

DOI: 10.15825/1995-1191-2016-3-22-38

РИСК РАННЕЙ ДИСФУНКЦИИ ТРАНСПЛАНТАТА ПЕЧЕНИ АССОЦИИРОВАН С ГЕНОТИПОМ ГЕНА TLR-4 В ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ RS913930 И РЕАЛИЗУЕТСЯ ЧЕРЕЗ АКТИВАЦИЮ ЯДЕРНОГО БЕЛКА HMGB1, КЛЕТОК КУПФЕРА И IL-23

А.Е. Щерба¹, А.М. Кустанович², А.И. Киреева³, Д.Ю. Ефимов¹, С.В. Коротков¹, А.Ф. Минов¹, О.А. Лебедь⁴, А.А. Коритко¹, Д.А. Федорук¹, Е.О. Сантоцкий¹, А.М. Дзядзько¹, О.О. Руммо¹

¹ РНПЦ трансплантации органов и тканей, Минск, Республика Беларусь

² РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии, Минск, Республика Беларусь

³ Институт генетики и цитологии НАН Республики Беларусь, Минск, Республика Беларусь

⁴ РНПЦ морфологии, Минск, Республика Беларусь

Цель исследования. Оценить ассоциации генотипов клинически значимых последовательностей нуклеотидов rs11536865, rs913930 и rs5030717 гена TLR-4 с риском возникновения и выраженностью ранней дисфункции трансплантатов печени. **Материалы и методы.** Для достижения поставленной цели было организовано исследование «случай–контроль», включавшее 71 пациента. Критерии включения: трансплантация печени от умершего донора. Критерии исключения: трансплантация от родственного донора, редуцированный графт, возраст реципиента менее 18 лет. **Результаты.** В пределах rs5030717 были выявлены три генотипа: AA (81,6%) и два генотипа с минорной аллелью G – AG (12,6%) и GG (5,6%). В пределах rs913930 были выявлены 3 генотипа: TT (59,1%) и два генотипа с минорной аллелью C – TC (29,5%), CC (11,2%). Изучение rs11536865 не выявило полиморфизма (генотип – GG). Ранняя дисфункция трансплантата печени развилась у 19,7% пациентов, тяжелая ранняя дисфункция трансплантата – 11,2%, септические осложнения – 14%, острое клеточное отторжение – 23,9%. Генотип C/T гена TLR-4 в последовательности SNP rs913930 имеет сильную связь с развитием ранней дисфункции трансплантата (Отношение шансов 4,8:1; $p = 0,047$; 95% ДИ 1–23,4). Пациенты с генотипом донорской печени C/T имели достоверно большую пропорцию HMGB1 (%) положительных гепатоцитов в донорском биоптате, 21 (17–29)%, по сравнению с генотипами CC+TT, 16 (10–19)% (Mann–Whitney $p = 0,01$). Экспрессии CD68 в биоптате печени на этапе донорского забора достоверно выше у носителей гетерозигот по SNP rs913930 (генотип C/T) и SNP rs5030717 (генотип AG), (Mann–Whitney test, $p = 0,03$). Получена достоверная корреляция между экспрессией CD68 в биоптатах печени доноров и уровнем IL-23 в печеночных венах трансплантата через 1 час после реперфузии ($r = 0,62$; $p = 0,04$) и между экспрессией HMGB1 в биоптатах печени доноров и уровнем АСТ через 24 часа после реперфузии ($r = 0,4$; $p = 0,02$). Экспрессия HMGB1 в биоптатах печени доноров была больше у пациентов с РДТ, 21 (20; 29) кл/мм², по сравнению с пациентами без РДТ 16 (12; 18) (Mann–Whitney test, $p = 0,0036$). **Заключение.** Ранняя дисфункция трансплантата имеет генетические предпосылки, обусловленные полиморфизмом гена TLR-4 и реализующиеся через активацию HMGB1, клеток Купфера и IL-23.

Ключевые слова: трансплантация печени, дисфункция трансплантата, полиморфизм генов, ген TLR-4, клетки Купфера.

THE RISK OF EARLY LIVER ALLOGRAFT DYSFUNCTION IS ASSOCIATED WITH THE TLR-4 GENE GENOTYPE IN THE RS913930 SEQUENCE AND IS IMPLEMENTED VIA HMGB1 NUCLEAR PROTEIN, KUPFFER CELLS AND IL-23 ACTIVATION

A.E. Shcherba¹, A.M. Kustanovich², A.I. Kireyeva³, D.Yu. Efimov¹, S.V. Korotkov¹, A.F. Minov¹, O.A. Lebedz⁴, A.A. Koritko¹, D.A. Fedoruk¹, E.O. Santotsky¹, A.M. Dzyadzko¹, O.O. Rummo¹

¹ Republican Scientific and Practical Center for Organ and Tissue Transplantation, Minsk, Republic of Belarus

² Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Minsk, Republic of Belarus

³ Institute of Genetics and Cytology, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

⁴ Republican Scientific and Practical Center of Morphology, Minsk, Republic of Belarus

