увеличения продолжительности службы трансплантатов, полученных от ДРК, повышения эффективности пересадки почек за счет применения поликлональных антител.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На заседании Локального этического комитета при Санкт-Петербургском научно-исследовательском институте скорой помощи им. И.И. Джанелидзе от 15 марта 2017 года одобрено исследование «Применение поликлональных антител у доноров со смертью мозга при пересадке почек» и разрешена его дальнейшая разработка на базе ГУ «СПб НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе». Настоящее исследование начато в марте 2017 года, пятилетние результаты оценивались в июле 2022 года.

Согласно официальной инструкции препарата поликлональных антител «Тимоглобулин» (Sanofi Genzyme, Франция), через 1 сутки после введения у пациента развивается глубокая лимфопения (снижение количества лимфоцитов более чем на 50% по сравнению с исходным значением). Новый способ терапевтического применения препарата, традиционно используемого только для лечения стероидрезистентных кризов отторжения у реципиентов, представляется эффективным методом улучшения качества почечных трансплантатов за счет «выключения» лейкоцитарного звена ИРП, что, по нашей гипотезе, положительно скажется на долгосрочных результатах трансплантации.

Учитывая имеющееся ограничение по времени на введение препарата ДСМ (соответствует временному отрезку, требующемуся на процедуру диагностики смерти мозга у донора), было принято эмпирическое решение о четырехкратном увеличении дозы препарата для достижения максимальной редукции количества мобилизованных лейкоцитов. Таким образом, была разработана авторская методика применения поликлональных антител у ДСМ при пересадке почек.

После первичного осмотра ДСМ бригадой в составе анестезиолога-реаниматолога и хирурга КЦОД, а также трансплантационного координатора стационара и принятия решения о начале процедуры диагностики смерти головного мозга и планировании эксплантации почек препарат «Тимоглобулин» (Thymoglobulin) производства Джензайм Поликло-

налс С.А.С. (Франция) (Genzyme Polyclonals, S.A.S.) вводился в организм донора в течение 6 часов в 4-кратной терапевтической дозе. Дозировка препарата составила 8 мг/кг массы тела. Препарат растворялся в 50,0 мл физиологического раствора, вводился в центральный венозный катетер с использованием инфузионного одношприцевого насоса 0,14 мл/мин.

Перед введением препарата и непосредственно перед началом холодовой перфузии выполнялся развернутый клинический анализ крови. В исследуемую группу были включены 10 ДСМ (ср. возраст – $39,3 \pm 4,4$ года), которым вводился антиtimoцитарный иммуноглобулин (АТГ), группой сравнения были 10 ДСМ (ср. возраст – $38,5 \pm 4,3$ года) без применения нового протокола. Донорские почки были пересажены 20 реципиентам исследуемой группы (средний возраст – $42,3 \pm 3,1$ года) и 20 реципиентам контрольной группы (средний возраст – $41,2 \pm 3,3$ года) в зависимости от полученного трансплантата (с АТГ и без АТГ). Общая характеристика групп приведена в табл. 1 и 2.

В 2015 году на базе Санкт-Петербургского координационного центра донорства впервые в Российской Федерации создан трансплантационный биобанк.

В биобанке сформирована коллекция биологических образцов от доноров и реципиентов, позволяющая выполнить ретроспективные иммуногистохимические исследования биоптатов трансплантатов почки для оценки эффективности применения ПКAT для редукции ИРП у ДСМ на предэксплантационном этапе. Для функционирования трансплантационного биобанка выполняется квалифицированный сбор, обработка, характеристика и хранение образцов. Стандартизирована работа с документацией, базами данных, разработаны алгоритмы первичной обработки и хранения биобразцов, контроля надлежащего состояния проб.

Материалом исследования послужили инцизионные биоптаты почечных трансплантатов. Гистологическое исследование ткани почек выполнялось на базе ООО «Национальный центр клинической морфологической диагностики» следующими методами:

- 1) светооптическое исследование выполнено на парафиновых срезах с использованием следующих окрасок: гематоксилин-эозин, PAS-реакция;
- 2) иммуногистохимическое исследование выполнено иммунопероксидазным методом с использованием антител к молекуле клеточной адгезии эпителия (ЕpCAM).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для проверки клинических данных выполнено иммуногистохимическое исследование биоптатов трансплантатов почек. В биоптатах трансплантатов почек от ДСМ группы сравнения светооптическое исследование материала продемонстрировало сохранную гистоархитектонику почечной паренхимы. Клубочки с одноконтурной капиллярной стенкой, без признаков мезангиальной и эндокапиллярной гиперклеточности, без сегментарного гломерулосклероза и полулуний. Определяется артифициальная вакуолизация цитоплазмы эпителия проксимальных извитых канальцев. Признаки тубуло-интерстициального фиброза отсутствуют. Стенки артериол и артерий мелкого калибра без патологических изменений. Иммуногистохимическое исследование показало положительную экспрессию молекул клеточной адгезии эпителия в цитоплазме эпителия дистальных извитых канальцев и ее отсутствие в других структурах ткани почки (рис. 1).

