

## ГОМОЦИСТЕИН ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ ДЕТЯМ РАННЕГО ВОЗРАСТА

Шевченко О.П.<sup>1</sup>, Долгов В.В.<sup>2</sup>, Гичкун О.Е.<sup>1,2</sup>, Кунцевич Н.В.<sup>1</sup>,  
Цирульникова О.М.<sup>1</sup>, Готье С.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, ГБОУ ВПО «Первый МГМУ имени И.М. Сеченова», кафедра трансплантологии и искусственных органов, г. Москва

<sup>2</sup> ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования», Минздрава РФ, г. Москва

Исследован уровень гомоцистеина у 99 детей раннего возраста (3–50 мес.) с циррозом печени в исходе врожденных и наследственных заболеваний гепатобилиарной системы. У 27% детей с циррозом печени выявлена умеренная или средняя гипергомоцистеинемия. Уровень гомоцистеина коррелировал с концентрацией растворимой формы лиганда CD40 (sCD40L). Исходно высокий ( $\geq 5,1$  мкмоль/л) уровень гомоцистеина является одним из неблагоприятных факторов, влияющих на функцию трансплантата печени в раннем посттрансплантационном периоде.

*Ключевые слова:* гомоцистеин, трансплантация печени.

## HOMOCYSTEINE AFTER LIVER TRANSPLANTATION IN CHILDREN

Shevchenko O.P.<sup>1</sup>, Dolgov V.V.<sup>2</sup>, Gichkun O.E.<sup>1,2</sup>, Kuncevic N.V.<sup>1</sup>,  
Tsirulnikova O.M.<sup>1</sup>, Gautier S.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Academician V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Department of transplantology and artificial organs

<sup>2</sup> Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow

The research plasma levels of homocysteine (Hcy) in 99 children with congenital and hereditary diseases of hepatobiliary system was performed before liver transplantation. 27% of patients had hyperhomocysteinemia. There was correlation between Hcy levels and sCD40L. High ( $\geq 5.1$   $\mu\text{mol/L}$ ) pretransplant concentration of Hcy is one of the negative factors that affect function of the liver graft in the early post-transplant period.

*Key words:* homocysteine, pediatric liver transplantation.

После трансплантации печени у реципиентов часто выявляется гипергомоцистеинемия – повышение концентрации гомоцистеина в плазме крови [4, 8]. С развитием гипергомоцистеинемии связывают увеличение риска сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений у реципиентов печени, а также у больных с циррозом печени [6].

Печень является центральным органом, регулирующим обмен гомоцистеина и его основного источника метионина [1], поэтому снижение функции

печени может сопровождаться нарушением метаболизма гомоцистеина и повышением его уровня в плазме крови (то есть развитием гипергомоцистеинемии). У пациентов с циррозом печени различной этиологии выраженность гипергомоцистеинемии связана с тяжестью печеночной недостаточности [10]. Одним из возможных механизмов развития гипергомоцистеинемии у больных с циррозом печени является нарушение процессов реметилирования и транссульфирования гомоцистеина в ткани

Статья поступила в редакцию 25.10.12 г.

**Контакты:** Шевченко Ольга Павловна, д. м. н., профессор, зам. директора по научно-исследовательской работе.  
Тел. 8-963-644-96-00, e-mail: transplant2009@mail.ru.

печени вследствие снижения активности ферментов, участвующих в обмене метионина и гомоцистеина [8].

Точные механизмы развития гипергомоцистеинемии у реципиентов печени неизвестны, но на уровень гомоцистеина оказывает влияние ряд факторов: прием иммуносупрессивных препаратов, снижение функции почек, образ жизни (курение), ожирение, наличие сопутствующих заболеваний (сахарный диабет, гипертоническая болезнь, гиперхолестеринемия), дефицит витаминов (фолиевой кислоты, витамина В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub>) и другие [4, 5]. Негативное влияние гипергомоцистеинемии на трансплантат может быть связано с развитием оксидативного стресса, окислительным повреждением белков, жиров, углеводов и ДНК, активацией процессов апоптоза гепатоцитов, приводящих в конечном итоге к фиброзированию ткани трансплантата [7].