Aim. To evaluate the associations of genotypes of clinically relevant nucleotides rs11536865, rs913930 and rs5030717 of the TLR-4 gene with the risk of development and severity of early allograft dysfunction after liver transplantation. **Materials and methods.** A case-control study enrolling 71 patients was organized. Inclusion criteria: DBD liver transplantation. Exclusion criteria: living related liver transplantation, reduced graft transplantation, recipient's age fewer than 18. **Results.** Within rs5030717 there were identified three genotypes: AA (81.6%) and two genotypes with the minor G-allele: AG (12.6%) and GG (5.6%). Within rs913930 there identified three genotypes: TT (59.1%) and two genotypes with the minor C-allele: C/T (29.5%) and CC (11.2%). The rs11536865 studying revealed no polymorphism (GG genotype). The early allograft liver dysfunction (EAD) developed in 19.7% of patients, the severe EAD in 11.2% of patients, septic complications in 14%, acute cellular rejection in 23.9% of cases. The C/T genotype of the TLR-4 gene in the SNP rs913930 sequence was closely associated with the EAD development (OR 4.8 to 1; $p = 0.047$; 95% CI 1–23.4). Patients with the donor's liver C/T genotype had a reliably higher proportion (%) of the HMGB1 positive hepatocytes in the donor's biopate, 21 (17–29%) vs the CC+TT genotypes, 16 (10–19%) (Mann–Whitney test, $p = 0.01$). The CD68 expression in the liver biopate at the donor's stage was reliably higher in the carriers of heterozygotes in the SNP rs913930 (C/T genotype) and in the SNP rs5030717 (AG genotype), (Mann–Whitney test, $p = 0.03$). Significant positive correlation between the CD68 expression in the donor's liver biopates and the IL-23 level in the hepatic vein has been determined in an hour after the portal reperfusion ($\rho = 0.62$; $p = 0.04$) as well as between the HMGB1 expression in the donor's liver biopates and the AST level in 24 hours after the reperfusion ($r = 0.4$; $p = 0.02$). The HMGB1 staining in the donor's liver biopates was higher in the EAD patients, 21 (20; 29) cells/mm² in comparison with the patients without EAD, 16 (12; 18) (Mann–Whitney test, $p = 0.0036$). **Conclusion.** The early allograft liver dysfunction is associated with the genetic predisposition caused by the TLR-4 gene polymorphism and is implemented via the HMGB1, Kupffer cells and IL-23 activation.

Key words: liver transplantation, allograft dysfunction, gene polymorphism, TLR-4, Kupffer cells.

ВВЕДЕНИЕ

Использование доноров как со стандартными, так и с расширенными критериями сопряжено с развитием ранней дисфункции трансплантата (РДТ) печени, в основе которого лежит ишемически-реперфузионное повреждение (ИРП) [1]. При этом в настоящее время не существует надежного объективного метода оценки донорского печеночного трансплантата, по которому можно было бы судить о риске возникновения дисфункции трансплантата, других осложнений и летальности после трансплантации печени.

Известен ряд фенотипических и технических факторов риска дисфункции трансплантата со сто-

роны донора (возраст, уровень натриемии, степень жирового гепатоза, гипотензия, длительный период холодовой и тепловой ишемии, длительность ИВЛ у донора более 7 суток, донор с небьющимся сердцем и расщепленный или редуцированный трансплантат) и реципиента (MELD и срочность трансплантации) [1, 2]. Однако из клинического наблюдения известно, что РДТ имеет широкую вариабельность степени выраженности и различный прогноз при прочих равных фенотипических и технических факторах риска. Возможным объяснением является факт того, что ИРП в определенной степени генетически детерминировано и ему соответствует определенный генетический профайл, характерный как

для холодовой консервации, так и реперфузионного повреждения [3].

Повреждение печени вследствие ИРП является типичным примером воздействия DAMP (damage-associated molecular patterns – DAMPs). Известная современная модель DAMP-опосредованного повреждения включает взаимодействие ядерного белка HMGB1 (в результате некроза гепатоцитов) с рецепторами TLR2, TLR4, TLR9 и активацию клеток Купфера, что ведет к секреции IL-23 и других цитокинов активированными макрофагами и эндотелиальными клетками, стимуляции $\gamma\delta$ -Т-клеток на продукцию IL-17 и хемотаксису нейтрофилов в печень [4].

По современным представлениям, ген TLR-4 занимает одну из ключевых позиций в возникновении и акселерации системного воспалительного ответа и ишемически-реперфузионного повреждения [5]. В экспериментальных исследованиях было показано, что блокада активации гена TLR-4 у мышей способствовала ослаблению раннего воспалительного ответа и ИРП после трансплантации печени [6]. Кроме того, TLR-4 провоцирует гиперактивацию эндотелиоцитов при ИРП даже в отсутствие клеток Купфера и является медиатором дисфункции трансплантата печени со стеатозом [7, 8].

В одном из клинических исследований было показано, что в северо-американской популяции минорные алели последовательностей rs11536865, rs913930 и rs5030717 гена TLR-4 ассоциированы с потерей трансплантата печени [9].

На основании этих данных мы выдвигаем гипотезу, что помимо фенотипических и технических (возраст, уровень натриемии, жировой гепатоз, гипотензия и др.) ранняя дисфункция трансплантата имеет генетические предпосылки, обусловленные полиморфизмом гена TLR-4, которые реализуются в результате специфических патологических процессов, характерных для трансплантации, таких как системный воспалительный ответ у умершего донора и ишемически-реперфузионное повреждение у реципиента.

Вследствие этого целью исследования явилась оценка ассоциаций генотипов клинически значимых последовательностей нуклеотидов rs11536865, rs913930 и rs5030717 гена TLR-4 с риском возникновения и выраженностью ранней дисфункции трансплантатов печени.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для выявления клинических ассоциаций с полиморфизмом гена TLR-4 мы провели исследование «случай–контроль» по выявлению ассоциации ранней дисфункции трансплантата с различными генотипами гена TLR-4 в последовательности rs11536865, rs913930 и rs5030717. Исследование

включало 71 пациента с ноября 2013-го по апрель 2015 г. Критерии включения: трансплантация печени от умершего донора со стандартными критериями (уровень АСТ и АЛТ менее 200, жировой гепатоз менее 40%, уровень натриемии до 165 мкколь/л, возраст до 60 лет, применение вазопрессоров допусклось). Критерии исключения: трансплантация от родственного донора, редуцированный графт, возраст реципиента менее 18 лет. Характеристика пациентов представлена в табл. 1.