Оценка гистоморфологических данных, свидетельствующих о полученном ишемическом повреждении, проводилась по наличию положительной экспрессии молекул ЕpCAM в цитоплазме эпителия дистальных извитых канальцев. По данным исследования биоптатов трансплантатов почек от ДСМ исследуемой группы, на светооптическом уровне гистологическая картина осталась прежней. Иммуногистохимическое исследование, в свою очередь,

Таблица 1

Общая характеристика групп доноров

General characteristics of donor groups

Характеристика		Контрольная группа (без применения АТГ), n = 10	Исследуемая группа (с применением АТГ), n = 10	Значение p
Возраст, годы		$38,5 \pm 4,3$	$39,3 \pm 4,4$	0,08
Диагноз	ОНМК	4 (40%)	4 (40%)	
	ЧМТ	2 (20%)	1 (10%)	
	Разрыв аневризмы ГМ	4 (40%)	6 (60%)	
Креатинин, мкмоль/л		$66,5 \pm 6,9$	$68,9 \pm 7,3$	
Мочевина, ммоль/л		$4,9 \pm 0,5$	$5,6 \pm 0,6$	

Таблица 2

Общая характеристика групп реципиентов

General characteristics of recipient groups

Характеристика		Контрольная группа (без применения АТГ), n = 20	Исследуемая группа (с применением АТГ), n = 20	Значение p
Возраст, годы		$41,2 \pm 3,3$	$42,3 \pm 3,1$	0,09
Диагноз	ХГН	15 (75%)	15 (75%)	
	АДПП	3 (15%)	2 (10%)	
	ГБ III ст.	2 (10%)	3 (15%)	