Целью настоящей работы явилось изучение содержания гомоцистеина у детей раннего возраста с циррозом печени в исходе врожденных и наследственных заболеваний гепатобилиарной системы и при трансплантации печени.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 99 детей с циррозом печени в исходе врожденных и наследственных заболеваний гепатобилиарной системы, из них 54 девочки и 45 мальчиков, в возрасте от 3 до 50 (12 ± 10) месяцев. Основными заболеваниями, которые привели к развитию терминальной стадии цирроза печени, являлись: атрезия желчевыводящих путей – у 53 пациентов, болезнь Байлера – у 12, синдром Алажилля – у 7, синдром Кароли – у 5, билиарная гипоплазия – у 7 пациентов и у 15 – другие заболевания, среди которых дефицит α1-антитрипсина, синдром Криглера–Найяра I типа, синдром Бадда–Киари, тирозинемия, гликогеноз I типа (болезнь Гирке). Пациентам выполнялась ортотопическая трансплантация левого латерального сектора печени от живого родственного донора, двум пациентам была выполнена split-трансплантация. После трансплантации печени все реципиенты получали 2–3-компонентную иммуносупрессивную терапию, включающую такролимус.

Плановое обследование пациентов включало клиническую оценку состояния больного, общий анализ крови, общий анализ мочи, определение клиренса креатинина, измерение концентрации общего белка, альбумина, активности ферментов аланинаминотрансферазы и аспаргатаминотрансферазы, щелочной фосфатазы, γ-глутамилтрансферазы, содержания билирубина, общего холестерина, глюкозы, мочевины и электролитов, исследование коагулограммы – активированного частичного тром-

бопластинного времени (АЧТВ), протромбинового индекса (ПТИ), концентрации фибриногена, антитромбина III, измерение концентрации такролимуса (в клинико-диагностической лаборатории, зав. – к. м. н. Н.П. Шмерко), бактериологические исследования крови, мочи, отделяемого из зева (в бактериологической лаборатории, зав. – д. м. н. Н.И. Габриэлян). Анализ на вирусные инфекции (цитомегаловирус, ЦМВ; Эпштейна–Барр, EBV; вирусы гепатита С, HCV; гепатита В, HBV) проводили в лаборатории трансплантационной иммунологии, и. о. зав. – д. м. н. Р.Я. Войлокова. ДНК и РНК вирусов определяли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Всем реципиентам печени выполняли ряд инструментальных исследований.

Обследовано также 38 взрослых родственных доноров фрагмента печени, из них 22 мужчины и 16 женщин в возрасте от 18 до 56 (37 ± 19) лет.

Концентрацию гомоцистеина определяли в плазме крови методом конкурентного иммуноферментного анализа с использованием реагентов фирмы Axis-Shield; чувствительность метода – 1,0 мкмоль/л, диапазон измерения – 2,0–50,0 мкмоль/л. Измерение концентрации sCD40L проводили с использованием наборов реагентов eBioscience фирмы Bender MedSystems, диапазон определяемых концентраций составил от 0,03 до 3,98 нг/мл.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием пакета программ Statistica 7.0 и Microsoft Excel 2007. Достоверность различий количественных параметров в двух группах определялась по t-критерию Стьюдента (для признаков с нормальным распределением) и по U-критерию Манна–Уитни (непараметрические данные). Для оценки связи количественных и качественных признаков рассчитывали коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Статистически значимыми считали различия, при которых вероятность ошибки составляла менее 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Средний уровень гомоцистеина у детей с циррозом печени в исходе врожденных и наследственных заболеваний гепатобилиарной системы составил 6,71 ± 6,1 мкмоль/л (медиана – 5,1 мкмоль/л, 25-й перцентиль равен 2,27 мкмоль/л, 75-й перцентиль – 9,07 мкмоль/л). У 27% обследованных пациентов имела место умеренная либо средняя гипергомоцистеинемия, то есть уровень гомоцистеина был выше верхней границы референтных значений для детей раннего возраста (рис. 1).

У доноров печени средний уровень составил 6,34 ± 3,24 мкмоль/л, причем уровень гомоцистеина ни у одного из обследуемых не превышал верхней границы референтных значений для взрослых.