Таблица 1

Характеристика пациентов

№	Показатель	Медиана (25%; 75%)
1	Возраст пациента, лет	50 (40; 56)
2	MELD	17 (13; 24)
3	Возраст донора, лет	40 (29; 49)
4	Время общей ишемии, мин	480 (400; 530)
5	Время тепловой ишемии, мин	45 (40; 55)
6	Жировой гепатоз, %	10 (3; 20)

Через один час после портальной реперфузии образцы крови левой печеночной вены, полученные путем пункции, были взяты для определения уровня IL-6, 8, 17, 23, TNF- α , MIP-1a и P-селектина. Биопсия печени выполнялась через два часа после портальной реперфузии с целью иммуногистохимической окраски на CD68 и HMGB1.

Для амплификации трех локусов гена TLR-4, в которых расположены полиморфизмы (SNP) rs11536865 (G/C), rs5030717 (A/G), rs913930 (T/C), были подобраны олигонуклеотидные праймеры (табл. 2) [9, 10].

Для получения специфичных ПЦР-продуктов трех исследуемых локусов гена TLR-4 (рис. 1) ПЦР проводили в 20 мкл реакционной смеси, содержащей 1 \times ПЦР буфер, 0,2 mM dNTPs, 0,2 μ L Phusion Green Hot Start II High-Fidelity DNA Polymerase («Thermo scientific», Финляндия), по 0,25 μ M прямого и обратного праймера («Праймтех», Беларусь) и 5 μ L геномной ДНК.

Для проведения ПЦР геномную ДНК выделяли из образцов крови доноров с использованием набора для выделения ДНК «Нуклеосорб» («Праймтех», Беларусь). Для постановки секвенирующей ПЦР использовали Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit («Life technologies», США). Секвенирование проводили на приборе 3500 Genetic Analyzer («Life technologies», США). Анализировали результаты с использованием программы Sequencing Analysis («Life technologies», США).

Наличие ранней послеоперационной дисфункции трансплантата оценивалось по уровню АСТ, АЛТ, билирубина и МНО, а первые 7 дней после операции в соответствии с критериями К.М. Olthoff

Таблица 2

Последовательность олигонуклеотидов для определения полиморфизмов гена TLR-4

SNPs*	OBSERVED*	MAF*	Location**	Primers
rs11536865	C/G	C = 0,0427	5' (-728)	F:CCTCAAAGCCATGAGTCACC R:TCTTTCAAGGCTCTCTCTCCA Size: 247 bp***
rs5030717	A/G	G = 0,0958	intron 2 (-833)	F:TGGTTGGTAAACCTCTGCCTA R:AGGAGGTGAAGTGAACAGCAA Size: 174 bp
rs913930	C/T	C = 0,1769	3' UTR (-7083)	F:TGTGGGTGGTTATTCTCCATT R:CAAATGCTTGGCTTAAGAATCA Size: 227 bp

* – <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>.

** – Donor Polymorphisms of Toll-Like Receptor 4 Associated With Graft Failure in Liver Transplant Recipients / William S. Oetting et al. // Liver transplantation 18: 1399–1405, 2012.

*** – bp (base pair).

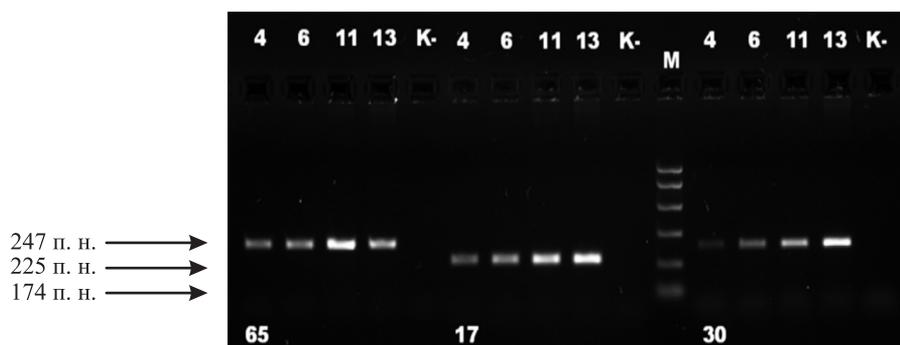


Рис. 1. Специфичные ПЦР-продукты локусов гена TLR-4, в которых расположены SNP: rs11536865 (65) – 247 п. н. (последовательность нуклеотидов); rs5030717 (17) – 174 п. н.; rs913930 (30) – 225 п. н.; K- отрицательный контрольный образец; M – маркер

с соавт. [11]. Тяжелая РДТ была определена по критериям P.R. Salvalaggio et al. [12].

Распределение численных величин признано ненормальным, в этой связи средние величины представлены как медиана с 25% и 75% квартилями. Статистический анализ выполнен с применением программного пакета STATISTICA 8 для Windows. Поиск литературных источников был произведен в электронных базах данных Medscape, Pubmed (NLM) и Cochrane.org с применением программного пакета Endnote®Web для Macintosh.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В пределах rs5030717 были выявлены три генотипа: AA (гомозигота) и два генотипа с минорной аллелью G – AG (гетерозигота) и GG (гомозигота, рис. 2).

В пределах rs913930 были выявлены 3 генотипа: TT (гомозигота) и два генотипа с минорной аллелью C – TC, CC (гетеро- и гомозиготный соответственно, рис. 3).

