

ВЕСТНИК

ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ



Russian Journal
of Transplantology
and Artificial Organs

ТОМ XVI

№4–2014



Высокая доза железа за

ВИЗИТ



- Инновационная химическая структура²
- Восполнение дефицита железа за один визит до 20 мг/кг²
- Большая скорость введения в течение 15-60 минут²
- Нет тест-дозы²
- Высокий профиль безопасности^{2,3}
- Назначение без ограничений²



ООО «Космофарм»,
107076, г. Москва,
ул. Стромынка, д.19, корп. 2
Тел. +7(495) 644-0031
Факс +7 (495) 644-0032
E-mail: office@cosmopharm.ru

ВЕСТНИК ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ



ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ
ОРГАНИЗАЦИЯ ТРАНСПЛАНТОЛОГОВ
«РОССИЙСКОЕ ТРАНСПЛАНТОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО»

2014. Том XVI. № 4

Научно-практический журнал основан в 1999 г.
Регистр. № 018616

Главный редактор – **Готье С.В.**, академик РАН
Ответственный секретарь – **Миронков Б.А.**
Заведующая редакцией – **Яновская Е.В.**

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Гранов Д.А. (Санкт-Петербург, Россия)
Захаревич В.М. (Москва, Россия)
Ильинский И.М. (Москва, Россия)
Иткин Г.П. (Москва, Россия)
Каличинский П. (Варшава, Польша)
Колсанов А.В. (Самара, Россия)
Массард Ж. (Страсбург, Франция)
Минина М.Г. (Москва, Россия)
Мойсюк Я.Г. (Москва, Россия)
Онищенко Н.А. (Москва, Россия)
Островский Ю.П. (Минск, Беларусь)
Пак Ки Донг (Сеул, Южная Корея)
Перлин Д.В. (Волгоград, Россия)
Поз Я.Л. (Москва, Россия)
Попцов В.Н. (Москва, Россия)
Резник О.Н. (Санкт-Петербург, Россия)
Сайтгареев Р.Ш. (Москва, Россия)
Севастьянов В.И. (Москва, Россия)
Семеновский М.А. (Москва, Россия)
Томилина Н.А. (Москва, Россия)
Цирульников О.М. (Москва, Россия)
Чжао А.В. (Москва, Россия)
Шевченко А.О. (Москва, Россия)
Шевченко О.П. (Москва, Россия)
Шумаков Д.В. (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Багненко С.Ф. (Санкт-Петербург, Россия)
Баранов А.А. (Москва, Россия)
Барбараш Л.С. (Кемерово, Россия)
Бокерия Л.А. (Москва, Россия)
Ватазин А.В. (Москва, Россия)
Галеев Р.Х. (Казань, Россия)
Гальперин Э.И. (Москва, Россия)
Гранов А.М. (Санкт-Петербург, Россия)
Данович Г. (Лос-Анджелес, США)
Завершинский Ю.А. (Екатеринбург, Россия)
Караськов А.М. (Новосибирск, Россия)
Порханов В.А. (Краснодар, Россия)
Рошаль Л.М. (Москва, Россия)
Руммо О.О. (Минск, Беларусь)
Сухих Г.Т. (Москва, Россия)
Хубутия М.Ш. (Москва, Россия)
Чехонин В.П. (Москва, Россия)
Чучалин А.Г. (Москва, Россия)
Шляхто Е.В. (Санкт-Петербург, Россия)
Шраер Т.И. (Кемерово, Россия)
Яблонский П.К. (Санкт-Петербург, Россия)

Журнал включен ВАК РФ в перечень ведущих рецензируемых научных изданий, выпускаемых в Российской Федерации

ISSN 1995-1191

Адрес для корреспонденции:
Россия, 123182, Москва, ул. Щукинская, 1
Тел./факс +7 (499) 193 87 62
E-mail: vestniktranspl@gmail.com
Научная электронная библиотека: <http://elibrary.ru>

VESTNIK TRANSPLANTOLOGII I ISKUSSTVENNYKH ORGANOV RUSSIAN JOURNAL OF TRANSPLANTOLOGY AND ARTIFICIAL ORGANS

ALL-RUSSIAN PUBLIC ORGANIZATION
OF TRANSPLANTOLOGISTS
“RUSSIAN TRANSPLANT SOCIETY”

2014. Vol. XVI. № 4

Scientific and Practical Journal was founded in 1999
Reg. № 018616

Editor-in-Chief – **Gautier S.V.**, academician of RAS
Executive Editor – **Mironkov B.L.**
Managing Editor – **Yanovskaya E.V.**

EDITORIAL BOARD

Granov D.A. (Saint Petersburg, Russia)
Zakharevich V.M. (Moscow, Russia)
Ilyinsky I.M. (Moscow, Russia)
Itkin G.P. (Moscow, Russia)
Kaliciński P. (Warsaw, Poland)
Kolsanov A.V. (Samara, Russia)
Massard G. (Strasbourg, France)
Minina M.G. (Moscow, Russia)
Moysyuk Y.G. (Moscow, Russia)
Onischenko N.A. (Moscow, Russia)
Ostrovsky Yu.P. (Minsk, Belarus)
Park Ki Dong (Seoul, South Korea)
Perlin D.V. (Volgograd, Russia)
Poz I.L. (Moscow, Russia)
Poptsov V.N. (Moscow, Russia)
Reznik O.N. (Saint Petersburg, Russia)
Saitgareev R.Sh. (Moscow, Russia)
Sevastianov V.I. (Moscow, Russia)
Semenovsky M.L. (Moscow, Russia)
Tomilina N.A. (Moscow, Russia)
Tsiroulnikova O.M. (Moscow, Russia)
Chzhao A.V. (Moscow, Russia)
Shevchenko A.O. (Moscow, Russia)
Shevchenko O.P. (Moscow, Russia)
Shumakov D.V. (Moscow, Russia)

EDITORIAL COUNCIL

Bagnenko S.F. (Saint Petersburg, Russia)
Baranov A.A. (Moscow, Russia)
Barbarash L.S. (Kemerovo, Russia)
Bokeriya L.A. (Moscow, Russia)
Vatazin A.V. (Moscow, Russia)
Galeev R.H. (Kazan, Russia)
Galperin E.I. (Moscow, Russia)
Granov A.M. (Saint Petersburg, Russia)
Danovich G. (Los Angeles, USA)
Zavershinsky Yu.A. (Ekaterinburg, Russia)
Karaskov A.M. (Novosibirsk, Russia)
Porkhanov V.A. (Krasnodar, Russia)
Roshal L.M. (Moscow, Russia)
Rummo O.O. (Minsk, Belarus)
Sukhih G.T. (Moscow, Russia)
Khubutiya M.Sh. (Moscow, Russia)
Chekhnin V.P. (Moscow, Russia)
Tchuchalin A.G. (Moscow, Russia)
Shliakhto E.V. (Saint Petersburg, Russia)
Shraer T.I. (Kemerovo, Russia)
Yablonsky P.K. (Saint Petersburg, Russia)

The Journal is included by VAK RF in the list of leading peer-reviewed scientific editions, published in the Russian Federation

Address for correspondence:
1, Shchukinskaya st., Moscow 123182, Russia
Tel./Fax +7 (499) 193 87 62
E-mail: vestniktranspl@gmail.com
Scientific eLibrary: <http://elibrary.ru>

СОДЕРЖАНИЕ

СТРАНИЦА ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ОРГАНОВ

Клиническая эффективность реваскуляризации миокарда при васкулопатии сердечного трансплантата

Миронков Б.Л., Честухин В.В., Тюняева И.Ю., Рядовой И.Г., Остроумов Е.Н., Шевченко А.О., Миронков А.Б., Кормер А.Я.

Оценка качества жизни пациентов с трансплантированным сердцем

Шевченко А.О., Халилулин Т.А., Миронков Б.Л., Саитгареев Р.Ш., Захаревич В.М., Кормер А.Я., Муминов И.И., Готье С.В.

Отбор реципиентов для трансплантации сердца с учетом срочности

Суджаева О.А., Давидович М.И., Суджаева С.Г., Островский Ю.П.

Трансформирующий фактор роста $\beta 1$ при трансплантации печени детям раннего возраста

Курабекова Р.М., Шевченко О.П., Цирульников О.М., Цирульникова И.Е., Олефиренко Г.А., Готье С.В.

Взаимосвязь объемной скорости кровотока по печеночной артерии и состояния микроциркуляторного русла трансплантированной печени после ее реваскуляризации

Гранов Д.А., Тилеубергенов И.И., Шаповал С.В., Майстренко Д.Н., Пожарисский К.М., Кудайбергенова А.Г., Боровик В.В., Руткин И.О.

Титрование изоагглютининов с использованием современных гелевых технологий при АВО-несовместимых трансплантациях

Порунова А.К., Морозова В.В., Цирульников И.Е., Цирульникова О.М., Готье С.В.

Возбудители бактериемий и микробиота кишечника у реципиентов донорской печени

Габриэлян Н.И., Горская Е.М., Драпкина И.В., Спирина Т.С., Цирульникова О.М.

Улучшение результатов трансплантации почки

Столяр А.Г., Будкар Л.Н., Климушева Н.Ф., Лесняк О.М.

ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ

Оценка состояния аортального клапана при механической поддержке кровообращения с использованием математической модели

Быков И.В., Иткин Г.П.

РЕГЕНЕРАТИВНАЯ МЕДИЦИНА И КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

Клиническая эффективность высокодозной иммуносупрессивной терапии с трансплантацией кроветворных стволовых клеток при рассеянном склерозе

Федоренко Д.А., Мельниченко В.Я., Ионова Т.И., Ярошенко Е.Б.

Эффект нитроглицерина на пролиферативный и миграционный потенциал мононуклеарных клеток периферической крови

Бондаренко Н.А., Лыков А.П., Ким И.И., Повещенко О.В., Повещенко А.Ф., Покушалов Е.А., Романов А.Б., Коненков В.И., Караськов А.М.

CONTENTS

EDITORIAL

ORGAN TRANSPLANTATION

5 Clinic efficiency of myocardial revascularization for cardiac allograft vasculopathy

Mironkov B.L., Chestukhin V.V., Tyunyaeva I.Yu., Ryadovoy I.G., Ostroumov E.N., Shevchenko A.O., Mironkov A.B., Kormer A.Ya.

11 Quality of life assessment in cardiac transplant recipients

Shevchenko A.O., Khalilulin T.A., Mironkov B.L., Saitgareev R.Sh., Zakharevich V.M., Kormer A.Ya., Muminov I.I., Gautier S.V.

17 Selection of recipients for heart transplantation based on urgency status

Sujayeva V.A., Davidovitch M.I., Sudzhaeva S.G., Ostrovsky Y.P.

27 Transforming growth factor $\beta 1$ in children of early age with liver transplantation

Kurabekova R.M., Shevchenko O.P., Tsirolnikova O.M., Tsirolnikova I.E., Olefirenko G.A., Gautier S.V.

33 Correlation of volume blood circulation in the hepatic artery and the state of microcirculatory bloodstream of the transplanted liver after its revascularization

Granov D.A., Tileubergenov I.I., Shapoval S.V., Maystrenko D.N., Pozharissky K.M., Kudaybergenova A.G., Borovik V.V., Rutkin I.O.

40 Titration method of ABO antibodies with the use of modern gel technology in ABO-incompatible transplantation

Porunova A.K., Morozova V.V., Tsirolnikova I.E., Tsirolnikova O.M., Gautier S.V.

45 Causative agent of bacteremia and intestinal microbiota in recipients of donor liver

Gabrielyan N.I., Gorskaya E.M., Drapkina I.V., Spirina T.S., Tsirolnikova O.M.

55 Improvement of results of kidney transplantation

Stolyar A.G., Budkar L.N., Klimusheva N.F., Lesnjak O.M.

ARTIFICIAL ORGANS

62 The mathematical modeling estimation of the aortic valve state during mechanical circulatory support

Bykov I.V., Itkin G.P.

REGENERATIVE MEDICINE AND CELL TECHNOLOGIES

68 Clinical effectiveness of high-dose immunosuppressive therapy with autologous hematopoietic stem cell transplantation in multiple sclerosis patients

Fedorenko D.A., Melnichenko V.Ya., Ionova T.I., Yaroshenko E.B.

72 The effects of nitroglycerin on the proliferative and migratory potential of peripheral blood mononuclear cells

Bondarenko N.A., Lykov A.P., Kim I.I., Poveschenko O.V., Poveschenko A.F., Pokushalov E.A., Romanov A.B., Konenkov V.I., Karaskov A.M.

Результаты оптимизации процессов репаративной регенерации нижней челюсти и височно-нижнечелюстного сустава матриксами из никелида титана (Экспериментальное исследование)

Дюрягин Н.М., Степанов С.С., Семченко В.В., Гюнтер В.Э., Дюрягина Е.Н.

Определение стабильности трансдермальной терапевтической системы местного анестетика бромokaина

Рыжикова В.А., Кузнецова Е.Г., Белов В.Ю., Саломатина Л.А., Севастьянов В.И.

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

Трансплантация сердца у пациентки с посттравматической аневризмой легочной артерии

Гордеев М.Л., Николаев Г.В., Баутин А.Е., Кашерининов И.Ю., Даценко С.В., Ташиханов Д.М., Яковлев А.С., Наймушин А.В., Малая Е.Я., Рубинчик В.Е., Сухова И.В., Федотов П.А.

Эффективная медикаментозная коррекция острой правожелудочковой недостаточности у реципиента с пограничной легочной гипертензией после ортотопической трансплантации сердца

Чернявский А.М., Доронин Д.В., Фомичев А.В., Дерягин М.Н.

Трансплантация левой доли печени от АВ0-несовместимого родственного донора с транспозицией внутренних органов (situs inversus)

Готье С.В., Цирульников О.М., Ахаладзе Д.Г., Монахов А.Р., Хизроев Х.М., Цирульникова И.Е., Мещеряков С.В., Джанбеков Т.А., Саранов Г.А., Абрамова Н.Н.