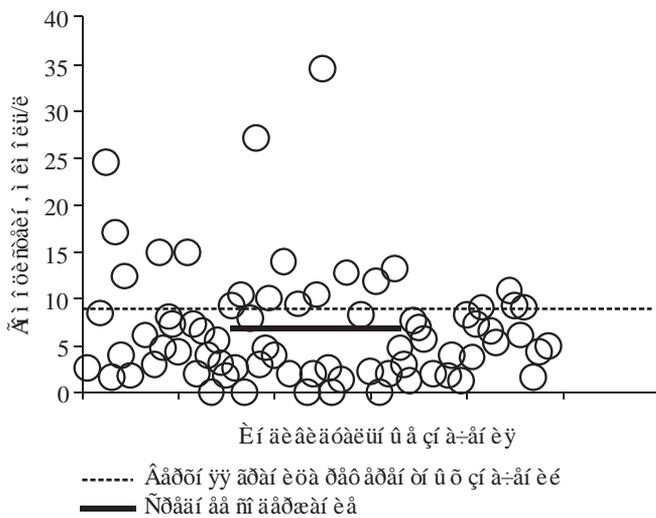


Рис. 1. Концентрация гомоцистеина в плазме крови детей с циррозом печени

Уровень гомоцистеина в плазме крови детей с циррозом печени прямо коррелировал с содержанием растворимой формы лиганда CD40 (sCD40L) ( $r = 0,28, p = 0,01$ ) (рис. 2).

CD40L является компонентом сигнальной системы CD40/CD40L, играющим важную роль не только в стимуляции Т-клеток, но и в активации тромбоцитов [6, 12]. Ранее было показано, что экспрессия CD40L увеличивается при хроническом дуктопеченочном отторжении печени [9], а исходно высокий уровень sCD40L является одним из неблагоприятных факторов, влияющих на функцию трансплантата печени в раннем посттрансплантационном периоде у детей с циррозом печени [3].

У пациентов с низким содержанием гомоцистеина (ниже медианы распределения,  $<5,1$  мкмоль/л) уровень sCD40L составил  $2,8 \pm 2,0$  нг/мл; у пациентов с содержанием гомоцистеина, превышающим медиану распределения этого показателя ( $\geq 5,1$  мкмоль/л), средняя концентрация sCD40L составила  $3,45 \pm 2,45$  нг/мл. Различия между концентрацией sCD40L у пациентов с исходно низким и исходно высоким содержанием гомоцистеина в крови не достигли уровня статистической значимости ( $p = 0,2$ ).

На рис. 3 представлен сравнительный анализ исходного, определяемого на этапе дотрансплантационного обследования, уровня гомоцистеина у реципиентов печени с удовлетворительной в течение всего раннего посттрансплантационного периода (до 90 дней после трансплантации) функцией трансплантата и пациентов с нарушением функции трансплантата, возникшим на фоне преходящих осложнений, таких как инфекции, тромбозы, развитие острого отторжения, и диагностированным на основании клинических и лабораторных данных (повышение уровня билирубина и актив-

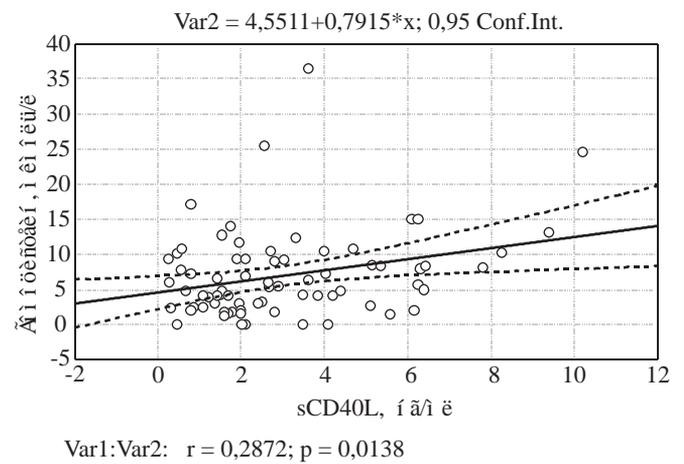


Рис. 2. Зависимость между уровнем sCD40L и концентрацией гомоцистеина в плазме крови детей с врожденными и наследственными заболеваниями гепатобилиарной системы

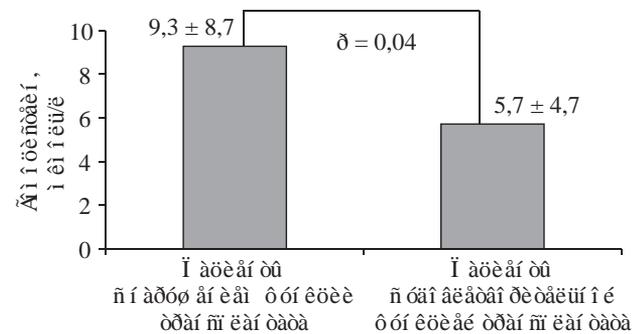


Рис. 3. Уровень гомоцистеина в плазме крови пациентов с различной функцией трансплантата

ности ферментов холестаза и цитолиза). Средний уровень гомоцистеина у пациентов с нормальной функцией трансплантата в течение всего раннего посттрансплантационного периода (75 реципиентов) был достоверно ниже, чем у пациентов, у которых возникали осложнения, сопровождающиеся нарушением функции трансплантата (24 пациента,  $p = 0,04$ ).