Изучение rs11536865 не выявило полиморфизма (все образцы имели генотип GG). Клинически значимый вариант полиморфизма – аллель C (минорная аллель) в исследованных образцах не выявлен.

Частота встречаемости генотипов в SNP rs913930 составила 59,1% (42/71) для TT, 29,5% (21/71) – CT и 11,2% (8/71) – CC. В SNP rs5030717 81,6% (58/71) доноров имели генотип AA, 12,6% (9/71) были гетерозиготами AG с минорной аллелью A и 5,6% (4/71) были гомозиготами с минорной аллелью GG.

В целом ранняя дисфункция трансплантата печени развилась у 14 из 71 пациента (19,7%), тяжелая РДТ – у 8 (11,2%), септические осложнения – у 10 (14%), острое клеточное отторжение – у 17 (23,9%). При анализе влияния на риск развития РДТ генотипа C/T по сравнению с генотипами CC+TT было получено, что частота умеренно-тяжелой и тяжелой РДТ была достоверно и значительно больше у пациентов с генотипом донорской печени C/T (23,8%) в последовательности rs913930 по сравнению с гомозиготными генотипами CC+TT (6%; Fisher exact test, p = 0,04). Частота РДТ по критериям Olthof и септических осложнений достоверно не отличалась между группами генотипов C/T и CC+TT (табл. 3).

Регрессионный анализ показал, что генотип C/T гена TLR-4 в последовательности SNP rs913930 имеет сильную связь с развитием ранней дисфункции трансплантата (Отношение шансов 4,8:1; p = 0,047; 95% ДИ 1–23,4).

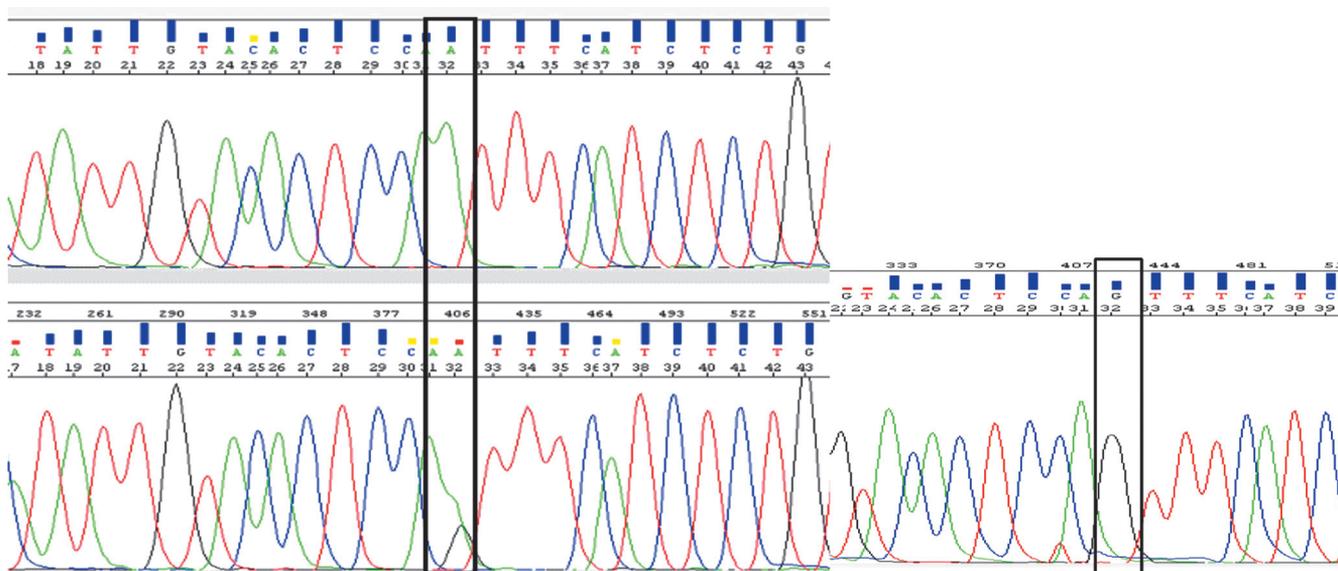


Рис. 2. SNP rs5030717, локализована в intron 2 (–833) TLR4, A>G. Выявлены генотипы AA, AG (слева сверху вниз) и GG (справа)