Трансплантация аллогенной почки пациенту с гемофилией В

Пурло Н.В., Ахметшин Р.Б., Буланов А.Ю., Лихачева Е.А., Бирюкова Л.С.

ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ

Этиология, патогенез и морфология эффекта Quilty

Алексеева Л.С., Ильинский И.М.

Оценка возможности применения системы экстракорпорального газообмена (Hemolung) в педиатрии

Мусин Е.А., Буланин Д.С., Джеффрис Р.Дж., Жумадилов Ж.Ш., Олжаев Ф.С., Федерспил В.Дж.

ДИСКУССИИ

Трансплантация жировой ткани с целью заместительной терапии

Абламунц В.Г., Клебанов С.Э.

ЮБИЛЕИ

Поздравляем Лео Антоновича Бокерия

ИНФОРМАЦИЯ

О подготовке научных медицинских кадров в ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Требования к публикациям
Перечень материалов, опубликованных в 2014 году в журнале «Вестник трансплантологии и искусственных органов»

78 Optimization results of temporomandibular reparative regeneration by nitinol matrices (Experimental study)

Dyuryagin N.M., Stepanov S.S., Semchenko V.V., Gunter V.E., Dyuryagina E.N.

89 Determination of the stability of a local anesthetic bromokain transdermal therapeutic system

Ryzhikova V.A., Kuznetsova E.G., Belov V.Yu., Salomatina L.A., Sevastianov V.I.

CASE REPORTS

96 Heart transplantation in patient with post-rupture pseudoaneurysm of segmental branch of pulmonary artery

Gordeev M.L., Nikolaev G.V., Bautin A.E., Kasherininov I.Yu., Datsenko S.V., Tashkhanov D.M., Iakovlev A.S., Naimushin A.V., Malaya E.Ya., Rubinchik V.E., Sukhova I.V., Fedotov P.A.

101 Successful medication therapy of acute right ventricle insufficiency in recipient with significant pulmonary hypertension after heart transplantation

Chernyavskiy A.M., Doronin D.V., Fomichev A.V., Deryagin M.N.

106 Left lobe liver transplantation from AB0-incompatible living donor with situs inversus

Gautier S.V., Tsiroulnikova O.M., Akhaladze D.G., Monakhov A.R., Khizroev Kh.M., Tsiroulnikova I.E., Meshcheryakov S.V., Dzhanbekov T.A., Saranov G.A., Abramova N.N.

111 Renal allogeneic transplantation in patient with haemophilia B

Purlo N.V., Achmetshin R.B., Bulanov A.J., Likhacheva E.A., Birjukova L.S.

LITERATURE REVIEWS

117 Etiology, pathogenesis and morphology of the Quilty effect

Alexeeva L.S., Iljinsky I.M.

125/125* Evaluation of extracorporeal gas exchange device Hemolung for potential application in pediatric practice

Mussin Y.A., Bulanin D.S., Jeffries R.G., Zhumadilov Zh.Sh., Olzhayev F.S., Federspiel W.J.

DISCUSSIONS

135 Transplantation of adipose tissue as a replacement therapy

Ablamunits V.G., Klebanov S.E.

ANNIVERSARY

144 Congratulations to Leo Antonovich Bokeria

INFORMATION

145 On scientific and medical personnel training at V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs

146 Instructions to authors

151 List of articles, published in 2014 in «Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs»

Глубокоуважаемые коллеги!



Вашему вниманию представлен четвертый выпуск нашего журнала за 2014 год. «Вестник трансплантологии и искусственных органов» издается ровно 15 лет, с 1999 года. Впрочем, реальная история журнала началась еще раньше. 20 лет назад, в 1994 году, по инициативе и под руководством академика В.И. Шумакова был начат выпуск журнала «Трансплантология и искусственные органы», преемником и продолжателем которого является наш «Вестник». Валерий Иванович Шумаков был главным редактором журнала со дня основания до 2008 года.

В журнале публикуются обзорные и оригинальные статьи по фундаментальным и прикладным проблемам трансплантологии, регенеративной медицины; работы, посвященные разработке, экспериментальному изучению и клиническому применению искусственных органов, биогибридных систем и материалов; информация о наиболее значимых научно-практических событиях в этой области.

Журнал «Вестник трансплантологии и искусственных органов» является единственным специализированным изданием, в котором могут быть опубликованы работы по специальности 14.00.41 – трансплантология и искус-

ственные органы (медицинские и биологические науки). Однако реально он охватывает значительно более широкое информационное поле. Особенностью нашей специальности является ее комплексность: трансплантология и наука об искусственных органах объединяют клинические (кардиология, нефрология, гастроэнтерология, хирургия, и др.), медико-биологические (иммунология, патофизиология и др.) и даже медико-технические дисциплины. В то же время ни одна из перечисленных специальностей в полной мере не может отражать сущность и специфику научных работ по трансплантологии и искусственным органам, что и объясняет уникальность настоящего издания.

Наш «Вестник» входит в действующий в настоящее время Перечень рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендуемых ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук, с момента формирования последнего.

Много сделано для повышения статуса журнала и качества публикуемых материалов: расширен состав редакционной коллегии, улучшен дизайн издания, повышены требования к порядку рецензирования. Существенно улучшились наукометрические показатели. Наличие цифрового идентификатора DOI придает журналу более высокий статус, повышает возможность доступа и получения корректной информации о каждой статье.

Мы с оптимизмом смотрим в будущее. От имени членов редколлегии, редакционного совета, сотрудников редакции желаю авторам и читателям нашего журнала творческих успехов в наступающем 2015 году.

*С уважением
главный редактор журнала,
директор ФГБУ «Федеральный научный центр
трансплантологии и искусственных органов
имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России,
главный специалист трансплантолог Минздрава России,
председатель Российского трансплантологического общества,
академик РАН*

С.В. Гомье

DOI: 10.15825/1995-1191-2014-4-5-10

КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ РЕВАСКУЛЯРИЗАЦИИ МИОКАРДА ПРИ ВАСКУЛОПАТИИ СЕРДЕЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА

Миронков Б.Л.¹, Честухин В.В.¹, Тюняева И.Ю.¹, Рядовой И.Г.¹, Остроумов Е.Н.¹, Шевченко А.О.^{1, 2}, Миронков А.Б.², Кормер А.Я.¹

¹ ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

² ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва Российская Федерация

Цель исследования – показать патогенетическую значимость реваскуляризации миокарда и количественно оценить эффективность лечения васкулопатии сердечного трансплантата. **Материалы и методы.** 30 процедур коронарной ангиопластики выполнили 15 реципиентам сердечного трансплантата (8 мужчин и 7 женщин, возраст от 18 до 56 лет), у которых с помощью коронарографии в сроки от 1,5 до 12 лет после трансплантации сердца была диагностирована болезнь коронарных артерий пересаженного сердца (БКАПС). Определяли толерантность к физической нагрузке, объемные характеристики левого желудочка и оценивали диастолическую функцию сердца исходно и через неделю после реваскуляризации. Средний срок наблюдения после стентирования составил $35,5 \pm 5,5$ месяца. **Результаты.** Увеличилась толерантность к физической нагрузке за счет мощности выполняемой нагрузки (с $76,6 \pm 8,5$ до $116,9 \pm 9,6$ Вт), ее продолжительности (с $5,4 \pm 2,2$ до $8,5 \pm 4,1$ мин) и величины двойного произведения (со 198 ± 15 до 247 ± 24 ; $p < 0,05$). Происходило восстановление показателей диастолической функции (Ve/Va с $0,57 \pm 0,18$ до $1,15 \pm 0,2$; $p < 0,05$). В зависимости от возраста пациентов значимо различались сроки развития васкулопатии, частота и причины повторных вмешательств. В группе пациентов моложе 30 лет (7 пациентов) интервал времени между трансплантацией сердца и развитием васкулопатии вдвое короче, чем в возрастной группе старше 45 лет (8 пациентов). Молодые пациенты проявляли выраженную склонность к развитию рестенозов в стентах (20 коронарных вмешательств). **Заключение.** Динамика показателей функционального состояния левого желудочка сердца в результате реваскуляризации подтверждает ведущую роль ишемии миокарда в патогенезе страдания трансплантата при васкулопатии. Значимым фактором, влияющим на отдаленный результат коронарного вмешательства, является возраст пациента.

Ключевые слова: васкулопатия трансплантата, коронарная ангиопластика, рестеноз стента.

CLINIC EFFICIENCY OF MYOCARDIAL REVASCULARIZATION FOR CARDIAC ALLOGRAFT VASCULOPATHY

Mironkov B.L.¹, Chestukhin V.V.¹, Tyunyaeva I.Yu.¹, Ryadovoy I.G.¹, Ostroumov E.N.¹, Shevchenko A.O.^{1, 2}, Mironkov A.B.², Kormer A.Ya.¹

¹ V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

² N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

Aim of the study is to show the pathogenetic importance of myocardial revascularization and to estimate quantitatively efficiency of the treatment of cardiac allograft vasculopathy after heart transplantation. **Materials and methods.** 30 percutaneous coronary interventions (PCI) were performed to recipients of heart transplant (8 men and 7 women, aged from 18 to 56 years), who were diagnosed with cardiac allograft vasculopathy by coronary angiography within the time period from 1,5 to 12 years after heart transplantation. Before revascularization and one week after tolerances to physical activity, volume characteristics of the left ventricle were defined and diastolic function of heart was estimated. Average term of observation after stenting was $35,5 \pm 5,5$ months. **Results.**

Для корреспонденции: Миронков Борис Леонтьевич. Адрес: 123182, г. Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. 8 (499) 158-01-13. E-mail: mironkov@rambler.ru.

For correspondence: Mironkov Boris. Address: 1, Shchukinskaya st., Moscow, 123182, Russian Federation. Tel. 8 (499) 158-01-13. E-mail: mironkov@rambler.ru.

Tolerance to physical activity (from $76,6 \pm 8,5$ to $116,9 \pm 9,6$ W), its duration (from $5,4 \pm 2,2$ to $8,5 \pm 4,1$ min) and rate pressure product – RPP (from 198 ± 15 to 247 ± 24 P < 0,05) increased. There was a restoration of diastolic function (Ve/Va from $0,57 \pm 0,18$ to $1,15 \pm 0,2$ P < 0,05). Significant distinction in time frames of vasculopathy development, frequency and reasons of repeated interventions depending on age of patients is revealed. In the group of patients younger than 30 years of age (7 patients), the time interval between heart transplantation and vasculopathy development is twice shorter, than in more senior patient group, over 45 years old (8 patients). Young patients showed the expressed tendency to develop stent restenosis (20 coronary interventions). **Conclusion.** Dynamics in functional condition of the left ventricle as a result of revascularization confirms the leading role of myocardial ischemia in pathogenesis of transplant insufficiency due to vasculopathy. The significant factor influencing upon long-term result of coronary intervention is the age of the patient.

Key words: cardiac allograft vasculopathy, coronary intervention, stent restenosis.

ВВЕДЕНИЕ

Болезнь коронарных артерий пересаженного сердца (БКАПС) – наиболее значимый посттрансплантационный фактор, достоверно влияющий на прогноз отдаленной выживаемости реципиента. Выделяют два типа поражения коронарного русла при БКАПС: локальное формирование стенозов в проксимальных и средних сегментах эпикардиальных артерий и диффузное сужение просвета с облитерацией дистального русла [1]. Показано, что выполнение чрескожной транслуминальной коронарной ангиопластики (ЧТКА) при наличии БКАПС оказывает достоверное положительное влияние на выживаемость. Коронарная ангиопластика позволяет практически уравнивать степень риска для этой группы и для группы реципиентов без БКАПС относительно прогноза выживаемости [2].

Современная классификация БКАПС предусматривает использование функциональных критериев состояния миокарда левого желудочка сердечного трансплантата наряду с анатомической оценкой поражения коронарного русла [3]. Анализ динамики функциональных показателей при развитии васкулопатии позволил выявить нарушение диастолической функции, характерное для ишемического поражения сердечной мышцы [4]. Дополнительным и важным аргументом значимости ишемического повреждения миокарда при болезни коронарных артерий трансплантата является динамика функциональных критериев работы левого желудочка после устранения причин, вызывающих дефицит коронарного кровотока, в результате реваскуляризации трансплантата.

Цель настоящего исследования – показать патогенетическую значимость реваскуляризации миокарда и количественно оценить эффективность лечения васкулопатии сердечного трансплантата.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Представлен анализ результатов выполнения 30 процедур ЧТКА 15 реципиентам сердечного трансплантата (8 мужчин и 7 женщин), у которых в

сроки от 1,5 до 12 лет после операции трансплантации сердца с помощью коронарографии была диагностирована БКАПС типа А по Gao S.Z. [5]. Возраст в момент трансплантации составлял от 18 до 56 лет, в период выполнения ЧТКА – от 20 до 65 лет.

Для оценки состояния коронарных артерий пересаженного сердца выполняли селективную коронарографию бедренным доступом по Сельдингеру. Видеорегистрацию изображения левой коронарной артерии (ЛКА) осуществляли в 6–8 проекциях, правой коронарной артерии (ПКА) – в 3 проекциях. Коронарографии и ЧТКА выполняли на цифровых ангиографических установках Axiom Artis (Siemens, Германия) и Integris 5000H (Philips, Голландия) с использованием неионных рентгеноконтрастных препаратов.

Поражение коронарного русла оценивали по классификации Gao S.Z. в модификации НИИТИО [1], выделяющей два основных типа ангиопатии трансплантата. Первый тип включает преимущественно локальные стенозы проксимальных, средних и дистальных сегментов крупных коронарных ветвей первого и второго порядка и соответствует типу А. Второй тип подразумевает наличие преимущественно диффузного поражения коронарных артерий второго-третьего порядка, характеризующегося постепенным или резким началом стенотического сужения с облитерацией дистального русла и мелких концевых артерий, что соответствует поражениям типов В1, В2 и С по Gao S.Z. Такое определение типов в большей степени соответствует клинической ситуации.