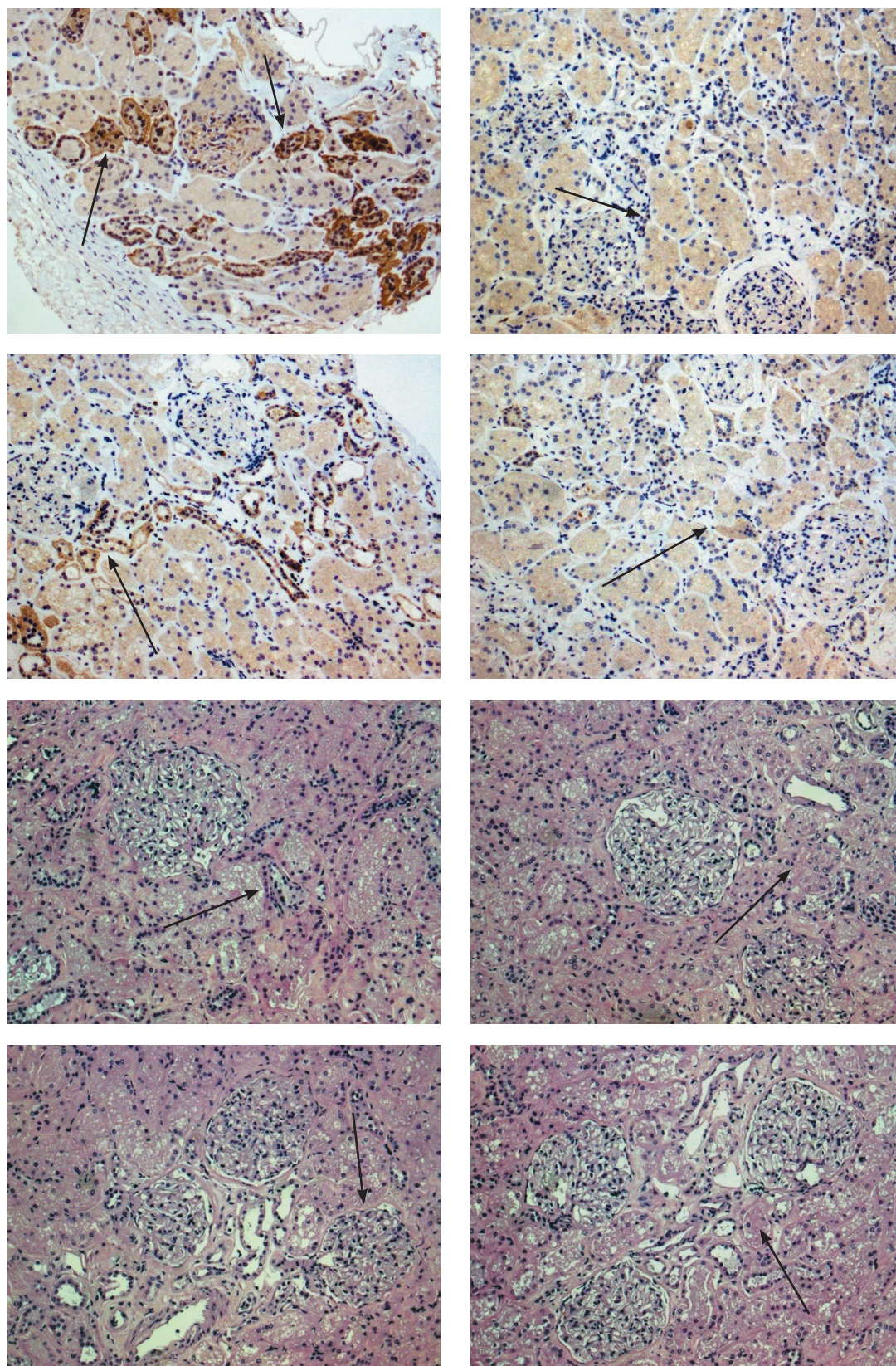


Рис. 1. Иммуногистохимическое исследование «нулевых» биоптатов трансплантатов почек от ДСМ группы сравнения и исследуемой группы. В группе сравнения наблюдается положительная экспрессия EpCAM в цитоплазме дистальных извитых канальцев – указана стрелками на рисунках в левом столбце. В исследуемой группе наблюдается отсутствие экспрессии EpCAM во всех структурах ткани почки – указано стрелками на рисунках в правом столбце

Fig. 1. Immunohistochemistry in null kidney graft biopsies from BDDs in the comparison group and the study group. In the comparison group there is a positive expression of EpCAM in the epithelial cytoplasm of the distal convoluted tubules – indicated by arrows in the figures in the left column. In the study group, there is no EpCAM expression in all renal tissue structures – indicated by arrows in the figures in the right column

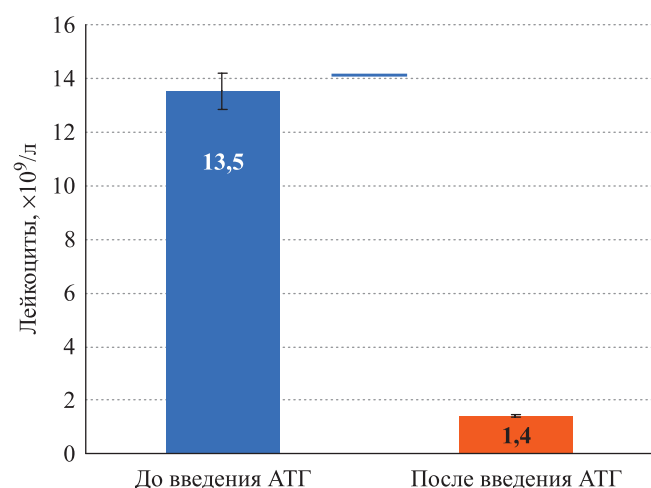


Рис. 2. Уровень лейкоцитов крови у ДСМ в исследуемых группах до и через 6 часов после введения АТГ

Fig. 2. WBC count in BDDs in the study groups before and 6 hours after ATG injection

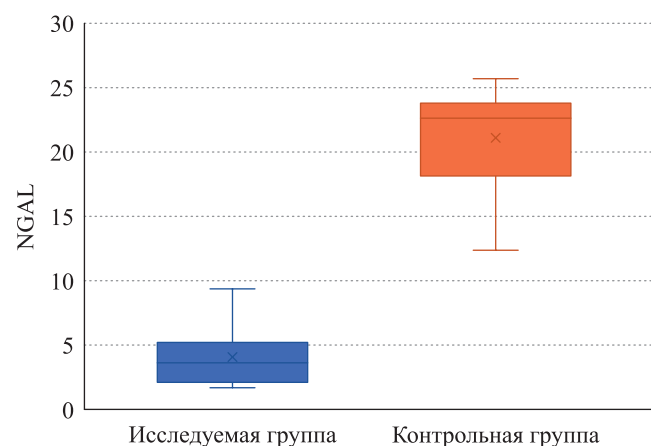


Рис. 3. Уровень NGAL в моче у ДСМ исследуемой и контрольной группы

Fig. 3. Urinary NGAL levels in BDDs in the study and control groups

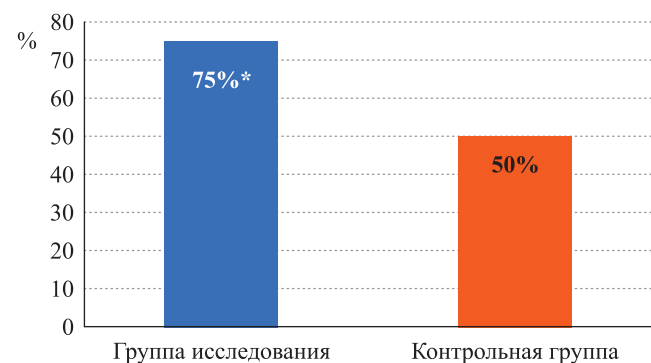


Рис. 4. Немедленная функция трансплантатов почки у реципиентов в исследуемых группах. * – $p = 0,0008$ по сравнению с контрольной группой