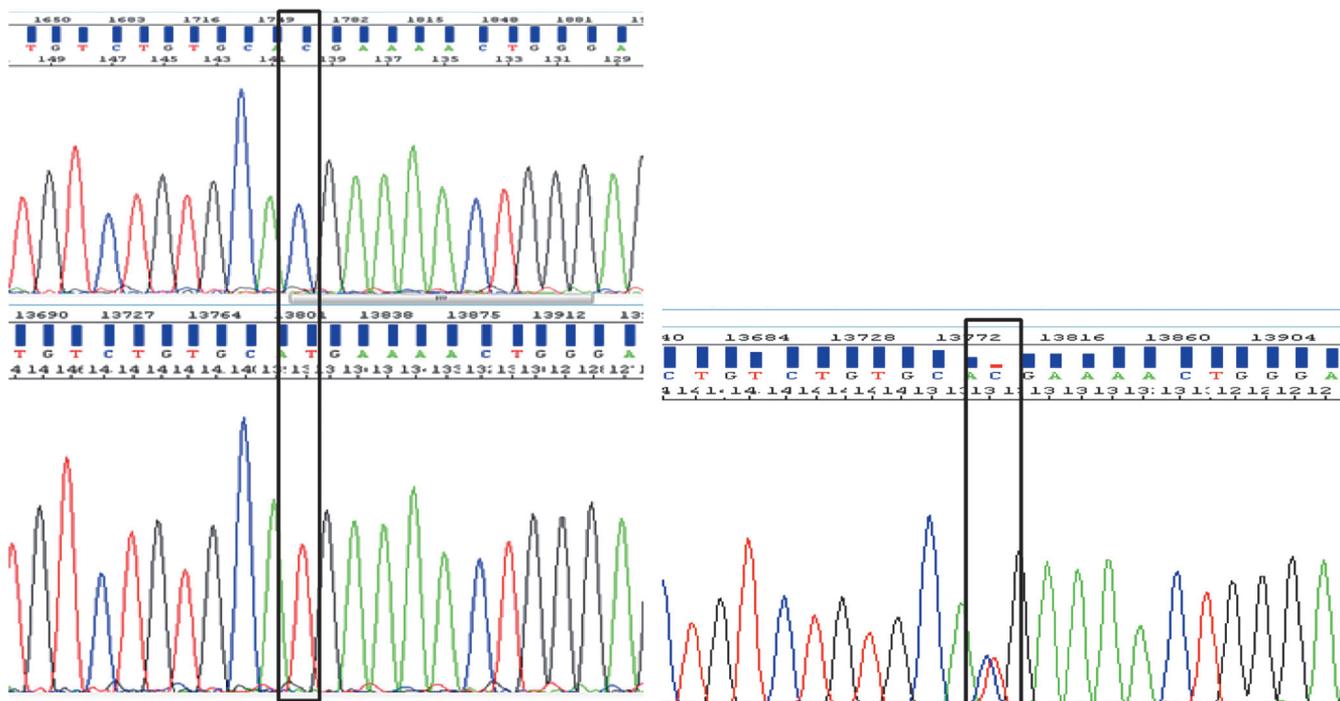


Рис. 3. SNP rs913930, локализована в –7083 за 3' UTR гена TLR4, T>C. Выявлены генотипы TT, CC (слева) и CT (справа)

Таблица 3

Клинические ассоциации полиморфизма гена TLR-4 (C/T против CC+TT) в последовательности rs913930

№		Генотип C/T, n = 21	Генотипы CC+TT, n = 50	p
1	РДТ, n (%)	6 (28,5)	8 (16)	0,3
2	Тяжелая РДТ*, n (%)	5 (23,8)	3 (6)	0,04
3	Септические осложнения после ТП, n (%)	3 (14,2)	7 (14)	0,7

Примечание. РДТ – ранняя дисфункция трансплантата; * – критерии Salvalaggio.

Анализ ассоциаций полиморфизма гена TLR-4 в последовательности SNP rs913930 с иммуногистохимическими (CD68, HMGB1) и серологическими маркерами (VEGF, АСТ, АЛТ, прокальцитонин) показал, что пациенты с генотипом донорской печени С/Т имели достоверно большую пропорцию HMGB1 (%) положительных гепатоцитов в донорском биоптате, 21 (17–29)%, по сравнению с генотипами СС+ТТ, 16 (10–19)% (Mann–Whitney $p = 0,01$; рис. 4).

При анализе влияния на риск развития РДТ генотипов СС+С/Т по сравнению с генотипом ТТ было получено, что частота умеренно-тяжелой и тяжелой РДТ была достоверно и значительно больше у пациентов с генотипами донорской печени СС+С/Т (20,6%) в последовательности rs913930 по сравнению с гомозиготными генотипами ТТ (4,7%; Fisher exact test, $p = 0,04$). Частота РДТ по критериям Olthof и септических осложнений достоверно не отличалась между группами генотипов СС+С/Т и ТТ (табл. 4).

Регрессионный анализ показал, что аллель С гена TLR-4 в последовательности SNP rs913930 (генотипы СС+С/Т) ассоциирована, хотя и погранично недостоверно, с развитием ранней дисфункции трансплантата (отношение шансов 5,2:1; $p = 0,05$; 95% ДИ 0,9–28).

Анализ ассоциаций полиморфизма гена TLR-4 в последовательности SNP rs913930 с иммуногистохимическими (CD68, HMGB1) и серологическими маркерами (VEGF, АСТ, АЛТ, прокальцитонин) показал, что пациенты с генотипом донорской печени СС+С/Т имели достоверно большую пропорцию HMGB1 (%) положительных гепатоцитов в донорском биоптате, 19,5 (14–29)%, по сравнению с генотипами ТТ, 16 (10–19)% (Mann–Whitney $p = 0,02$; рис. 5), а также тенденцию к большей пропорции HMGB1 положительных гепатоцитов в постреперфузионном биоптате (Mann–Whitney; $p = 0,06$).

Сравнение уровней экспрессии (клеток/мм²) CD68 в биоптате печени на этапе донорского забора и после реперфузии показало достоверную разницу количества CD68 положительных клеток в биоптате печени доноров (на этапе забора) носителей гетерозигот по SNP rs913930 (генотип С/Т) и SNP rs5030717 (генотип АG), (Mann–Whitney test, $p = 0,03$; рис. 6).

Анализ влияния на риск развития РДТ полиморфизма гена TLR-4 в последовательности rs5030717 показал, что частота (пропорции пациентов, %) РДТ, тяжелой РДТ, септических осложнений и острого клеточного отторжения достоверно не отличалась между генотипами А/Г+GГ в сравнении с АА и А/Г ($p = 0,7$; 0,8; 0,6; 0,9 соответственно) в сравнении с АА+GГ ($p = 0,8$; 0,3; 0,3; 0,9 соответственно).