Показанием для проведения ЧТКА служило поражение коронарных артерий первого типа при сужении просвета сосуда более 75%. При выполнении стентирования коронарных артерий пересаженного сердца использовали металлические стенты BMS и стенты с лекарственным покрытием DES, преимущественно содержащие сиролимус.

Диагностику функционального состояния сердечного трансплантата осуществляли при динамическом наблюдении до появления ангиографических признаков БКАПС, в течение первой недели после ЧТКА и в дальнейшем с периодичностью 6–12 месяцев (максимальный срок наблюдения око-

ло 9 лет) с использованием электрокардиографических, ультразвуковых, нагрузочных и радиоизотопных методов исследования.

Электрокардиографическое исследование осуществляли в состоянии покоя на аппарате Megacart фирмы Siemens (Германия) с регистрацией ЭКГ в 12 стандартных отведениях.

Велоэргометрическая проба (ВЭМП). Для определения толерантности к физической нагрузке всем пациентам проводили пробы на кардиокомплексе Cardiosys фирмы Marquette – Hellige (Германия). Исследование проводилось на велоэргометре в сидячем положении, при скорости вращения педалей 60 оборотов/мин, по протоколам VEMP и ВОЗ: со ступенчатым, непрерывно возрастающим на 25 Вт в течение 2–3 мин уровнем мощности нагрузки с регистрацией ЭКГ в 12 стандартных отведениях и измерением АД в конце каждой ступени. В ряде случаев использовался тредмил-тест (протоколы Bruce и M-mode). Для оценки физической работоспособности определяли следующие показатели: интенсивность нагрузки в ваттах (Вт), время нагрузки в минутах, двойное произведение – произведение максимальной величины ЧСС на максимальную величину систолического АД (RPP – в условных единицах) как критерий потребления кислорода миокардом.

Эхокардиография (ЭхоКГ). Трансторакальные ЭхоКГ-исследования проводили на аппаратах Power Vision – 380А фирмы Toshiba (Япония) и Sonos-4500 и 5500 фирмы Agilent Tec. Inc., США. Определяли объемные характеристики левого желудочка и оценивали диастолическую функцию сердца с использованием доплерографических показателей трансмитрального диастолического потока: максимальная скорость потока в период раннего (V_e , м/с) и позднего (V_a , м/с) наполнения левого желудочка, а также их отношение (V_e/V_a), отражающее структуру наполнения желудочка.

Радионуклидная вентрикулография. Осуществляли с помощью гамма-камеры BASICAM (Siemens) и отечественной системы сбора и обработки информации ГОЛД – РАДА с использованием препаратов пирфотех и пертехнетат (доза 370 мБк). Определяли ФИ ЛЖ, предсердный вклад, амплитуду движения, максимальные скорости изгнания и наполнения.

Статистическую значимость полученных результатов оценивали с использованием t-критерия Стьюдента при величине $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ ангиографических признаков васкулопатии позволил выделить 15 пациентов с первым типом поражения коронарных артерий трансплантата.

Этим пациентам было выполнено 30 процедур коронарной ангиопластики преимущественно проксимальных и средних сегментов коронарного русла. В 14 случаях выполнили ангиопластику одной коронарной артерии: передней межжелудочковой ветви (ПМЖВ) ЛКА (12 случаев) и правой коронарной артерии (2 случая). В 10 процедурах выполняли ангиопластику двух коронарных артерий: ПМЖВ ЛКА и ПКА, в остальных – различные комбинации ветвей второго-третьего порядка системы ЛКА. В общей сложности имплантировали 24 стента (20 DES и 4 BMS). Во всех случаях вмешательства были выполнены без осложнений с положительным ангиографическим результатом. Средний срок наблюдения после стентирования составил $35,5 \pm 5,5$ мес.

Оценка эффективности коронарной ангиопластики проводилась с использованием тех же методов, что и оценка влияния БКАПС на функциональное состояние сердечного трансплантата. Клинически существенным результатом ЧТКА является повышение толерантности пациентов к физической нагрузке. ВЭМ-проба выполнялась перед коронарным вмешательством и через 5–10 дней после реваскуляризации.

Изменение показателей нагрузочных тестов после выполнения ЧТКА свидетельствует о достоверном увеличении толерантности к физической нагрузке, как за счет мощности выполняемой нагрузки, так и ее продолжительности. Значимо увеличивалось потребление кислорода миокардом, определяемое по величине двойного произведения, связанное с ростом максимальных значений ЧСС и АД (рис. 1).

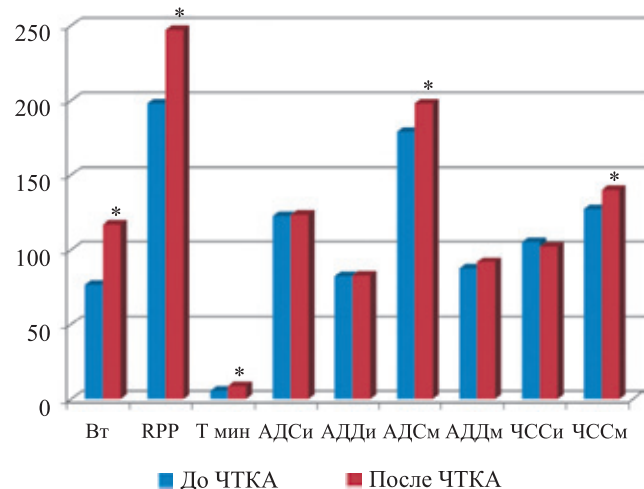


Рис. 1. Динамика показателей велоэргометрической пробы после реваскуляризации сердечного трансплантата ($n = 30$). * – $p < 0,05$; Вт – мощность нагрузки в ваттах; RPP – величина «двойного произведения»; Т – продолжительность нагрузки; АДСи – АД систолическое исходное – перед ВЭМ-пробой; АДДи – АД диастолическое исходное – перед ВЭМ-пробой; АДСм – АД систолическое максимальное; АДДм – АД диастолическое максимальное; ЧССи – ЧСС исходная перед ВЭМ-пробой; ЧССм – ЧСС максимальная

В результате коронарной ангиопластики происходило восстановление показателей, характеризующих диастолическую функцию ЛЖ по результатам доплеровского измерения трансмитральных потоков (рис. 2). Важно отметить, что величина V_e/V_a нормализуется за счет увеличения скорости раннего диастолического наполнения и является проявлением повышения эластичности миокарда вследствие уменьшения степени его ишемии. Показатели систолической и диастолической функций ЛЖ, полученные радиоизотопными методами, также свидетельствуют об улучшении функционального состояния левого желудочка. Кроме того, радиоизотопная вентрикулография позволяет одновременно оценивать скоростные и объемные параметры как диастолической, так и систолической фаз деятельности сердца (рис. 3).

Длительное наблюдение пациентов после реваскуляризации позволило выявить влияние возраста реципиента на отдаленные результаты коронарной ангиопластики. В результате можно выделить две группы пациентов, различные по возрасту. В одной 8 человек, возраст которых на момент трансплантации сердца превышал 45 лет, в другой 7 пациентов в возрасте до 30 лет (преимущественно женщины). Эти группы демонстрировали значимое различие также по срокам развития васкулопатии, частоте повторных вмешательств и причинам повторных ангиопластик (табл.).

Таблица

Зависимость частоты повторных вмешательств от возраста пациентов

Параметры	Группа 1 (6 муж.; 2 жен.)	Группа 2 (2 муж.; 5 жен.)	p
Возраст на момент ТС (лет)	45,5 ± 3,7	25,8 ± 2,8	0,007
Интервал ТС – ЧТКА (лет)	7,5 ± 2,3	3,2 ± 1,4	0,021
ЧТКА/пациенты	1,25	2,9	
Причина повторных вмешательств	Стенозы <i>de novo</i> – 2	Рестенозы в стентах – 10. Стенозы <i>de novo</i> – 3	

В группе молодых пациентов интервал времени между трансплантацией сердца и развитием гемодинамически значимых стенозов в коронарных артериях был вдвое короче, чем в старшей возрастной группе. Молодые пациенты проявляли выраженную склонность к развитию рестенозов в стентах (у 7 пациентов 20 коронарных вмешательств с использованием 15 стентов с лекарственным покрытием и 2 металлических стентов). Такой характер

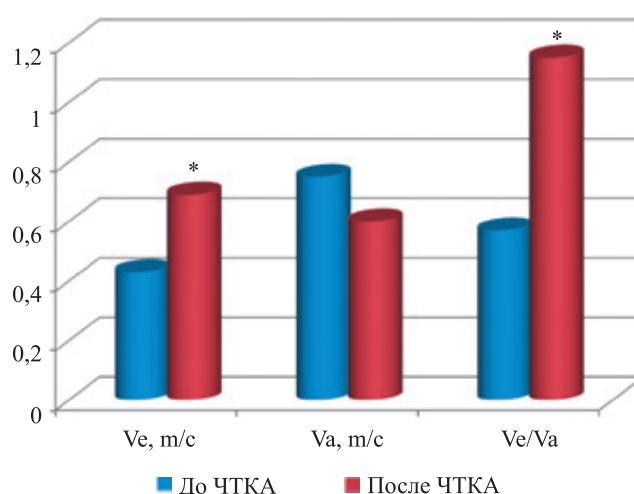


Рис. 2. Динамика изменения показателей диастолической функции ЛЖ по данным доплерографии ($n = 28$). * – $p < 0,05$; V_e – скорость раннего диастолического наполнения; V_a – скорость позднего диастолического наполнения

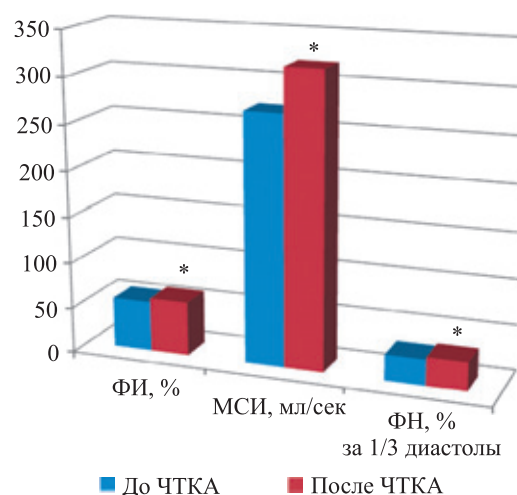


Рис. 3. Изменение показателей систолической и диастолической функций ЛЖ после реваскуляризации по данным радиоизотопной вентрикулографии ($n = 22$). * – $p < 0,05$; ФИ – фракция изгнания левого желудочка; МСИ – максимальная скорость изгнания; ФН – фракция наполнения в начальную треть диастолы

васкулопатии определил более чем двукратное различие в количестве коронарных вмешательств на одного пациента.

Интересно отметить, что у большинства пациентов (80%) старше 45 лет наблюдали стойкий ангиографический эффект баллонной дилатации стеноза, и потребность в использовании стентов была существенно ниже.

Динамика критериев, отражающих степень ишемии миокарда, показывает, что восстановление функциональных характеристик ЛЖ после реваскуляризации достигает практически того же уровня, который наблюдали у наших пациентов до развития

васкулопатии трансплантата. Величина отношения V_e/V_a увеличивается в два раза и приближается к значению, которое было до развития БКАПС ($1,7 \pm 0,23$). Наблюдается аналогичная динамика величины фракции наполнения ЛЖ за первую 1/3 диастолы ($36,56 \pm 5,4\%$) и фракции изгнания ($65,16 \pm 8,2\%$), максимальная скорость изгнания достоверно не отличается от значений, наблюдаемых у реципиентов сердечного трансплантата без проявлений васкулопатии ($340,71 \pm 94,4$ мл/сек).

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты позволяют считать, что коронарная ангиопластика при первом типе васкулопатии восстанавливает основные функциональные показатели, чувствительные к степени ишемии миокарда, иными словами, является патогенетическим методом лечения [6]. Данный факт позволяет использовать динамику показателей диастолической функции и скоростных критериев систолы для количественной оценки состояния сердечного трансплантата при выявлении васкулопатии и определения эффективности лечения данного состояния. Это хорошо согласуется с современными представлениями о том, что при оценке и прогнозе васкулопатии сердечного трансплантата важно характеризовать выраженность как анатомических изменений коронарных артерий, так и функциональное состояние миокарда [3]. Представленные данные обращают внимание на то, что в диагностике БКАПС возможно использовать критерии, получаемые рутинными, неинвазивными, кардиологическими методами. Значимость ЧТКА при васкулопатии первого типа убедительно подтверждается сведениями о том, что устранение гемодинамически значимых стенозов коронарного русла сердечного трансплантата значительно улучшает прогноз выживаемости и выводит его на уровень, близкий к реципиентам без БКАПС [2]. Существенно повышается качество жизни пациентов, определяемое объективными критериями. Сообщается, однако, что необходимость повторной реваскуляризации, обусловленная прогрессированием БКАПС, сохраняется почти у половины пациентов [7]. Данная оценка результатов коронарных вмешательств, вероятно, справедлива для проблемы в целом. Анализ отдаленных результатов коронарной ангиопластики показал существенное влияние возраста реципиентов на прогноз стентирования и рецидивирующий характер течения васкулопатии. Такие особенности атероматозной бляшки при БКАПС, как выраженный фиброз интимы с образованием прочной покрышки, отсутствие атероматозной язвы и редкие проявления кальциноза, объясняют причины благоприятного результата баллонной ангиопластики у пациентов