Fig. 4. Immediate function of kidney grafts in recipients in the study groups. * – $p = 0.0008$ compared to the control group

продемонстрировало изменение экспрессии ЕрСМ, а именно полное отсутствие таковой во всех структурах ткани почки, в том числе в цитоплазме эпителия дистальных извитых канальцев.

По данным проведенной оценки результатов клинического анализа крови групп сравнения, в исследуемой группе наблюдалась устойчивая лейкопения (нейтропения и лимфопения) $1,46 \pm 0,18 \times 10^9/\text{л}$ (рис. 2).

Также по лабораторным данным в моче у ДСМ контрольной группы определяется значительно более высокий уровень Липокалина 2 (Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocain, NGAL) по сравнению с ДСМ исследуемой группы (рис. 3).

Прогностическая и диагностическая ценность NGAL при остром повреждении почек (ОПП) объясняется тем, что он выделяется с мочой после ишемического повреждения почечной паренхимы и по праву считается «почечным тропонином».

Высокий уровень NGAL у ДСМ контрольной группы демонстрирует тубулярные повреждения, которые предшествуют острому повреждению почек.

У 15 (75%) реципиентов почек, полученных от доноров с введением АТГ, наблюдалась немедленная функция трансплантата, в то время как в группе без применения нового протокола – у 10 (50%) реципиентов (табл. 3, рис. 4).

Через 5 лет после трансплантации уровни сывороточного креатинина и мочевины были ниже у реципиентов почек от доноров, которым вводился АТГ (табл. 3, рис. 5 и 6).

У 15 (75%) реципиентов почек, полученных от доноров с введением ПКАТ, наблюдалась немедленная функция трансплантата, в группе сравнения – у 10 (50%) реципиентов. Пятилетняя выживаемость трансплантатов составила 100% ($n = 20$) в груп-

Таблица 3

Оценка функции трансплантата почки у реципиентов двух групп

Assessment of kidney transplant function in two groups of recipients

Характеристика		Контрольная группа (без применения АТГ), $n = 20$	Исследуемая группа (с применением АТГ), $n = 20$	Значение p
Функция трансплантата	Немедленная	10 (50%)	15 (75%)	0,002
	Отсроченная	10 (50%)	5 (25%)	
Креатинин, мкмоль/л (через 5 лет)		$127,0 \pm 6,8$	$101,0 \pm 6,3$	0,07
Мочевина, ммоль/л (через 5 лет)		$8,1 \pm 0,9$	$7,8 \pm 1,1$	0,08

пе ПКАТ, в отличие от 75% ($n = 15$) в группе сравнения. Уровень сывороточного креатинина через 5 лет после трансплантации в среднем у реципиентов почек от ДСМ с использованием ПКАТ – 0,101 ммоль/л и 0,127 ммоль/л – в группе сравнения.

Кривые Каплана–Майера были построены для оценки выживаемости реципиентов и трансплантатов почек исследуемой группы и группы сравнения (рис. 7 и 8).

АТГ, вводимый донорам, может предотвратить последствия ишемически-реперфузионной травмы при трансплантации почки благодаря снижению степени некроза и апоптоза и улучшить почечную

функцию, что объясняется снижением экспрессии провоспалительных медиаторов.

Кроме того, учитывая функции и механизмы регуляции экспрессии белка ЕpСАМ, можно сделать вывод о том, что результаты выполненного нами иммуногистохимического исследования биоптатов трансплантатов почек демонстрируют эффективность применения ПКАТ у ДСМ.