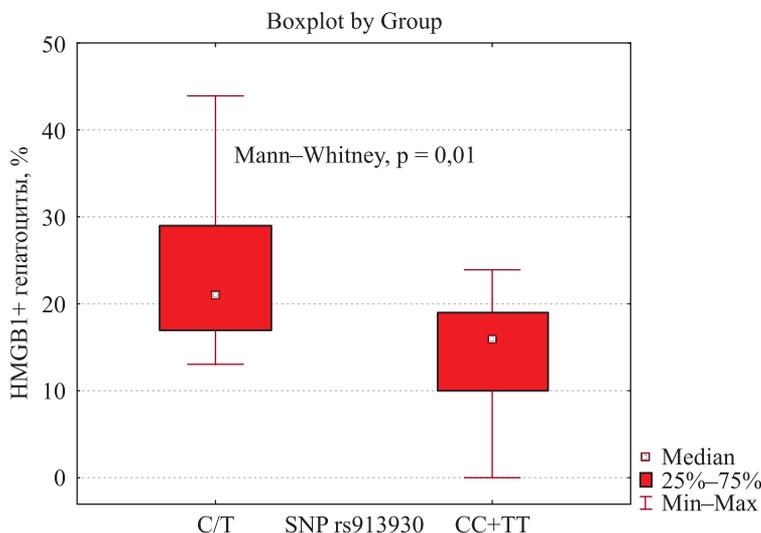


Рис. 4. Отличие HMGB1+ гепатоцитов в биоптате донорской печени с генотипами С/Т и СС+ТТ

Таблица 4

Клинические ассоциации полиморфизма гена TLR-4 (СС+С/Т против ТТ) в последовательности rs913930

№		Генотип СС+С/Т, n = 29	Генотип ТТ, n = 42	p
1	РДТ, n (%)	7 (24,1)	7 (16,6)	0,6
2	Тяжелая РДТ*, n (%)	6 (20,6)	2 (4,7)	0,04
3	Септические осложнения после ТП, n (%)	5 (17,2)	5 (11,9)	0,7

Примечание. РДТ – ранняя дисфункция трансплантата; * – критерии Salvalaggio.

Анализ роли экспрессии CD68 и HMGB1 показал достоверную корреляцию между экспрессией CD68 в биоптатах печени доноров и уровнем IL-23 в печеночных венах трансплантата через 1 час после реперфузии ($\rho = 0,62$; $p = 0,04$) и между экспрессией HMGB1 в биоптатах печени доноров и уровнем АСТ через 24 часа после реперфузии ($r = 0,4$; $p = 0,02$) (рис. 7).

Дальнейший анализ связи ИГХ маркеров активации гепатоцитов и клеток Купфера показал, что экспрессия HMGB1 в биоптатах печени доноров достоверно отличается (Mann–Whitney test, $p = 0,0036$) в группах пациентов с и без РДТ после трансплантации печени и была больше у пациентов с РДТ, 21 (20; 29) кл/мм², по сравнению с пациентами без РДТ, 16 (12; 18).

Микрофотографии срезов донорских биоптатов печени с различной экспрессией HMGB1, трансплантация которых сопровождалась неосложненным течением или осложнилась РДТ, представлены на рис. 8 и 9.

ОБСУЖДЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Данное исследование показало клиническую значимость полиморфизмов гена TLR-4 в возникновении ранней дисфункции трансплантата печени у восточно-европейских пациентов. Из трех изученных последовательностей нуклеотидов rs913930 ассоциирована с развитием ранней дисфункции трансплантата.

На основании полученных данных можно утверждать, что генетические предпосылки реали-

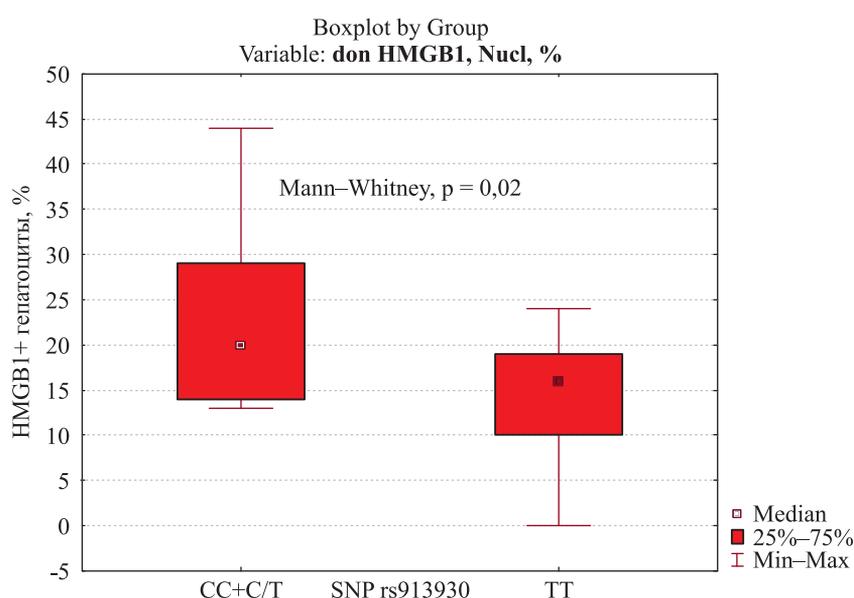


Рис. 5. Отличие HMGB1+ гепатоцитов в биоптате донорской печени с генотипами CC+C/T и TT