старшей возрастной группы [8]. Пациенты в возрасте до 30 лет имеют больший риск повторных вмешательств, связанных преимущественно с высокой частотой развития рестенозов даже в стентах, имеющих современные лекарственные покрытия. Аналогичная значимость возрастного фактора показана в исследовании влияния предтрансплантологических факторов на выживаемость реципиентов [9].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Эффективность лечения ангиопатии трансплантата определяется типом поражения коронарных артерий, при котором возможно выполнение коронарной ангиопластики. Реваскуляризация миокарда является патогенетическим методом лечения БКАПС с прогнозируемым результатом. Динамика показателей функционального состояния левого желудочка сердца в результате реваскуляризации подтверждает ведущую роль ишемии миокарда в патогенезе страдания трансплантата при васкулопатии. Значимым фактором, влияющим на отдаленный результат коронарного вмешательства, является возраст пациента.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Казаков ЭН, Кормер АЯ, Честухин ВВ, Голубицкий ВВ. Патология коронарных артерий пересаженного сердца по данным коронарографии. *Трансплантология и искусственные органы*. 1996. 4: 74–77. Kazakov EN, Kormer AY, Chestukhin VV, Golubitskiy VV. Patologiya koronarnykh arteriy peresazhennogo serdtsa po dannym koronarografii. *Transplantologiya i iskusstvennye organy*. 1996. 4: 74–77.
2. Честухин ВВ, Остроумов ЕН, Тюняева ИЮ, Захаревич ВМ и др. Болезнь коронарных артерий пересаженного сердца. Возможности диагностики и лечения. *Очерки клинической трансплантологии* / Под ред. С.В. Готье. М., 2009. Chestukhin VV, Ostroumov EN, Tyunyaeva IYu, Zakharevich VM i dr. Bolezn koronarnykh arteriy peresazhennogo serdtsa. Vozmozhnosti diagnostiki i lecheniya. *Ocherki klinicheskoy transplantologii* / Pod red. S.V. Gautier. M., 2009.
3. Mehra MR, Crespo-Leiro MG, Dipchand A, Ensminger SM, Heumann NE, Kobashigawa JA et al. International Society for Heart and Lung Transplantation working formulation of a standardized nomenclature for cardiac allograft vasculopathy—2010. *J Heart Lung Transplant*. 2010; 29: 717–727.
4. Честухин ВВ, МIRONKOV АБ, Тюняева ИЮ, Рядовой ИГ, Захаревич ВМ, МIRONKOV БЛ. Оценка диастолической дисфункции левого желудочка сердечного трансплантата при развитии его васкулопатии. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2013; 1: 6–11. Chestukhin VV, Mironkov AB, Tyuniaeva IY, Ryadovoy IG, Zakharevich VM, Mironkov BL. Estimation of diastolic dysfunction of the left ventricle at development coronary allograft vasculopa-

- thy. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov* = *Russian journal of transplantology and artificial organs*. 2013; 1: 6–11. [English abstract].
5. Gao SZ, Alderman EL, Schroeder JS. Accelerated coronary vascular disease in the heart transplant patient: coronary arteriographic findings. *J Am Coll Cardiol*. 1988; 12: 334–340.
 6. Ageev ФТ, Овчинников АГ. Давление наполнения левого желудочка: механизмы развития и ультразвуковая оценка. *Сердечная недостаточность*. 2012; 13, 5 (73): 287–309. Ageev FT, Ovchinnikov AG. Davlenie napolneniya levogo zheludochka: mekhanizmy razvitiya i ul'trazvukovaya otsenka. *Serdechnaya nedostatochnost'*. 2012; 13, 5 (73): 287–309.
 7. Tarantini G, Favaretto E, Gardin A, Napodano M, Isabella G, Panfili M et al. Drug-eluting stents for the treatment of coronary lesions in cardiac transplant vasculopathy: acute and mid-term clinical and angiographic outcomes. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*. 2008 Apr; 9 (4): 396–402.
 8. Ильинский ИМ, Белецкая ЛВ, Рябоштанова ЕИ, Куприянова АГ, Можейко НП. Патоморфология. Болезнь коронарных артерий пересаженного сердца. М.: МИА, 2008: 74–97. Il'inskiy IM, Beletskaya LV, Ryaboshstanova EI, Kupriyanova AG, Mozheyko NP. Pato-morfologiya. Bolezn' koronarnykh arteriy peresazhenno-go serdtsa. М.: МИА, 2008: 74–97.
 9. Шумаков ВИ, Казаков ЭН, Хубутия МШ, Кормер АЯ, Шумаков ДВ, Козлов ИА и др. Результаты трансплантации сердца при статусе 1А-В и 2 по UNOS у больных с дилатационной кардиомиопатией. *Сердечная недостаточность*. 2002; 3, 6 (16): 284–285. Shumakov VI, Kazakov EN, Khubutiya MSh, Kormer AY, Shumakov DV, Kozlov IA i dr. Rezul'taty transplantatsii serdtsa pri statuse 1A-B i 2 po UNOS u bol'nykh s di-lyatatsionnoy kardiomiopatiey. *Serdechnaya nedosta-tochnost'*. 2002; 3, 6 (16): 284–285.

Статья поступила в редакцию 27.10.2014 г.

DOI: 10.15825/1995-1191-2014-4-11-16

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ЖИЗНИ ПАЦИЕНТОВ С ТРАНСПЛАНТИРОВАННЫМ СЕРДЦЕМ

Шевченко А.О.^{1, 2}, Халилулин Т.А.^{1, 3}, Миронков Б.Л.¹,
Саитгареев Р.Ш.¹, Захаревич В.М.^{1, 3}, Кормер А.Я.¹,
Муминов И.И.¹, Готье С.В.^{1, 3}

¹ ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии
и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава РФ,
Москва, Российская Федерация

² ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России,
Москва, Российская Федерация

³ Кафедра трансплантологии и искусственных органов
ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова», Москва, Российская Федерация

Введение. Оценка качества жизни является важным показателем эффективности лечения, являющимся не только самостоятельным критерием эффективности проведенного лечения, но и позволяющим трактовать собственное восприятие пациента в отношении посттрансплантационной реабилитации, адаптации в социальной среде и возможности трудиться. **Материалы и методы.** В исследование включено 42 пациента, в возрасте от 29 до 61 ($39,23 \pm 12,31$) года, 38 мужчин и 4 женщины, перенесших трансплантацию сердца в сроки от 01.2008 г. по 01.2013 г. Для оценки качества жизни реципиентов пересаженного сердца использован опросник качества жизни SF-36, стандартизированный для оценки физического и психоэмоционального компонентов качества жизни. **Результаты.** Анализ результатов исследования свидетельствует о крайне низких показателях как физической активности, так и оценки общего состояния здоровья на предтрансплантационном этапе. Наилучшие показатели качества жизни у реципиентов трансплантированного сердца отмечаются спустя год после операции и проявляются достоверным ростом всех показателей. Сравнительный анализ результатов, полученных в предоперационном периоде и спустя год после проведения операции ортотопической трансплантации сердца свидетельствует о значительном улучшении качества жизни пациентов: показатель физического функционирования увеличился в среднем в 2,8 раза ($p < 0,01$), показатель ролевого функционирования, обусловленного физическим состоянием – в 14 раз ($p < 0,0001$), показатель ролевого функционирования, обусловленного эмоциональным состоянием – в 3 раза ($p = 0,02$), показатель социального функционирования – в 4,8 раза ($p = 0,002$), болевой порог вырос в 3 раза ($p = 0,02$), показатель психического здоровья – в 3,6 раза ($p = 0,001$), показатель жизненной активности – в 2,6 раза ($p = 0,003$), показатель общего состояния здоровья – в 1,6 раза ($p = 0,03$). Уровень физической активности полностью восстанавливается у 90% реципиентов сердца к концу первого года. **Заключение.** Результаты исследования показали, что в течение года после трансплантации сердца больным терминальной сердечной недостаточностью отмечается значительное статистически достоверное улучшение всех показателей, характеризующих качество жизни. Высокие уровни показателей физической, психической и социальной активности, достигнутые к первому году, сохраняются на протяжении 5 лет, что свидетельствует о высокой эффективности операции ортотопической трансплантации сердца как радикального метода лечения тяжелой сердечной недостаточности.

Ключевые слова: качество жизни, опросник SF-36, трансплантация сердца.

Для корреспонденции: Шевченко Алексей Олегович. Адрес: 123182, г. Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. 8 (499) 190-38-77.

For correspondence: Shevchenko A.O. Address: 1, Shchukinskaya st., Moscow, 123182, Russian Federation. Tel. 8 (499) 190-38-77.

QUALITY OF LIFE ASSESSMENT IN CARDIAC TRANSPLANT RECIPIENTS

Shevchenko A.O.^{1, 2}, Khalilulin T.A.^{1, 3}, Mironkov B.L.¹, Saitgareev R.Sh.¹,
Zakharevich V.M.^{1, 3}, Kormer A.Ya.¹, Muminov I.I.¹, Gautier S.V.^{1, 3}

¹ V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

² N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

³ Department of transplantology and artificial organs, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

Background. Quality of life (QoL) is an important criterion for the treatment efficacy that provides an important data regarding patient's personal estimation of social adaptation and ability to perform daily duties. **Methods.** The study was aimed to evaluate QoL in cardiac transplant recipients. We have enrolled 42 stage D heart failure patients aged 29–61 (mean $39,23 \pm 12,31$ y/o), 38 males and 4 females, survived cardiac transplant surgery between Jan 2008 and Jan 2013. QoL was evaluated using the SF-36 survey prior to the heart surgery and during the follow-up period up to the 5 years. **Results.** Pre-operative assessment revealed low QoL indices of physical activity as well as general health status. Follow-up showed dramatic improvement in all QoL measures during 1 year after the surgery which was consistent through the whole observation period. There was an increase in physical functioning index by 2,8 times ($p < 0,01$), physical status dependent role functioning by 14 times ($p < 0,0001$), emotional status dependent role functioning by 3 times ($p = 0,02$), social functioning by 4,8 times ($p = 0,002$), pain threshold by 3 times ($p = 0,02$), psychic health by 3,6 times ($p = 0,001$), life activity by 2,6 times ($p = 0,003$), and total health by 1,6 times ($p = 0,03$). Physical activity was restored in 90% of patients during the first year. **Conclusion.** The study shows significant improvement in all QoL variables after heart transplantation in stage D heart failure patients. Main indices of physical, psychical, and social activities rise at the first year and remain high during the 5-year period. These data support heart transplantation as a radical and effective method of terminal heart failure treatment.

Key words: quality of life, SF-36 survey, cardiac transplantation.

ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация сердца (ТС) является основным методом лечения терминальной сердечной недостаточности [1], позволяющим существенно увеличить продолжительность жизни больных и восстановить их трудоспособность. Качество жизни является важным критерием, определяющим эффективность лечения, и характеризуется рядом физиологических и психоэмоциональных показателей, основанных на субъективном восприятии пациента. Изучение показателей качества жизни позволяет оценить субъективное восприятие пациентом эффективности послеоперационной реабилитации и возможности адаптации в социальной среде [2].

Предполагается, что улучшение самочувствия, обусловленное, в первую очередь, уменьшением или исчезновением симптомов сердечной недостаточности и повышением толерантности к физическим нагрузкам, должно сопровождаться улучшением качества жизни. Вместе с тем в течение первых месяцев после ТС такие факторы, как возможные резидуальные явления после оперативного вмешательства, связанные с торакотомией, искусственным кровообращением и другими периоперационными осложнениями, а также побочные действия имму-

носупрессивной терапии могут оказывать негативное влияние на качество жизни. В более поздние сроки после ТС на фоне длительного приема иммуносупрессивной терапии повышается риск развития инфекционных осложнений, злокачественных новообразований, нефропатии, сахарного диабета, артериальной гипертензии, неврологических нарушений, остеопороза и депрессивных состояний. Другая группа факторов, потенциально ухудшающая качество жизни реципиентов, обусловлена взаимодействием организма реципиента и трансплантированного органа, проявляющимся различными формами отторжения трансплантата, а также необходимостью проведения регулярных клинических обследований и выполнением эндомиокардиальной биопсии и коронароангиографии [3].

Целью настоящего исследования явилась оценка влияния ортотопической трансплантации сердца на качество жизни больных терминальной сердечной недостаточностью.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 42 больных хронической сердечной недостаточностью в терминальной

стадии, в возрасте от 29 до 61 ($39,2 \pm 12,3$) года, среди которых было 38 лиц мужского и 4 – женского пола, перенесших трансплантацию сердца в период с января 2008 г. по январь 2013 г. Все больные до трансплантации сердца получали медикаментозную терапию в соответствии с современными рекомендациями по лечению сердечной недостаточности [4]. Средний возраст доноров составил $36,1 \pm 9,1$ года, среди них 35 (83,3%) мужчин и 7 (16,7%) женщин. Среди 42 обследованных реципиентов у 36 (85,7%) пациентов показанием к трансплантации сердца явилась дилатационная кардиомиопатия, у 6 (14,3%) – ишемическая болезнь сердца. Длительность наблюдения составила 5 лет (средний срок наблюдения $896,4 \pm 805,7$ дня)

В периоперационном периоде у всех реципиентов сердца проводилась индукционная иммуносупрессивная терапия, включающая базиликсимаб и метилпреднизолон. В дальнейшем больные получали комбинированную иммуносупрессивную терапию, включающую препараты такролимуса, микофенолата мофетила и метилпреднизолон.

Рутинные обследования в послеоперационном периоде включали термометрию, вирусологическое, бактериологическое, электро- и эхокардиографическое исследования, серию общих клинических и биохимических анализов крови, измерения концентрации такролимуса в крови, определение показателей коагуляции и кислотно-щелочного состояния, а также общий анализ мочи. Повторные эндомиокардиальные биопсии с морфологическим и иммуногистохимическим исследованиями биоптатов, а также коронароангиографические исследования проводились в соответствии с разработанным в ФНЦТИО им. акад. В.И. Шумакова планом обследования реципиентов сердца [5].