У пациентов с исходно низкими (ниже медианы распределения) уровнями sCD40L ( $<2,6$  нг/мл), и гомоцистеина реже (26% от общего числа осложнений) развивались осложнения в посттрансплантационном периоде, сопровождающиеся нарушением функции трансплантата, чем у пациентов с исходно высокими (выше медианы распределения) уровнями обоих маркеров (45% от общего числа осложнений).

На возможность функциональной связи гомоцистеина и сигнальной системы CD40/CD40L указывают результаты исследований Prontera С. и соавт. У пациентов с гипергомоцистеинемией выше уровень sCD40L; обнаружена положительная корреля-

ция между логарифмами концентраций sCD40L и гомоцистеина. В исследованиях на культуре эндотелиальных клеток вен пупочного канатика человека (HUVEC) показано, что повышение уровня гомоцистеина сопровождается увеличением количества клеток, экспрессирующих CD40L, и повышением синтеза молекул адгезии (VCAM-1). Предполагают, что активация сигнальной системы CD40/CD40L является потенциальным патогенетическим механизмом связи гипергомоцистеинемии и повышенного риска развития сердечно-сосудистых заболеваний [11].

По результатам настоящей работы можно сделать следующее заключение. У части (27%) детей раннего возраста с циррозом печени в исходе врожденных и наследственных заболеваний гепатобилиарной системы наблюдается умеренная либо средняя гипергомоцистеинемия. Исходно высокий уровень гомоцистеина является одним из неблагоприятных факторов, влияющих на функцию трансплантата печени в раннем посттрансплантационном периоде.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шевченко О.П. Гомоцистеин и его роль в клинической практике // Клиническая лабораторная диагностика. 2008. № 11. С. 25–32.
2. Шевченко О.П., Орлова О.В., Казаков Э.Н. и др. Клиническое значение растворимого лиганда CD40 у реципиентов сердца // Вестник транспл. и искусств. органов. 2009. № 1. С. 40–45.
3. Шевченко О.П., Цирульникова О.М., Гичкун О.Е. и др. Прогностическое значение растворимой формы лиганда CD40 при трансплантации печени детям с врожденными и наследственными заболеваниями гепатобилиарной системы // Вестник транспл. и искусств. органов. 2012. № 2. С. 15–19.
4. Akoglu B., Wondra K., Caspary W.F., Faust D. Determinants of fasting total serum homocysteine levels in liver transplant recipients // Exp. Clin. Transplant. 2006. Vol. 4 (1). P. 462–466.
5. Akoglu B., Schrott M., Bolouri H. et al. The folic acid metabolite L-5-methyltetrahydrofolate effectively reduces total serum homocysteine level in orthotopic liver transplant recipients: a double-blind placebo-controlled study // Eur. J. Clin. Nutr. 2008. Vol. 62 (6). P. 796–801.
6. Bianchi G., Nicolino F., Passerini G. et al. Plasma total homocysteine and cardiovascular risk in patients submitted to liver transplantation // Liver transplantation. 2006. Vol. 12. P. 105–111.
7. Bosy-Westphal A., Ruschmeyer M., Czech N. et al. Determinants of hyperhomocysteinemia in patients with chronic liver disease and after orthotopic liver transplantation // Am. J. Clin. Nutr. 2003. Vol. 77 (5). P. 1269–1277.
8. Fernández-Miranda C., Sanz M., de la Calle A. Determinants of increased plasma homocysteine in 221 stable liver transplant patients // Clinical Chemistry. 2001. Vol. 47. P. 2037–2040.
9. Gaweco A.S., Wiesner R.H., Yong S. et al. CD40L (CD154) expression in Human liver allograft during chronic ductopenic rejection // Liver transplantation and surgery. 1999. Vol. 5. № 1. P. 1–7.
10. Look M.P., Riezler R., Reichel C. et al. Is the increase in serum cystathionine levels in patients with liver cirrhosis a consequence of impaired homocysteine transsulfuration at level of gamma-cystathionase? // Scand. J. Gastroenterol. 2000. Vol. 35. P. 866–872.
11. Prontera C., Martelli N., Evangelista V. et al. Homocysteine modulates the CD40/CD40L system // J. Am. Coll. Cardiol. 2007. Vol. 49 (22). P. 2182–2190.
12. Van Kooten C., Banchereau J. CD40-CD40 ligand // J. of Leukocyte biology. 2000. Vol. 67. P. 2–17.