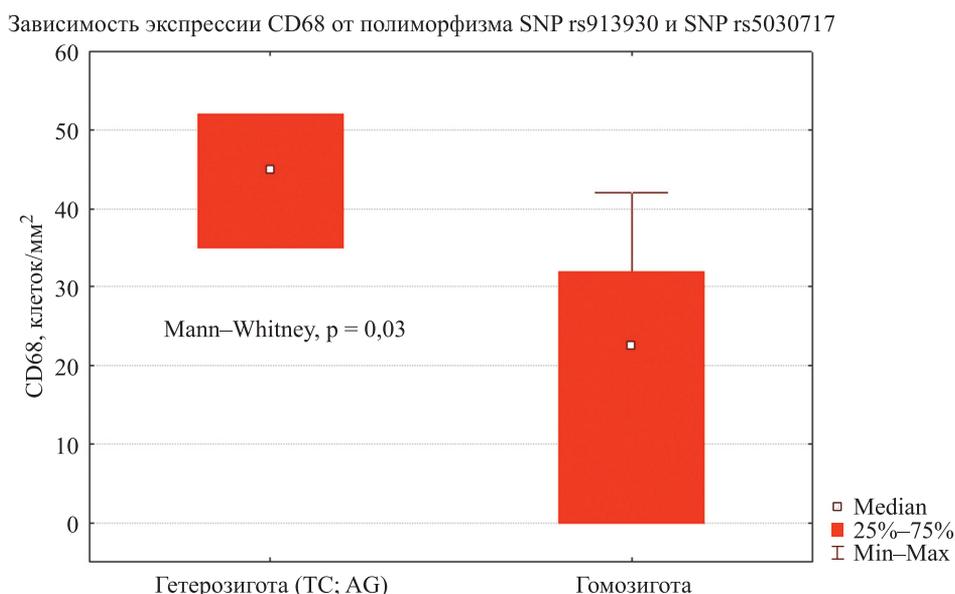


Рис. 6. Экспрессия CD68 в печени доноров – носителей гетерозигот TC и AG по сравнению с гомозиготами

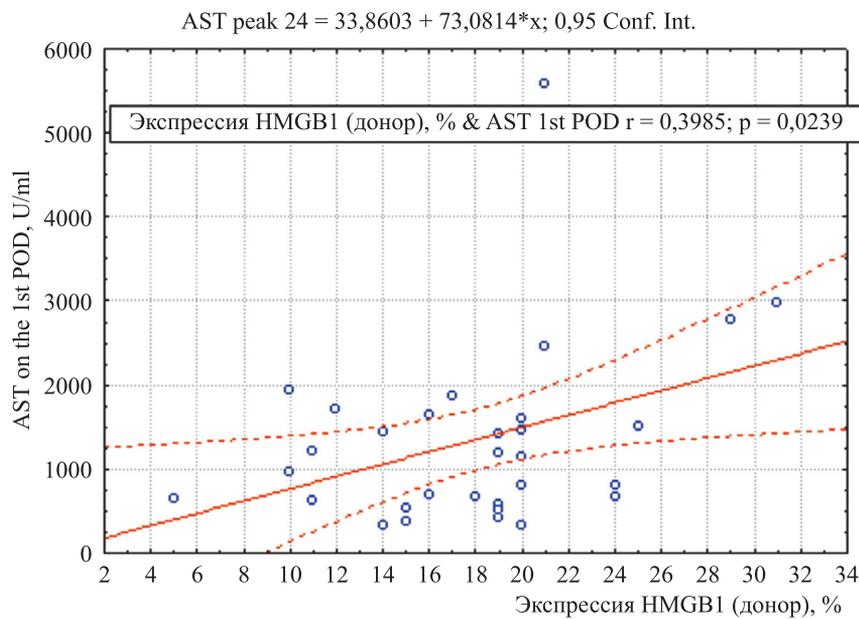


Рис. 7. Корреляция уровня АСТ в первые послеоперационные сутки с экспрессией HMGB-1 в печени донора

зуются только при возникновении тяжелой формы РДТ с уровнем АСТ и АЛТ более 3000 МЕ в первые сутки после реперфузии. Оба генотипа гена TLR-4 в последовательности rs913930, содержащие минорную аллель С, ассоциированы с риском развития тяжелой РДТ.

Мы установили, что реализация генетической детерминированности риска РДТ включает активацию ядерного белка HMGB1, экспрессию клеток Купфера (CD68) в печени доноров и внутриспеченочную секрецию IL-23 уже через час после портальной реперфузии. При этом активация HMGB1, экспрессия CD68 в печени доноров и секреция IL-23 предшествуют клинической картине именно тяжелой РДТ.

Полученные данные подтверждают научную гипотезу о том, что ранняя дисфункция трансплантата может быть обусловлена повреждением печени в результате системного воспалительного ответа на смерть мозга и бактериальную транслокацию у умершего донора, кроме того, помимо фенотипических и технических ранняя дисфункция трансплантата имеет и генетические предпосылки, которые реализуются в результате специфических патологических процессов, характерных для трансплантации.