Для оценки показателей качества жизни использовался опросник SF-36 (англ. – the short form-36). Опросник качества жизни SF-36 является специфическим опросником, валидизированным для оценки физического и психоэмоционального компонентов качества жизни [6, 10]. Показатели, получаемые в результате опроса, отражают общее благополучие и степень удовлетворенности в тех сферах жизнедеятельности пациента, которые находятся в зависимости от состояния здоровья. Опросник включает 36 вопросов, позволяющих определить 8 показателей.

1. Физическое функционирование. Отражает степень, в которой физическое состояние ограничивает выполнение физических нагрузок (самообслуживание, ходьба, подъем по лестнице, переноска тяжестей и др.). Низкие значения этого показателя свидетельствуют о более значимом ограничении физической активности пациента в связи с заболеванием.

2. Рольное функционирование, обусловленное физическим состоянием. Отражает влияние физического состояния на повседневную рольную деятельность (работу, выполнение повседневных обязанностей). Низкие значения этого показателя свидетельствуют о выраженных ограничениях в повседневной жизни, обусловленных физическим состоянием пациента.
3. Рольное функционирование, обусловленное эмоциональным состоянием. Предполагает оценку степени, в которой эмоциональное состояние мешает выполнению работы или другой повседневной деятельности (включая большие затраты времени, уменьшение объема работы, снижение ее качества и т. д.). Низкие показатели по этой шкале интерпретируются как ограничение в выполнении повседневной работы, обусловленное ухудшением эмоционального состояния.
4. Показатель социального функционирования. Характеризуется степенью, в которой физическое или эмоциональное состояние ограничивает социальную активность (общение). Низкие баллы свидетельствуют о значительном ограничении социальных контактов, снижении уровня общения в связи с ухудшением физического и эмоционального состояния.
5. Болевой порог. Показатель характеризуется интенсивностью испытываемых пациентом болевых ощущений и их влиянием на способность осуществлять повседневную деятельность, включая работу по дому. Низкие значения показателя болевого порога свидетельствуют о более выраженных болевых ощущениях, ограничивающих активность пациента.
6. Жизненная активность. Пациент может охарактеризовать себя «полным сил и энергии» или же, напротив, «обессиленным». Чем ниже значение показателя, тем ниже жизненная активность пациента.
7. Психическое здоровье является интегральным показателем эмоционального фона пациента, его низкие значения свидетельствуют о наличии депрессии, тревожных переживаний, психическом неблагополучии.
8. Общее состояние здоровья. Показатель отражает оценку больным своего самочувствия в данный момент времени и дальнейшие перспективы его улучшения или ухудшения. Чем ниже значения этого показателя, тем хуже оценивает больной состояние своего здоровья и перспективы выздоровления.

Опросник качества жизни позволяет получить значения вышеперечисленных показателей в пределах от 0 до 100 баллов, более высокие баллы соответствуют лучшему качеству жизни. Оценка качества жизни у всех пациентов проводилась до

трансплантации сердца, на исходе первого месяца, года, трех и пяти лет после трансплантации.

Параметрические данные в исследовании представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее значение показателей в выборке, m – стандартное отклонение. Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием программы Statistica 9.0, предусматривающей возможность параметрического и непараметрического анализа. Для проведения анализа исходных данных и оценки связи и динамики показателей использовали парный и непарный t -критерий Стьюдента. Для всех критериев и тестов критический уровень значимости принимался равным 5%, различия считались достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Показатели качества жизни оценивались у 42 больных, средний возраст которых составил $39,2 \pm 12,3$ года, у 36 (85,7%) пациентов показанием к трансплантации сердца явилась дилатационная кардиомиопатия, у 6 (14,3%) – ишемическая болезнь сердца. Средний период наблюдения составил $896,4 \pm 805,7$ дня. В предоперационном периоде оценка показателей качества жизни выполнена у 10 больных с клиническими признаками терминальной сердечной недостаточности IV ф. к. (по NYHA).

Исходно, в предоперационном периоде, у больных терминальной сердечной недостаточностью отмечались низкие значения всех изучаемых показателей, которые в основном не превышали и трети от величин референсных значений. Сравнительный анализ результатов, полученных в предоперационном периоде и спустя год после проведения операции ортотопической трансплантации сердца, свидетельствует о значительном улучшении качества жизни пациентов: показатель физического функционирования увеличился в среднем

в 2,8 раза, с $32,5 \pm 3,6$ до $90,0 \pm 3,5$ ($p < 0,01$), показатель ролевого функционирования, обусловленного физическим состоянием – в 14 раз (с $5,0 \pm 3,2$ до $70,0 \pm 41,1$, $p < 0,0001$), показатель ролевого функционирования, обусловленного эмоциональным состоянием – в 3 раза (с $31,3 \pm 26,5$ до $92,4 \pm 6,8$, $p = 0,02$), показатель социального функционирования – в 4,8 раза (с $19,2 \pm 20,3$ до $92,5 \pm 6,8$, $p = 0,002$), болевой порог вырос в 3 раза (с $31,5 \pm 7,0$ до $94,4 \pm 12,5$, $p = 0,02$), показатель психического здоровья – в 3,6 раза (с $22,5 \pm 17,7$ до $81,6 \pm 17,6$, $p = 0,001$), показатель жизненной активности – в 2,6 раза (с $30,0 \pm 31,1$ до $79,0 \pm 14,8$, $p = 0,003$), показатель общего состояния здоровья – в 1,6 раза (с $42,5 \pm 10,7$ до $68,0 \pm 14,6$, $p = 0,03$) (табл.).

Выявлена статистически достоверная положительная зависимость показателей физического функционирования от значений фракции выброса левого желудочка (ФВЛЖ) и конечного диастолического объема левого желудочка (КДО ЛЖ) сердечного трансплантата (рис. 1, 2).

После трансплантации сердца восстанавливаются показатели, характеризующие психоэмоциональные аспекты качества жизни. Такие составляющие, как психическое здоровье и ролевое функционирование, обусловленное эмоциональным состоянием, увеличиваются в среднем в 3,6 и 2,9 раза соответственно.

Согласно полученным результатам опроса, к концу первого года после ТС обследованные пациенты не испытывали ограничений в выполнении физических нагрузок, а также повседневной деятельности. Отмечено восстановление значений показателей физического и ролевого функционирования, обусловленного физическим состоянием, до уровня референсных значений ($90,0 \pm 3,5$ и $70,0 \pm 41,0$ соответственно). Обращает на себя внимание тот факт, что у подавляющего большинства (38 из 42) реципиентов пересаженного сердца показатели физического функционирования оказались выше

Таблица

Сравнительный анализ динамики показателей качества жизни у больных терминальной сердечной недостаточностью в предоперационном периоде и через 1 год после ТС

Качество жизни	До ТС (%)	Спустя один год после ТС (%)	Достоверность различий, p
Физическое функционирование	$32,50 \pm 3,55$	$90,00 \pm 3,53$	$p < 0,01$
Ролевое функционирование, обусловленное физическим состоянием	$5,00 \pm 3,15$	$70,00 \pm 41,07$	$p < 0,0001$
Болевой порог	$31,50 \pm 7,01$	$94,4 \pm 12,51$	$p = 0,02$
Общее состояние здоровья	$42,50 \pm 10,66$	$68,00 \pm 14,62$	$p = 0,03$
Психическое здоровье	$22,50 \pm 17,66$	$81,6 \pm 17,57$	$p = 0,001$
Ролевое функционирование, обусловленное эмоциональным состоянием	$31,25 \pm 26,51$	$92,4 \pm 6,8$	$p = 0,02$
Социальное функционирование	$19,17 \pm 20,03$	$92,5 \pm 6,84$	$p = 0,002$
Жизненная активность	$30,00 \pm 31,11$	$79,00 \pm 14,74$	$p = 0,003$

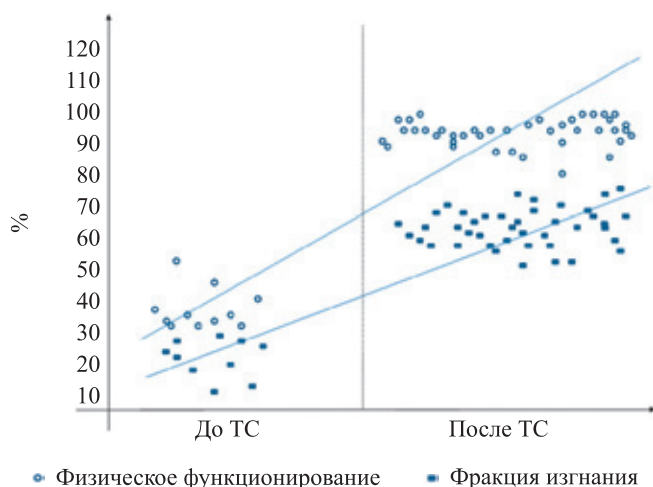


Рис. 1. Корреляция показателей физического функционирования и фракции изгнания левого желудочка на дооперационном и послеоперационном этапах лечения

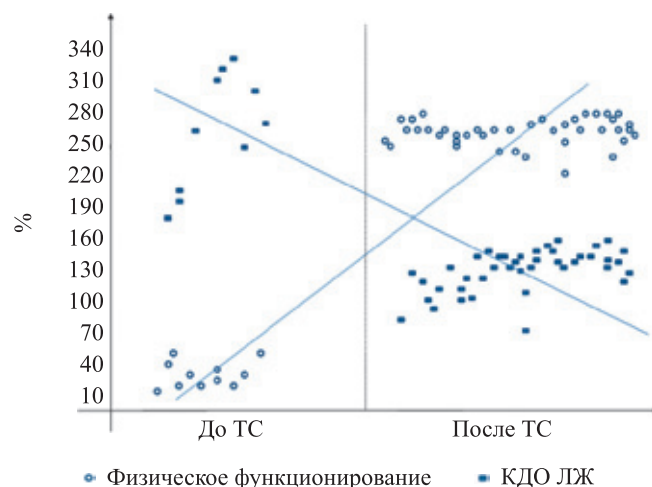


Рис. 2. Корреляция показателей физического функционирования и конечно-диастолического объема ЛЖ на дооперационном и послеоперационном этапах лечения

80% и соответствовали показателям, характерным для практически здоровых лиц. Доля пациентов, не испытывающих существенных ограничений в работе, начиная с первого года посттрансплантационного периода и на всем протяжении дальнейшего наблюдения остается достаточно стабильной и составляет от 37,5 до 40%.

Спустя один месяц после ТС и на всем протяжении периода наблюдения более 80% реципиентов не испытывают болевых ощущений, показатели интенсивности боли остаются стабильно высокими на сроках спустя 1, 3 и 5 лет ($90,0 \pm 3,5$, $82,8 \pm 26,9$ и $81,0 \pm 24,2$ соответственно).

Уровень оценки реципиентами состояния своего здоровья и перспективы дальнейшего лечения в течение всего периода наблюдения остаются достаточно высокими и к концу первого года составляют $68,0 \pm 14,6$, к пятому году – $71,7 \pm 18,0$.

Уровень физической активности у 90% наблюдаемых в исследовании реципиентов сердца восстановился к концу первого года после проведенного оперативного лечения. Спустя год после ТС и на всем протяжении наблюдения более 40% реципиентов не отмечают физических ограничений в возможности вести трудовую деятельность. Более 40% реципиентов спустя год после ТС оценивают состояние своего здоровья и дальнейшие перспективы как очень хорошие.

Психологические показатели качества жизни нормализуются достаточно быстро, и к концу первого месяца пациенты не испытывают ограничений в социальной активности, а эмоциональное состояние не влияет на выполнение повседневной деятельности у более чем 90% реципиентов к концу первого года после ТС. Выявлена прямая статистически достоверная зависимость между показателями психического здоровья и значениями ФВЛЖ

(рис. 3). Уровень психического здоровья, указывающий на отсутствие тревоги и депрессивных настроений, остается достаточно высоким, начиная с первого месяца после ТС и далее в течение всего периода наблюдения (от $78,7 \pm 8,3$ до $76,7 \pm 13,9$ соответственно).

Данные анализа показывают, что к концу первого года 90% реципиентов трансплантированного сердца не имеют ограничений в социальной активности, более 60% реципиентов считают себя полными жизненной активности и сил. Уровень психического здоровья (отсутствие тревожных настроений, депрессий) к концу первого года составляет более 70%.

Таким образом, на основании оценки качества жизни реципиентов сердца путем систематизированного анкетирования с помощью опросника SF-36 можно утверждать, что у 90% реципиентов

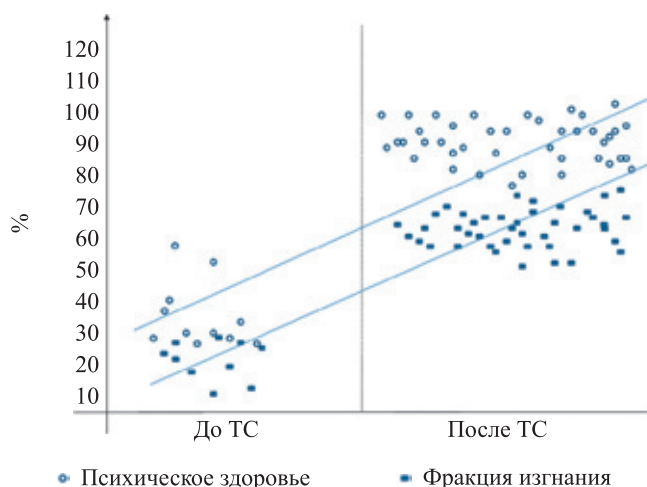


Рис. 3. Корреляция показателей психического здоровья и величины фракции изгнания левого желудочка у пациентов после трансплантации сердца

сердца к концу первого года после проведения оперативного лечения выявлено значительное статистически достоверное улучшение всех показателей, характеризующих качество жизни. Высокие уровни показателей физической, психической и социальной активности, достигнутые к первому году, сохраняются на протяжении 5 лет после трансплантации сердца.