ОБСУЖДЕНИЕ

Существенная проблема трансплантации заключается в возможности использовать органы от ДРК, не ставя под угрозу немедленную функцию и дол-

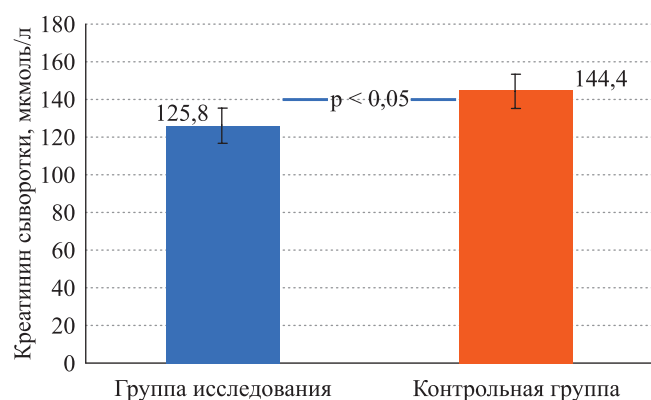


Рис. 5. Уровень сывороточного креатинина у реципиентов через 5 лет после трансплантации почки в исследуемых группах

Fig. 5. Serum creatinine levels in recipients 5 years after kidney transplantation in the study groups

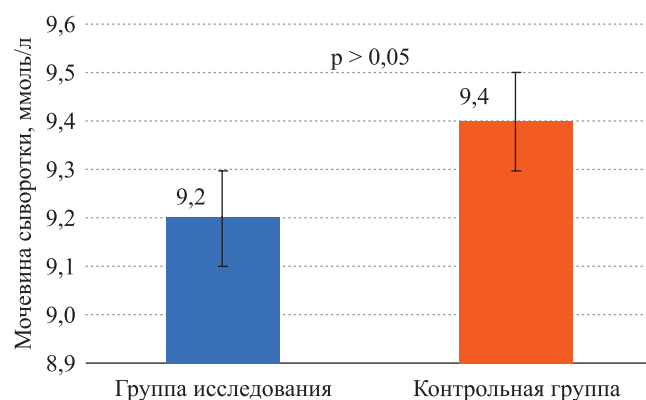


Рис. 6. Уровень сывороточной мочевины у реципиентов через 5 лет после трансплантации в сравниваемых группах

Fig. 6. Serum/plasma urea level in recipients 5 years after transplantation in the compared groups

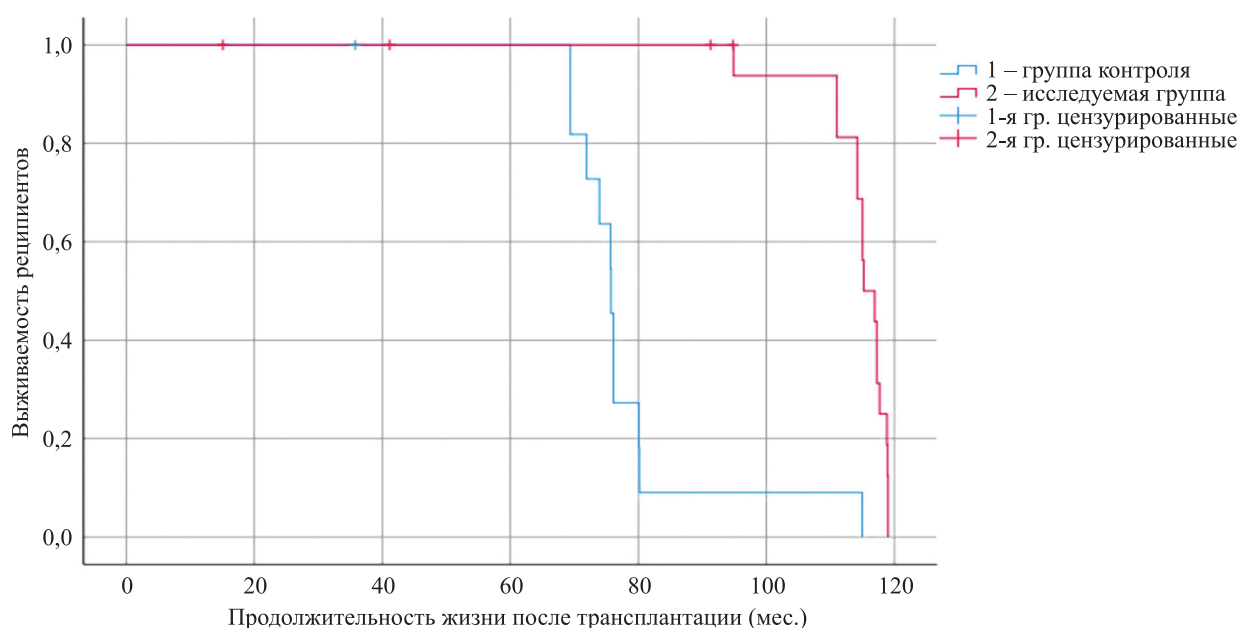


Рис. 7. Оценка выживаемости реципиентов

Fig. 7. Assessment of recipient survival

госрочную выживаемость трансплантата. Поэтому крайне важно оптимизировать состояние каждого органа еще до пересадки, а также свести к минимуму дополнительные повреждения для достижения наилучшей функции и избежать первично не функционирующего трансплантата, отсроченной функции или острого отторжения.