Критикой данного исследования может выступить небольшое количество наблюдений. Однако выбор соответствующего дизайна исследования и следование требуемым для него правилам (Fisher exact test с последующим регрессионным анализом) позволяет нам делать обоснованные для клинического исследования выводы о том, что генотип гена TLR-4 в последовательности rs913930 ассоциирован с риском ранней дисфункции трансплантата пе-

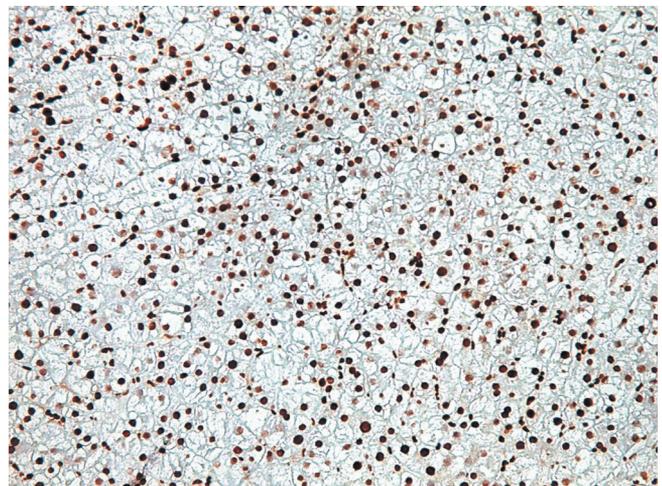


Рис. 8. Экспрессия HMGB1 в донорских биоптатах печени, трансплантация которых не осложнилась РДТ

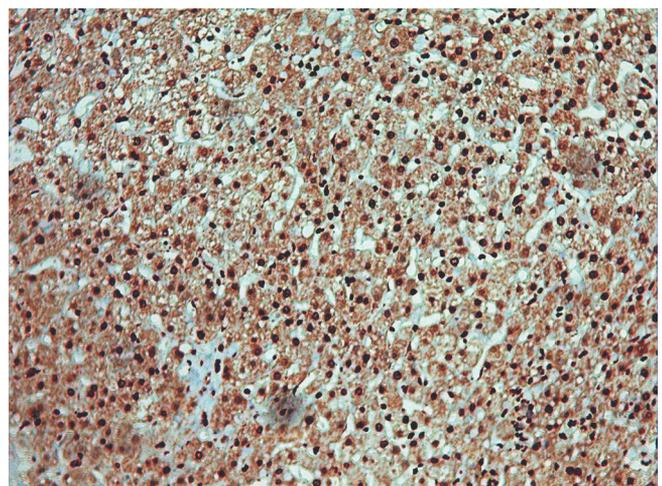


Рис. 9. Экспрессия HMGB1 в донорских биоптатах печени, трансплантация которых осложнилась РДТ

чени и реализуется через активацию ядерного белка HMGB1, клеток Купфера и IL-23.

Полученные в данном исследовании результаты могут лечь в основу объективного метода оценки печеночного трансплантата умершего донора, для установления величины риска возникновения дисфункции трансплантата, других осложнений и летальности после трансплантации печени и тем самым способствовать, путем начала ранней специфической терапии, снижению вероятности возникновения, степени тяжести осложнений, сопровождающих трансплантацию.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Deschenes M. Early allograft dysfunction: Causes, recognition, and management. *Special Issue: Liver Transplantation*. 2013 Nov; 19 (S2): S6–S8.
2. Bezinover D, Kadry Z, McCullough P, McQuillan PM, Uemura T, Welker K et al. Release of cytokines and hemodynamic instability during the reperfusion of a liver graft. *Liver Transplantation*. 2011 Mar; 17 (3): 324–330.
3. Conti A, Scala S, D'Agostino P, Alimenti E, Morelli D, Andria B et al. Wide Gene Expression Profiling of Ischemia-Reperfusion Injury in Human Liver Transplantation. *Liver Transplantation*. 2007; 13: 99–113.
4. Wang X, Sun R, Wei H, Tian Z. High-Mobility Group Box 1 (HMGB1)-Toll-Like Receptor (TLR)4-Interleukin (IL)-23-IL-17A Axis in Drug-Induced Damage-Associated Lethal Hepatitis: Interaction of $\gamma\delta$ -T Cells with Macrophages. *Hepatology*. 2013; 57: 373–384.
5. Howell J, Gow P, Angus P, Visvanathan K. Role of toll-like receptors in liver transplantation. *Liver Transplantation*. 2014 Mar; 20 (3): 270–280.
6. Shen XD, Ke B, Zhai Y, Gao F, Tsuchihashi S, Lassman CR et al. Absence of toll-like receptor 4 (TLR4) signaling in the donor organ reduces ischemia and reperfusion injury in a murine liver transplantation model. *Liver Transplantation*. 2007 Oct; 13 (10): 1435–1434.
7. Ellett JD, Atkinson C, Evans ZP, Amani Z, Balish E, Schmidt MG et al. Toll-like receptor 4 knockout mice are protected from endothelial overactivation in the absence of Kupffer cells after total hepatic ischemia/reperfusion. *Liver Transplantation*. 2011; 17 (9): 1089–1098.
8. Ellett JD, Evans ZP, Atkinson C, Schmidt MG, Schnellmann RG, Chavin KD. Toll-Like Receptor 4 is a Key Mediator of Murine Steatotic Liver Warm Ischemia/Reperfusion Injury. *Liver Transplantation*. 2009; 15 (9): 1101–1109.
9. Oetting WS, Guan W, Schladt DP, Leduc RE, Jacobson PA, Matas AJ et al. Donor Polymorphisms of Toll-Like Receptor 4 Associated With Graft Failure in Liver Transplant Recipients. *Liver Transplantation*. 2012; 18: 1399–1405.
10. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>
11. Olthoff KM, Kulik L, Samstein B, Kaminski M, Abecassis M, Emond J et al. Validation of a current definition of early allograft dysfunction in liver transplant recipients and analysis of risk factors. *Liver Transplantation*. 2010; 16: 943–949.
12. Salvalaggio PR, Felga GE, Afonso RC, Ferraz-Neto BH. Early Allograft Dysfunction and Liver Transplant Outcomes: A Single Center Retrospective Study. *Transplantation Proceedings*. 2012; 44: 2449–2451.

Статья поступила в редакцию 21.07.2016 г.
The article was submitted to the journal on 21.07.2016