Результаты проведенного исследования подтверждают результаты исследований, полученные зарубежными авторами [7–9, 11, 12], и свидетельствуют о том, что у больных терминальной сердечной недостаточностью операция трансплантации сердца помимо улучшения прогноза и переносимости физических нагрузок сопровождается улучшением качества жизни и характеризуется достижением физической и социальной реабилитации у подавляющего большинства пациентов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD, Auricchio A, Böhm M, Dickstein K et al. ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur J Heart Fail.* 2012; 14 (8): 803–869. doi: 10.1093/eurheartj/ehs104.
2. Karapolat H, Engin C, Eroglu M, Yagdi T, Zoghi M, Nalbantgil S et al. Efficacy of the cardiac rehabilitation program in patients with end-stage heart failure, heart transplant patients, and left ventricular assist device recipients. *Transplant Proc.* 2013 Nov; 45 (9): 3381–3385.
3. Готье СВ, Шевченко АО, Попцов ВН. Пациент с трансплантированным сердцем. Руководство для врачей по ведению пациентов, перенесших трансплантацию сердца. М.–Тверь: Триада, 2014: 144. Gautier SV, Shevchenko AO, Poptsov VN. Patsient s transplantirovannym serdtsem. Rukovodstvo dlya vrachej po vedeniyu patsientov, perenesshikh transplantatsiyu serdtsa. M.–Tver': Triada, 2014: 144.
4. Мареев ВЮ, Агеев ФГ, Арутюнов ГП, Коротеев АВ, Мареев ЮВ, Овчинников АГ. Национальные рекомендации ОССН, РКО и РНМОТ по диагностике и лечению ХСН. *Сердечная недостаточность.* 2013; 7 (81): 379–472. Mareev VYu, Ageev FG, Arutyunov GP, Koroteev AV, Mareev YuV, Ovchinnikov AG. Natsional'nye rekomendatsii OSSN, RKO i RN MOT po diagnostike i lecheniyu KhSN. *Serdechnaya nedostatochnost'.* 2013; 7 (81): 379–472.
5. Трансплантация сердца. Руководство для врачей / Под ред. С.В. Готье, В.Н. Попцова, А.О. Шевченко. М.–Тверь: Триада, 2014: 136. Transplantatsiya serdtsa. Rukovodstvo dlya vrachej / Pod red. S.V. Gautier, V.N. Poptsova, A.O. Shevchenko. M.–Tver': Triada, 2014: 136.
6. Ware JE, Sherbourne CD. The MOS 36-item short-form health survey (SF-36): Conceptual framework and item selection. *Med Care.* 1992; 30: 473–483.
7. Carels RA. The association between disease severity, functional status, depression and daily quality of life in congestive heart failure patients. *Qual Life Res.* 2004; 13: 63–72.
8. Karapolat H, Eyigor S, Durmaz B et al. The relationship between depressive symptoms and anxiety and quality of life and functional capacity in heart transplant patients. *Clin. Res. Cardiol.* 2007; 96: 593–599.
9. Аронов ДМ. Методика оценки качества жизни у больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями. *Кардиология.* 2002; 5: 92–95. Aronov DM. Metodika otsenki kachestva zhizni u bol'nykh s serdechno-sosudistymi zabolevaniyami. *Kardiologiya.* 2002; 5: 92–95.
10. Galeone A, Kirsch M, Barreda E, Fernandez F et al. Clinical outcome and quality of life of patients surviving 20 years or longer after heart transplantation. *Transpl Int.* 2014; 27 (6): 576–582.
11. Kugler C, Bara C, von Waldthausen T et al. Association of depression symptoms with quality of life and chronic artery vasculopathy: a cross-sectional study in heart transplant patients. *J Psychosom Res.* 2014; 77 (2): 128–134.

Статья поступила в редакцию 29.10.2014 г.

DOI: 10.15825/1995-1191-2014-4-17-26

ОТБОР РЕЦИПИЕНТОВ ДЛЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА С УЧЕТОМ УРГЕНТНОСТИ

Суджаева О.А.¹, Давидович М.И.², Суджаева С.Г.¹, Островский Ю.П.³

¹ Лаборатория кардиологической реабилитации Государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр «Кардиология», г. Минск, Республика Беларусь

² Закрытое акционерное общество «Международный деловой альянс», г. Минск, Республика Беларусь

³ Лаборатория хирургии сердца Государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр «Кардиология», г. Минск, Республика Беларусь

В статье приведен обзор современных международных рекомендаций, посвященных отбору реципиентов для проведения трансплантации сердца с учетом ургентности. Установлено, что спировелоэргометрическая проба позволяет выявить дополнительные критерии высокого риска смерти в течение 1 года. К ним относятся: максимальное потребление кислорода $VO_{2max} < 30\%$ от возрастной нормы, прирост показателя VD/VT , характеризующего отношение «мертвое пространство/дыхательный объем», в процессе нагрузки, максимально достигнутая мощность нагрузки ≤ 50 Вт и/или $< 20\%$ от ожидаемой с учетом возраста. На основании полученных данных разработана математическая модель прогноза смерти в течение 1 года с момента постановки в «лист ожидания» трансплантации сердца. Разработана компьютерная программа оценки вероятности смерти в течение 1 года после постановки в «лист ожидания» трансплантации сердца.

Ключевые слова: трансплантация сердца, статус ургентности, спировелоэргометрическая проба, модель прогноза, алгоритм прогноза.

SELECTION OF RECIPIENTS FOR HEART TRANSPLANTATION BASED ON URGENCY STATUS

Sujayeva V.A.¹, Davidovitch M.I.², Sudzhaeva S.G.¹, Ostrovsky Y.P.³

¹ Laboratory of Cardiac Rehabilitation of Republican Scientific and Practical Center «Cardiology», Minsk, Republic of Belarus

² Closed Joint Stock Company «International Business Alliance», Minsk, Republic of Belarus

³ Laboratory of Heart Surgery of Republican Scientific and Practical Center «Cardiology», Minsk, Republic of Belarus

The article provides the overview of current international recommendations dedicated to selection of heart transplantation recipients based on urgency status. Authors found that cardiopulmonary bicycle stress test allowed to reveal additional criteria of high death risk within 1 year. These additional criteria were: the maximal oxygen consumption $VO_{2max} < 30\%$ of the expected considering the age; V_D/V_T (ratio of physiologic dead space over tidal volume) increasing during the test; maximal tolerance to physical loading ≤ 50 Wt and/or $< 20\%$ of the expected considering the age. Authors created mathematical model for prediction of death within 1 year based on above mentioned data. Special software estimating the probability of death within 1 year was also created.

Key words: heart transplantation, urgency status, cardiopulmonary stress test, mathematical model, algorithm, prediction of death.

ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация сердца (ТС) зачастую является единственным методом лечения, способным продлить жизнь у пациентов с тяжелой хронической

сердечной недостаточностью (ХСН). Учитывая современный уровень развития иммуносупрессивной терапии, годовая выживаемость после ТС достигает 90%, 11-летний рубеж переживают 50%

Для корреспонденции: Суджаева Ольга Александровна. Адрес: 220036, Республика Беларусь, г. Минск, ул. Р. Люксембург, 110. Тел. +375295-83-00-42. E-mail: sujayeva@bk.ru.

For correspondence: Sujayeva Volha Alyaksandrauna. Address: 110, R. Luxembourg str., Minsk, Republic of Belarus, 220036. Tel. +375295-83-00-42. E-mail: sujayeva@bk.ru.

прооперированных [1]. Столь оптимистичные результаты способствовали расширению показаний, и соответственно, росту числа нуждающихся в ТС [2]. Увеличение числа потенциальных кандидатов для ТС происходит при практически неизменяющемся числе потенциальных доноров, что обуславливает актуальность разработки дополнительных критериев отбора пациентов для ТС с учетом ургентности.

Попытки изменить приоритетность распределения донорских органов привели к созданию в 1989 г. United Network of Organ Sharing (UNOS), которая предполагала наличие 2 степеней ургентности проведения ТС. В 1999 г. 2-ступенчатая система была преобразована в 3-ступенчатую (статус 1 был разделен на 1A и 1B) [3].

В соответствии с UNOS статус наивысшей ургентности выполнения ТС принадлежит пациентам с кардиогенным шоком, имеющим потребность в катехоламиновой поддержке или баллонной контрпульсации, а также лицам с имплантированными поддерживающими устройствами (статус UNOS 1A и 1B). Стабильные пациенты, имеющие статус ургентности UNOS 2, являются наиболее дискуссионным контингентом в отношении целесообразности и сроков проведения у них ТС [4]. По данным Jimenes J. et al (2003), в период с января 1999 г. по июнь 2001 г. в лист ожидания ТС было помещено 7539 взрослых пациентов, из них 4255 (56,4%) – в статусе UNOS 2. В течение 2 лет наблюдения ТС выполнена у 48% пациентов, еще 11,5% были изъяты из листа ожидания, 11,4% умерли, а 29% продолжили находиться в листе ожидания. Через 365 дней после постановки в лист ожидания выживаемость у лиц, прооперированных в статусе UNOS 2, не отличалась от выживаемости среди ожидавших проведения вмешательства. Авторы сделали вывод, что при наличии современных хирургических и терапевтических методов лечения ХСН у лиц, находящихся в статусе UNOS 2, проведение ТС не способствует улучшению выживаемости данной категории пациентов [4].

Наиболее широко распространенными методами выявления лиц с неблагоприятным прогнозом, у которых целесообразно проведение ТС, среди стабильных пациентов с ХСН являются кардиопульмональные стресс-тесты [5].

Для оценки прогноза у пациентов с ХСН используется прежде всего показатель максимального потребления кислорода (VO_{2max}). Годичная выживаемость среди пациентов с сохраненной толерантностью к физической нагрузке (ТФН) и $VO_{2max} > 14$ мл/кг/мин составляет 94% и сопоставима с таковой у лиц после проведения ТС.

Анализ дополнительных вентиляторных параметров может использоваться для дополнительной

стратификации риска у данной категории пациентов. Эффективность дыхания – еще один важный прогностический фактор. Вентиляционный ответ на физическую нагрузку у пациентов с ХСН усилен, т. е. на один литр выдыхаемого углекислого газа вентилируется больше воздуха. Если соотношение показателя, характеризующего минутный объем дыхания (VE), и показателя, характеризующего количество углекислого газа, выделяемого в единицу времени (VCO_2), представить графически, можно рассчитать линию регрессии VE/VCO_2 slope, его значение $>34-35$ считается признанным неблагоприятным прогностическим фактором. Таким образом, VE/VCO_2 slope является дополнительным полезным индикатором в стратификации риска пациентов с тяжелой ХСН [5].

ХСН – динамически изменяющееся состояние, которое нуждается в периодически повторяющейся оценке выраженности имеющихся нарушений и повторного определения целесообразности и сроков выполнения ТС. В Рекомендациях 2010 г. Mancini D. et al. рекомендуют проводить 1 раз в 3 месяца оценку сократительной способности миокарда (по определению фракции выброса левого желудочка), ТФН и VO_{2max} у пациентов с тяжелой ХСН или у лиц, имеющих признаки улучшения течения ХСН, после постановки в лист ожидания. У лиц со стабильным течением тяжелой ХСН рекомендуется выполнение тех же исследований 1 раз в 12 месяцев после постановки в лист ожидания [1].

Таким образом, единого взгляда на прогноз у стабильных пациентов с ХСН, находящихся в листе ожидания ТС и имеющих статус ургентности UNOS 2, нет. Разработка дополнительных критериев неблагоприятного прогноза и прогностических моделей, определяющих необходимость и сроки проведения ТС у данной категории пациентов, по-прежнему является актуальной.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 32 пациента с ХСН III–IV функционального класса (ФК) по Нью-Йоркской классификации NYHA, из них 30 (94%) – лица мужского пола, 2 – женщины. Возраст включенных в исследование составил от 25 до 60 лет, в среднем $46,4 \pm 12,1$ года. У 19 (60%) из 32 обследованных имелась ишемическая кардиомиопатия (ИКМП), у 9 (28%) – дилатационная кардиомиопатия (ДКМП), у двоих (6%) – порок клапанов сердца ревматической этиологии, еще у двоих (6%) – врожденные пороки сердца.

В процессе наблюдения в течение 1 года трое (9%) из 32 пациентов умерли, у 8 (25%) проведена ортотопическая ТС, у двоих имплантированы мо-

новентрикулярные левожелудочковые обходы, как «мост» к ТС. У двоих пациентов имплантированы ресинхронизирующие устройства, у 10 (31%) оптимизирована медикаментозная терапия, что привело к уменьшению степени выраженности ХСН, улучшению клинического состояния пациентов, вследствие чего они были изъяты из листа ожидания ТС.

Для решения поставленной задачи исследования все обследованные пациенты ретроспективно были разделены на 2 группы: в одну группу вошли данные умерших на протяжении периода наблюдения пациентов – группа с неблагоприятным прогнозом ($n = 3$), в другую группу – данные пациентов с положительной клинической динамикой состояния и благоприятным прогнозом ($n = 21$). Данные 8 пациентов, у которых выполнена ТС, в настоящий анализ не включены.

Для разработки математической модели прогноза и алгоритма оценки выживаемости у включенных в исследование пациентов с ХСН использовались данные спирометрической пробы (спироВЭП). СпироВЭП проводилась в вертикальном положении обследуемого с помощью аппаратно-программного комплекса фирмы «Schiller AG» AT-104 ErgoSpiro по непрерывной ступенчато возрастающей методике, начиная с 25 Вт, с увеличением мощности нагрузки каждые 3 минуты на 25 Вт, вплоть до появления депрессии сегмента ST ≥ 1 мм и/или подъема $\geq 1,5$ мм от исходного уровня, падения систолического артериального давления (САД) $\geq 10\%$ от достигнутого в процессе теста уровня, появления жизнеугрожающих нарушений ритма и/или проводимости, а также при достижении субъективно максимально переносимого уровня одышки.