В последнее десятилетие появилось больше информации о сложной патофизиологии ИРП, что открывает двери для новых терапевтических средств, направленных на редукцию последствий ишемии-реперфузии, гипоксии тканей как результата блокирования микроциркуляторного русла рекрутированными лейкоцитами. Но существующие методы коррекции последствий ИРП представлены методами экстракорпоральной фильтрации и целым арсеналом терапевтических опций, которые, однако, все еще остаются компромиссом между желательным эффектом и клинической реальностью. Несмотря на значимое продвижение в изучении процесса, лежащего в основе механизмов нарушения функции почечного трансплантата, методы лечения по-прежнему недостаточны, а результаты остаются неоднозначными.

Впервые в клинической практике трансплантации почек нами была предложена новая оригинальная схема коррекции ИРП у ДСМ. Мы предлагаем новый способ защиты трансплантатов за счет элиминации из кровообращения донора активированных форм нейтрофилов, снижения уровня экспрессии молекул адгезии на эндотелии сосудов почек, что достигается введением ПККАТ в организм ДСМ до эксплантации.

Препарат «Тимоглобулин» является поливалентным лекарственным средством, тропным к множеству антигенов-мишеней, которые можно классифицировать как антигены иммунного ответа, молекулы адгезии и клеточного транспорта. В этом отношении терапевтическое применение препарата ПККАТ у ДСМ, ранее используемого только для лечения реципиентов, представляется эффективным методом улучшения качества почечных трансплантатов за счет редукции лейкоцитарного звена ИРП, что положительно скажется на долгосрочных результатах трансплантации. Однако в доступной нам литературе не встретилось сообщений о применении препарата ПККАТ у ДСМ для улучшения качества трансплантатов почек.

Разработанный протокол включает в себя следующий алгоритм действий при планировании эксплантации почек: после первичного осмотра ДСМ бригадой в составе трансплантационного координатора стационара, анестезиолога-реаниматолога и хирурга КЦОД, получения отрицательных результатов серологического исследования на вирусные инфекционные агенты и принятия решения о начале процедуры диагностики смерти головного мозга препарат «Тимоглобулин» вводился в организм донора в дозировке 8 мг/кг массы тела. Учитывая имеющееся ограничение по времени на введение препарата ДСМ (соответствует временному отрезку, требующемуся на процедуру диагностики смерти мозга у донора), было принято эмпирическое решение о четырехкратном увеличении дозы препарата для достижения мак-

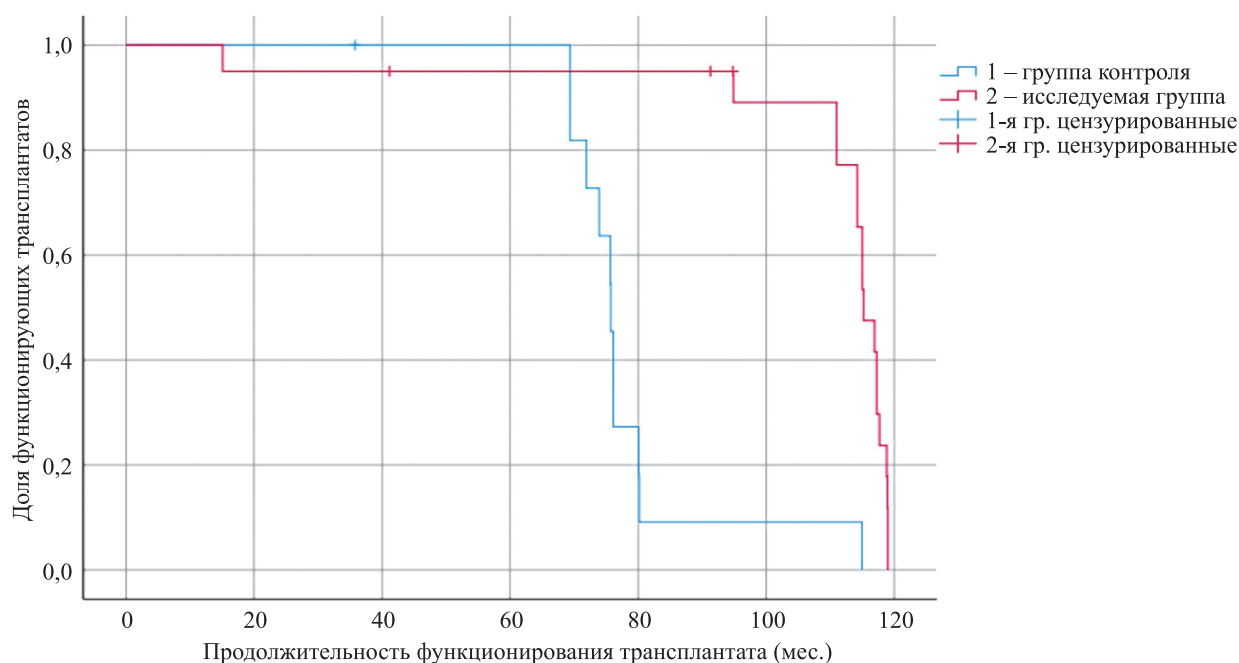


Рис. 8. Оценка выживаемости трансплантатов почек

Fig. 8. Assessment of kidney graft survival

симальной редукции количества мобилизованных лейкоцитов.