При спироВЭП регистрировались содержание кислорода (O_2), углекислого газа (CO_2) и объем выдыхаемого воздуха. Из этих трех вариантов другие параметры рассчитывались и обрабатывались ав-

томатически в режиме on-line. Под максимальным потреблением кислорода (VO_{2max}) понимали потребление кислорода в момент прекращения теста по любым причинам.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На момент включения в исследование у всех пациентов имела место стабильно тяжелая ХСН, соответствующая статусу ургентности UNOS 2. Общая характеристика пациентов представлена в табл. 1.

Из троих умерших 2 пациента имели ИКМП, у одного ХСН имела неишемическую этиологию. У умерших пациентов отмечался более высокий рост, меньший вес, и как следствие, меньший ИМТ в сравнении со средними по группе значениями и по сравнению с лицами с благоприятным течением ХСН (табл. 1, $p < 0,05$).

Для всех включенных в исследование была характерна низкая ТФН: максимально достигнутая мощность нагрузки в среднем по группе составила $62,9 \pm 4,4$ Вт, т. е. $33,9 \pm 2,3\%$ от ожидаемой с учетом возраста (табл. 2).

У лиц, умерших в течение 1 года после включения в исследование, максимально достигнутая мощность нагрузки составила $41,7 \pm 14,4$ Вт, т. е. была существенно ниже, чем в среднем по группе – $62,9 \pm 24,8$ Вт ($p < 0,05$) и чем у лиц с положительной динамикой ХСН в процессе лечения – $59,1 \pm 23,1$ Вт ($p < 0,05$). При этом у умерших пациентов максимально достигнутая мощность нагрузки составила лишь $19,96 \pm 6,5\%$ от ожидаемой для данного возраста, что существенно ниже, чем в среднем по группе – $33,9 \pm 14,7\%$ ($p < 0,05$) и чем у лиц с благоприятным течением ХСН – $30,7 \pm 15,1\%$ ($p < 0,05$).

Таким образом, при отборе пациентов, находящихся в статусе UNOS 2 при постановке в лист ожидания, необходимо учитывать не толь-

Таблица 1

Клиническая характеристика пациентов с ХСН с учетом исходов ($M \pm SD$)

Показатель $M \pm SD$	В среднем по группе $n = 32$	Благоприятный прогноз $n = 21$	Умершие $n = 3$
Возраст, лет	$46,4 \pm 2,1$	$50,3 \pm 2,8$	$42,7 \pm 8,2$
Мужчины/женщины абс. (%)	30/2 (94/6)	10/0 (100/0)	3/0 (100/0)
ИКМП, абс. (%)	19 (60)	9 (90)	2 (67)
не-ИКМП, абс. (%)	13 (40)	1 (10)	1 (33)
Рост, см	$173,4 \pm 15,6$	$175,7 \pm 5,4$	$185,7 \pm 4,73^{*#}$
Вес, кг	$85,1 \pm 23,2$	$85,5 \pm 15,6$	$79,5 \pm 0,7^{*#}$
Индекс массы тела (ИМТ), $кг/м^2$	$25,5 \pm 0,9$	$27,6 \pm 4,9$	$23,3 \pm 1,5^*$

Примечание. * – $p < 0,05$ – достоверность различия показателей умерших пациентов в сравнении со средними по группе; # – $p < 0,05$ – достоверность различия показателей умерших пациентов в сравнении с лицами с положительной динамикой ХСН.

Таблица 2

Комплексная оценка функционального состояния системы кровообращения у пациентов с хронической сердечной недостаточностью (M ± SD)

Показатель	В среднем по группе	Благоприятный прогноз	Умершие
Частота сердечных сокращений (ЧСС) в покое, уд./мин	88,8 ± 15,3	88,3 ± 12,6	100,3 ± 18,7 ^{^#}
Максимально достигнутая ЧСС, уд./мин	132,1 ± 24,4	130,8 ± 28,9	140,0 ± 13,1
ЧСС, % от ожидаемой	84,3 ± 14,7	88,3 ± 18,4	82,3 ± 11,2
Систолическое АД (САД) в покое, мм рт. ст.	115,9 ± 12,5	118,0 ± 12,2	106,7 ± 5,8 ^{^#}
Диастолическое АД (ДАД) в покое, мм рт. ст.	75,9 ± 1,7	81,4 ± 9,5	70,0
Максимально достигнутое САД, мм рт. ст.	136,0 ± 18,4	141,8 ± 19,4	122,0 ± 10,5 ^{^#}
Максимально достигнутое ДАД, мм рт. ст.	82,5 ± 10,8	86,5 ± 13,9	80,0 ± 10,0
Максимально достигнутая мощность нагрузки (W), Вт	62,9 ± 24,8	59,1 ± 23,1	41,7 ± 14,4 ^{^#}
Мощность нагрузки, % от ожидаемой	33,9 ± 14,7	30,7 ± 15,1	19,96 ± 6,5 ^{^#}
Мощность нагрузки при анаэробном пороге (W _{AT}), Вт	42,2 ± 18,5	43,8 ± 22,2	25,0
Время выполнения теста, с	370,4 ± 161,3	324,4 ± 141,9	287,3 ± 64,9
Время до достижения анаэробного порога, с	261,6 ± 143,0	275,0 ± 168,0	180,0
Ишемия миокарда, абс. (%)	11 (34)	5 (50)	0
VO _{2max} , мл/кг/мин	12,0 ± 3,5	12,3 ± 3,6	8,1 ± 1,0 ^{^#}
VO _{2max} , % от ожидаемой	38,2 ± 10,3	41,0 ± 11,0	24,7 ± 7,2 ^{^#}
VO _{2AT} при анаэробном пороге	9,3 ± 2,9	11,1 ± 2,5*	6,8 ± 0,7 ^{^#}
VE/VCO ₂ slope	29,6 ± 10,0	24,2 ± 1,9*	36,2 ± 9,9
RER исходно	0,97 ± 0,17	0,97 ± 0,1	1,04 ± 0,1
RER на пике нагрузки	1,15 ± 0,14	1,15 ± 0,09	1,13 ± 0,1
V _D /V _T исходно	0,25 ± 0,14	0,25 ± 0,08	0,13 ± 0,04 ^{^#}
V _D /V _T на пике нагрузки	0,17 ± 0,07	0,14 ± 0,07*	0,23 ± 0,1

Примечание. RER – дыхательный коэффициент, используется для оценки вклада жирового и углеводного обмена; при сбалансированном питании 0,82–0,85, при преобладании углеводного обмена RER = 1, при преобладании жирового обмена RER = 0,7, RER > 1 при высокой нагрузке и нестабильном состоянии, когда продукция CO₂ превышает потребление O₂; VE/VCO₂ slope – показатель эффективности выделения углекислого газа; V_D/V_T – отношение «мертвое пространство/дыхательный объем»: в норме V_D/V_T 0,25–0,35 в покое, при нагрузке снижается до 0,05–0,02; * – p < 0,05 – достоверность различия показателей у лиц с положительной динамикой ХСН в сравнении со средним по группе; ^ – p < 0,05 – достоверность различия показателей умерших пациентов в сравнении со средними по группе; # – p < 0,05 – достоверность различия показателей умерших пациентов в сравнении с лицами с положительной динамикой ХСН.

ко максимально достигнутой мощности нагрузки, но и ее уровень по отношению к ожидаемому. Критерием высокого риска смерти в течение 1 года является достижение в процессе теста с нагрузкой мощности ≤50 Вт и/или ≤20% от ожидаемой для данного возраста.

У умерших в течение 1 года в покое наблюдалась тенденция к более выраженной тахикардии – ЧСС составила 100,3 ± 18,7 уд./мин (в среднем по группе – 88,8 ± 15,3 уд./мин, p > 0,05). У пациентов, имевших положительную динамику клинического состояния, ЧСС составила 88,3 ± 12,6 уд./мин, т. е. меньше, чем у умерших (p < 0,05). Уровень САД в покое, составивший 106,7 ± 5,8 мм рт. ст., напротив, был существенно ниже, чем в среднем по группе и чем у лиц с благоприятным прогнозом (табл. 2, p < 0,05).

Максимально достигнутое в процессе спиро-ВЭП САД в группе с неблагоприятным исходом – 122,0 ± 10,5 мм рт. ст. – было достоверно меньшим,

чем в среднем по группе – 136,0 ± 18,4 мм рт. ст. и чем в группе с наиболее благоприятным прогнозом – 141,8 ± 19,4 мм рт. ст. (p < 0,05).

Таким образом, характер гемодинамики как в покое, так и при физической нагрузке (ФН) у лиц, умерших в течение 1 года, существенно отличался от имеющих благоприятный прогноз: поддержание необходимого уровня ударного объема в покое и при нагрузке у лиц с неблагоприятным прогнозом достигалось в большей степени за счет увеличения ЧСС, а не САД, что свидетельствует о большей сохранности функциональных резервов контрактильной способности миокарда у последних.

Девять (28%) из 32 пациентов прекратили выполнение теста ввиду достижения субмаксимальной для данного возраста ЧСС. У остальных 12 (38%) пациентов тест прекращен из-за достижения максимально переносимого уровня одышки.

В группе умерших двое из троих пациентов достигли субмаксимальной ЧСС при очень низкой

мощности нагрузки – 25 и 50 Вт соответственно. Еще один пациент прекратил выполнение спироВЭП в связи с достижением максимально переносимого уровня одышки. Пациенты с благоприятным течением ХСН прекратили выполнение теста в связи с достижением субмаксимальной ЧСС в 2 (20%) случаях и при большей мощности нагрузки – 50 и 100 Вт.

Анаэробный порог (АП) – момент выполнения теста, при котором количество O_2 во вдыхаемом воздухе становится равным содержанию CO_2 в выдыхаемом воздухе, а далее количество CO_2 превышает содержание O_2 . Анаэробного порога в процессе спироВЭП достигли 25 (78%) из 32 обследованных, в группе умерших АП достиг один из троих пациентов. Мощность достижения анаэробного порога (W_{AT}) составила в среднем по группе $42,2 \pm 18,5$ Вт, в группе умерших – лишь 25 Вт.

Для всех лиц, включенных в лист ожидания ТС, было характерно низкое VO_{2max} (табл. 2), однако, у умерших оно составило лишь $8,1 \pm 1,0$ мл/кг/мин, т. е. было существенно ниже, чем в среднем по группе и чем у лиц с благоприятным прогнозом ($p < 0,05$, табл. 2). Кроме того, в группе умерших значение VO_{2max} в процентном отношении от должного в соответствии с возрастом ($24,7 \pm 7,2\%$) было существенно ниже, чем в среднем по группе – $38,2 \pm 10,3\%$ ($p < 0,05$) и чем у лиц с благоприятным прогнозом – $41,0 \pm 11,0\%$ ($p > 0,05$).

Таким образом, в настоящем исследовании установлено, что достижение $VO_{2max} < 30\%$ от должного для данного возраста может являться дополнительным критерием высокого риска смерти в течение 1 года.

Потребление O_2 при достижении анаэробного порога (VO_{2AT}) у лиц с благоприятным прогнозом составило $11,1 \pm 2,5$ мл/кг/мин, т. е. значительно больше в сравнении с выявленным у умерших – $6,8 \pm 0,7$ мл/кг/мин ($p < 0,05$).

Общепринятым критерием неблагоприятного прогноза является значение показателя эффективности выделения углекислого газа VE/VCO_2 slope >35 , о чем говорилось выше. В настоящем исследовании в группе умерших значение VE/VCO_2 slope превышало референтное значение, свидетельствовавшее о неблагоприятном прогнозе, и составило $36,2 \pm 9,9$. В группе с благоприятным прогнозом VE/VCO_2 slope составило лишь $24,2 \pm 1,9$ ($p < 0,05$). Причем среди 3 пациентов, умерших в течение 1 года, VE/VCO_2 slope >35 выявлено у 2 (67%), в группе лиц с благоприятным прогнозом VE/VCO_2 slope >35 не отмечалось ни у одного из 21 пациента.

В среднем по группе и у лиц с благоприятным прогнозом показатель эффективности внешнего дыхания V_D/V_T в покое находился в пределах нормы и

составил $0,25 \pm 0,14$ в обеих группах. У умерших значение V_D/V_T составило $0,13 \pm 0,04$, т. е. было в 2 раза меньшим, чем в среднем по группе и чем у лиц с благоприятным прогнозом ($p < 0,05$), что свидетельствует о наличии более выраженных исходных вентиляторных нарушений у умерших в течение 1 года.

У здоровых лиц значение V_D/V_T в процессе выполнения теста должно снижаться от 0,25 до 0,05–0,02. Это улучшение вентиляционно-перфузионного соотношения обусловлено ростом дыхательного объема при нагрузке. В настоящем исследовании установлено, что в среднем по группе и у пациентов с благоприятным прогнозом именно так и происходило, однако ввиду наличия ХСН снижение значения V_D/V_T все же не было достаточным. Среди лиц с благоприятным прогнозом снижение V_D/V_T в процессе нагрузки отмечалось у 20 (95%) из 21 пациента, рост – лишь у одного пациента. В то же время в группе лиц с неблагоприятным прогнозом **у всех пациентов** в процессе нагрузки наблюдался рост значения показателя V_D/V_T .

В среднем по группе значение V_D/V_T снижалось от $0,25 \pm 0,14$ в покое до $0,17 \pm 0,07$ на пике нагрузки, что является более позитивным, чем у лиц с неблагоприятным прогнозом, но все же снижение было меньше, чем в норме, что отражает наличие тяжелой ХСН у всех лиц, внесенных в лист ожидания ТС.

У лиц с благоприятным прогнозом снижение V_D/V_T происходило до $0,14 \pm 0,07$, т. е. значение данного показателя на пике нагрузки было существенно меньшим, чем у лиц с неблагоприятным прогнозом – $0,23 \pm 0,1$ ($p < 0,05$). У умерших в процессе теста, напротив, отмечался достоверный рост V_D/V_T от $0,13 \pm 0,04$ до $0,23 \pm 0,1$ ($p < 0,05$).