Наша гипотеза требовала не только клинической верификации, но и морфологического подтверждения, что трудно осуществить «здесь и сейчас». Было важно сохранить биообразцы от ДСМ и реципиентов для будущих исследований, для чего создан трансплантационный биобанк, представляющий собой коллекцию биологических образцов и связанную с ними информацию в доступной для анализа форме.

Результаты свидетельствуют о перспективности внедрения предложенного протокола в клинические рекомендации, что позволит улучшить качество получаемых трансплантатов, их пригодность к дальнейшей пересадке, увеличить срок функционирования трансплантата за счет предупреждения развития ранней трансплантационной нефропатии, увеличить донорский пул за счет использования ДРК, минимизировать вероятность острого отторжения у реципиентов, уменьшить продолжительность пребывания в стационаре, и следовательно, снизить экономические затраты. Настоящий протокол с применением препарата «Тимоглобулин» демонстрирует необходимость разработки аналогичного отечественного препарата, направленного на снижение лейкоцитарной агрессии в организме ДСМ.

ВЫВОДЫ

Результаты исследования свидетельствуют о перспективности внедрения предложенного протокола в клиническую практику, что позволит улучшить качество получаемых трансплантатов почек, их пригодность к дальнейшей пересадке, увеличить срок функционирования трансплантата за счет элиминации лейкоцитов как фактора развития ИРП, предупреждения ранней трансплантационной нефропатии, увеличения донорского пула за счет использования ДРК. Для ретро- и проспективной оценки трансплантационных органов установлена целесообразность формирования биобанков в центрах донорства и отделениях трансплантации.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- McFarlane PA. Should patients remain on intensive hemodialysis rather than choosing to receive a kidney transplant? *Seminars in Dialysis*. 2010; 23: 516–519. doi: 10.1111/j.1525-139X.2010.00740.x. PMID: 21039877.
- Bahadur MM, Binnani P, Gupta R, Pattewar S. Marginal donor kidney in a marginal recipient: Five year follow-up. *Indian J Nephrol*. 2010; 20 (2): 100–102. doi: 10.4103/0971-4065.65306. PMID: 20835327.
- Barba J, Zudaire J, Robles JE, Rosell D, Berian JM, Pascual I. Complications of kidney transplantation with grafts from expanded criteria donors. *World J Urol*. 2013; 31: 893–899. doi: 10.1007/s00345-012-0831-3. PMID: 22290479.
- Ojo AO, Wolfe RA, Held PJ, Port FK, Schumouder RL. Delayed graft function: risk factors and implications for renal allograft survival. *Transplantation*. 1997; 63: 968–974. doi: 10.1097/00007890-199704150-00011. PMID: 9112349.
- Perico N, Gaspari F, Remuzzi G. Assessing Renal Function by GFR Prediction Equations in Kidney Transplantation. *American Journal of Transplantation*. 2005; 5: 1175–1176. doi: 10.1111/j.1600-6143.2005.00939.x. PMID: 15888019.
- De Vries DK, Lindeman JHN, Ringers J, Reinders MEJ, Rabelink TJ, Schaapherder AFM. Donor brain death predisposes human kidney grafts to a proinflammatory reaction after transplantation. *American Journal of Transplantation*. 2011; 11 (5): 1064–1070. doi: 10.1111/j.1600-6143.2011.03466.x. PMID: 21449948.
- Yarlagadda SG, Coca SG, Formica Jr RN, Poggio ED, Parikh CR. Association between delayed graft function and allograft and patient survival: a systematic review and meta-analysis. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2009; 24 (3): 1039–1047. doi: 10.1093/ndt/gfn667. PMID: 19103734.
- Hashemi P et al. NETosis in ischemic/reperfusion injuries: An organ-based review. *Life Sci*. 2022; 290: 120158. doi: 10.1016/j.lfs.2021.120158. PMID: 34822798.
- Cahilog Z et al. The Role of Neutrophil NETosis in Organ Injury: Novel Inflammatory Cell Death Mechanisms. *Inflammation*. 2020; 43 (6): 2021–2032. doi: 10.1007/s10753-020-01294-x. PMID: 32830308.
- Nakamura K, Kageyama S, Kupiec-Weglinski JW. Innate immunity in ischemia-reperfusion injury and graft rejection. *Curr Opin Organ Transplant*. 2019; 24 (6): 687–693. doi: 10.1097/MOT.0000000000000709. PMID: 31592839.
- Иванов КП, Левкович ЮИ. Изменение микроциркуляции при лейкоцитозе. *Физиол журн*. 1992; 76: 321–326. Ivanov KP, Levkovich JI. Izmenenie mikrocirkuljacii pri lejkocitoze. *Fiziol zhurn*. 1992; 76: 321–326.
- Schofield ZV, Woodruff TM, Halai R, Wu MC, Cooper MA. Neutrophils – a key component of ischemia-reperfusion injury. *Shock*. 2013; 40 (6): 463–70. doi: 10.1097/SHK.0000000000000044. PMID: 24088997.
- Liew PX, Kubes P. The neutrophil's role during health and disease. *Physiological reviews*. 2019; 99 (2): 1223–1248. doi: 10.1152/physrev.00012.2018.
- Carbone F, Bonaventura A, Montecucco F. Neutrophil-Related Oxidants Drive Heart and Brain Remodeling After Ischemia/Reperfusion Injury. *Front Physiol*. 2020; 10: 1587. doi: 10.3389/fphys.2019.01587. PMID: 32116732.
- Tejchman K et al. The Role of Endothelins, IL-18, and NGAL in Kidney Hypothermic Machine Perfusion. *Biomedicines*. 2021; 9 (4): 417. doi: 10.3390/biomedicines9040417. PMID: 33924469.

16. Qi H, Yang S, Zhang L. Neutrophil Extracellular Traps and Endothelial Dysfunction in Atherosclerosis and Thrombosis. *Front Immunol.* 2017; 8: 928. doi: 10.3389/fimmu.2017.00928. PMID: 28824648.
17. Mittal M et al. Neutrophil Activation of Endothelial Cell-Expressed TRPM2 Mediates Transendothelial Neutrophil Migration and Vascular Injury. *Circ Res.* 2017; 121 (9): 1081–1091. doi: 10.1161/circresaha.117.311747. PMID: 28790198.
18. Urisono Y et al. Von Willebrand Factor Aggravates Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury by Promoting Neutrophil Recruitment in Mice. *Thromb Haemost.* 2018; 118 (4): 700–708. doi: 10.1055/s-0038-1636529. PMID: 29618155.
19. Fernández AR, Sánchez-Tarjuelo R, Cravedi P, Ochando J, López-Hoyos M. Review: Ischemia Reperfusion Injury-A Translational Perspective in Organ Transplantation. *Int J Mol Sci.* 2020; 21 (22): 8549. doi: 10.3390/ijms21228549. PMID: 33202744.
20. Trzpis M et al. Expression of EpCAM is up-regulated during regeneration of renal epithelia. *J Pathol.* 2008; 216 (2): 201–208. doi: 10.1002/path.2396. PMID: 18702175.
21. Akhtar AM et al. In vivo quantification of VCAM-1 expression in renal ischemia reperfusion injury using non-invasive magnetic resonance molecular imaging. *PLoS One.* 2010; 5 (9): 34–35. doi: 10.1371/journal.pone.0012800. PMID: 20877722.
22. Hanif Z et al. Role of biobanks in transplantation. *Annals of medicine and surgery.* 2018; 28: 30–33. doi: 10.1016/j.amsu.2018.02.007.

Статья поступила в редакцию 05.07.2022 г.
The article was submitted to the journal on 05.07.2022

УВАЖАЕМЫЕ ЧИТАТЕЛИ!

Подписку на журнал «Вестник трансплантологии и искусственных органов» можно оформить в ближайшем к вам почтовом отделении.

Подписной индекс нашего издания нашего издания в каталоге почты России – **ПН380**



Ф. СП-1	ВЕСТНИК ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ	ПН380 (индекс издания)																								
		количество комплектов																								
на 2023 год по месяцам																										
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th>1</th><th>2</th><th>3</th><th>4</th><th>5</th><th>6</th><th>7</th><th>8</th><th>9</th><th>10</th><th>11</th><th>12</th></tr> <tr> <td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> </table>			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12												
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12															
Куда _____ (почтовый индекс) _____ (адрес) _____																										
Кому _____ (фамилия, инициалы) _____																										

Ф. СП-1	ВЕСТНИК ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ	ПН380 (индекс издания)																								
		количество комплектов																								
на 2023 год по месяцам																										
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th>1</th><th>2</th><th>3</th><th>4</th><th>5</th><th>6</th><th>7</th><th>8</th><th>9</th><th>10</th><th>11</th><th>12</th></tr> <tr> <td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> </table>			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12												
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12															
Куда _____ (почтовый индекс) _____ (адрес) _____																										
Кому _____ (фамилия, инициалы) _____																										