Объем мертвого пространства (V_D) является величиной неизменной, следовательно, рост соотношения V_D/V_T при нагрузке свидетельствует об уменьшении дыхательного объема (V_T) при нагрузке у пациентов с неблагоприятным прогнозом выживаемости.

Для построения математической прогностической модели развития смерти в течение 1 года использовалось программное обеспечение R [6]. Использованы метод главных компонент и факторный анализ, на основании чего была разработана модель прогнозирования неблагоприятного исхода.

Хотя математически эти 2 метода похожи, но они преследуют разные цели. Метод главных компонент (англ. «principal component analysis», PCA) – один из основных способов уменьшить размерность данных, потеряв наименьшее количество информации, изобретен Карлом Пирсоном в 1901 году [7]. Вычисление главных компонент сводится к вычислению собственных векторов и

собственных значений ковариационной матрицы исходных данных.

Задача анализа главных компонент имеет, как минимум, четыре базовых версии:

- аппроксимировать данные линейными многообразиями меньшей размерности;
- найти подпространства меньшей размерности, в ортогональной проекции на которые разброс данных (т. е. среднеквадратичное отклонение от среднего значения) максимален;
- найти подпространства меньшей размерности, в ортогональной проекции на которые среднеквадратичное расстояние между точками максимально;
- для данной многомерной случайной величины построить такое ортогональное преобразование координат, в результате которого корреляции между отдельными координатами обратятся в ноль [7].

Факторный анализ нацелен на то, чтобы наименьшим числом факторов объяснить корреляционные связи между переменными.

Данные корреляционного анализа между «главными факторами» (Dim. 1 – Dim. 5) и исходными значениями спироэргометрических показателей представлены в табл. 3.

Значения коэффициентов корреляции более 0,5 использованы для интерпретации полученных факторов.

Если представить данные всех пациентов с учетом исхода графически, полученная информация будет выглядеть следующим образом (рис. 1).

Обращает на себя внимание тот факт, что данные умерших пациентов в отличие от остальных расположены на графике очень компактно – в левом нижнем углу.

Попытки построить линейную (или квазилинейную – обобщенную линейную) модель для прогноза не принесли результатов.

Использование «Классификационных и регрессионных деревьев – Classification and Regression Trees» [8, 9] дало следующую модель. Пациенты

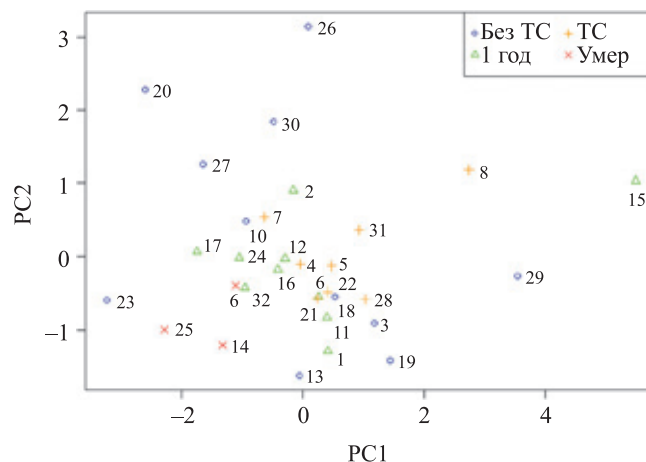


Рис. 1. Поиск ортогональных проекций с наибольшим рассеянием. Номера рядом с символами – номера пациентов из списка внесенных в лист ожидания ТС; «Без ТС» – сняты с листа ожидания ТС; «1 год» – лица, нуждающиеся в ТС, но не прооперированные в течение 1 года

Таблица 3

**Корреляция главных факторов (Dim. 1 – Dim. 5)
с количественными значениями исходных переменных**

Var.	Показатель	Dim. 1	Dim. 2	Dim. 3	Dim. 4	Dim. 5
X02	Возраст	0,033	0,450	–0,529	0,010	–0,373
X05	ИМТ	–0,038	0,667	–0,101	–0,360	0,065
X06	Рост	–0,054	–0,219	0,319	–0,241	0,086
X07	Вес	–0,065	0,605	0,054	–0,492	0,118
X08	САД исх.	0,401	0,527	–0,229	0,193	–0,045
X09	ДАД	0,481	0,599	–0,204	0,444	0,067
X10	Максимально достигнутое САД	0,757	0,359	0,028	0,102	–0,126
X11	Максимально достигнутое ДАД	0,418	0,627	0,055	0,257	0,027
X12	ЧСС исх.	–0,450	0,026	0,611	0,238	0,249
X13	Максимально достигнутая ЧСС	0,171	0,142	0,752	0,311	0,332
X14	ЧСС, % от ожидаемой	0,060	0,495	0,460	0,356	0,295
X15	Максимально достигнутая W	0,814	–0,426	0,130	–0,098	0,199
X16	Мощность нагрузки, % от ожидаемой	0,782	–0,490	–0,120	0,102	–0,025
X17	Время выполнения теста, с	0,626	–0,616	–0,021	–0,235	–0,057
X19	VO ₂ max	0,892	–0,313	0,179	0,025	0,131
X20	VO ₂ max, % от ожидаемой	0,922	0,150	–0,077	–0,051	0,054
X23	RER исходно	0,082	0,035	0,245	0,479	–0,617
X24	RER на пике	0,222	–0,308	0,384	0,172	–0,632
X26	Время до достижения анаэробного порога, с	0,434	0,134	0,039	–0,382	0,529

разделены на 2 класса в зависимости от уровня ДАД в покое:

- класс 1 – ДАД < 75 мм рт. ст.
- класс 2 – ДАД ≥ 75 мм рт. ст.

Следующая таблица кросс-классификации показывает качество прогноза (табл. 4).

Таблица 4

Исходы у пациентов с различным уровнем диастолического артериального давления

Исход	Класс 1	Класс 2	Итого
Без ТС	2	9	11
1 год	4	4	8
ТС	6	2	8
Умер	3	0	3
Итого	15	15	

У всех 3 умерших уровень ДАД был < 75 мм рт. ст., т. е. они попадали в класс 1, как и те 6 пациентов, у которых была проведена ТС. Пациенты, не нуждавшиеся в ТС – наименее urgentные, большинство из них (9 из 11) имели ДАД ≥ 75 мм рт. ст., т. е. они попадали в класс 2. Пациенты, нуждавшиеся в ТС, но не прооперированные в течение 1 года, поровну распределились в класс 1 и класс 2. Таким образом, в класс 1 попали пациенты с наиболее тяжелым течением заболевания.

Окончательный прогноз был построен с помощью самоорганизующихся карт Кохонена [10–15]. Самоорганизующаяся карта Кохонена – это нейронная сеть, выполняющая задачу визуализации и кластеризации. Идея сети предложена финским ученым Т. Кохоненом и является методом проецирования многомерного пространства в пространство с более низкой размерностью (чаще всего двумерное), применяется также для решения задач моделирования, прогнозирования и др.

Особенностью этого метода является тот факт, что модель не может быть представлена в виде простой формулы, т. е. построенная модель имеет только алгоритмическое представление – существует только в форме программы.

Таким образом, чтобы использовать построенную модель для последующего прогнозирования, нужно иметь установленную на компьютере программу R, которая является полностью свободным программным обеспечением. Обширнейшая функциональность программы «R» обеспечивается возможностью подключения необходимых пакетов.

Особенностью данного метода является то, что при использовании построенной модели для последующего прогнозирования невозможно оценить вклад отдельных переменных в качество прогноза, так как в построенной программой модели нет такой информации.

Построение модели начинается с выбора так называемого «грида» (от англ. «grid of units» – «сетка объектов»). Отображение объектов исходных данных (строк матрицы исходных данных) строится на объекты грида (сетки), причем для целей прогноза на объекты одного и того же грида отдельно строится отображение осей X и Y, что и позволяет делать прогноз данных, расположенных на оси Y, в зависимости от данных, расположенных на оси X. Таким образом, по заданному значению X можно найти наиболее близкий к нему объект грида, а по объекту грида – значение Y.

При построении модели прогноза смерти в течение 1 года в настоящем исследовании использовалась функция bdk пакета Kohonen [11–13].

Объекты грида настраиваются путем последовательной обработки строк исходных данных. При этом объекты грида существенно зависят от последовательности, в которой строки поступают на обработку. Поэтому строки подаются в случайном порядке, циклически, по умолчанию используется 100 итераций, т. е. каждая строка обрабатывается 100 раз. Расстояние объектов грида от строк исходных данных сокращается и стремится к некоторому нижнему пределу. Графически это представлено на рис. 2.

Две кривых на графике соответствуют среднему расстоянию от объектов грида до значений по оси X и Y соответственно. Для того чтобы быть уверенным, что найдено приближение к глобальному, а не локальному минимуму, рекомендуют выполнять расчеты несколько раз и сравнивать полученные результаты.

Зиновьев А.Ю. (2000) отмечает, что «выводы, сделанные по карте (Кохонена), остаются в высшей степени устойчивыми, что делает ее очень полезным инструментом в большом числе различных условий. Тем не менее всегда разумно рассчитать несколько карт прежде, чем делать выводы» [13].

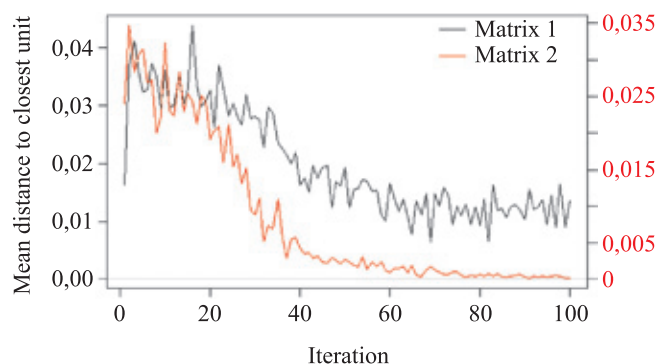


Рис. 2. Расстояние объектов грида от строк при построении модели прогноза развития смерти в течение 1 года после постановки в лист ожидания трансплантации сердца

Для того чтобы понять, какие переменные важны для прогноза, построение модели было начато с использованием всех имеющихся переменных, затем, исключая по 1 переменной, были выделены те из них, которые не влияли на качество прогноза. Оказалось, что при каждом последующем расчете исключаемые переменные оказывались другими.

На рис. 3 приведены графики, отражающие частоту исключения каждой переменной в серии расчетов.

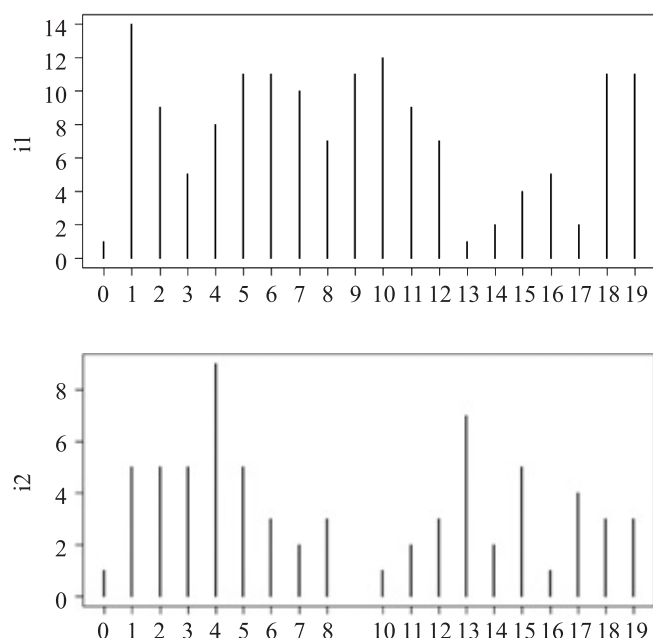


Рис. 3. Частота исключения каждой переменной в серии расчетов. По вертикальной оси – частота, с которой переменная исключалась из модели без потери качества прогноза, по горизонтальной – номер переменной, переменной с номером 0 не существует – ошибка программы. Номера переменных: 1 – ДАД; 2 – рост; 3 – VO_{2max} , % от ожидаемой; 4 – «Проба»; 5 – «Ишемия»; 6 – максимально достигнутое САД; 7 – VO_{2max} ; 8 – САД исходное; 9 – ДАД исходное; 10 – ЧСС, % от ожидаемой; 11 – возраст; 12 – время выполнения теста (с); 13 – ИМТ; 14 – ЧСС исходная; 15 – вес; 16 – максимально достигнутая ЧСС; 17 – RER; 18 – максимально достигнутая W; 19 – мощность нагрузки, % от ожидаемой

При анализе в 2 сериях наиболее часто исключались совершенно разные переменные, особенно показательны 9-я и 13-я переменные (ДАД исходное и ИМТ соответственно): в первой серии 9-я переменная (ДАД исходное) исключалась часто, во второй – ни разу; 13-я переменная (ИМТ) в 1-й серии была исключена 1 раз, во второй – 7 раз. Из этого следует, что метод не позволяет определить информативность переменных для целей прогноза.

Отбор переменных выполнялся по качеству прогноза по исходным данным, т. е. все данные исполь-

зовались для построения карты Кохонена, и по этим же данным делался прогноз. При этом выбирались лишь те модели, прогноз по которым был не хуже, чем по всем переменным. Далее, чтобы проверить корректность составленного прогноза, он был проверен скользящим экзаменом с исключением 1 строки при построении карты и построением прогноза по этой строке.

Из 11 пациентов из категории «без ТС» были распознаны правильно 8, из 7 пациентов из категории «1 год» правильно был распознан один, из 8 лиц из категории «ТС» – 3, из категории «умер» все трое были распознаны правильно. Наиболее информативный результат получен для исхода «умер», так как все 3 случая смерти с помощью разработанной программы были правильно распознаны, т. е. можно сказать, что **чувствительность разработанного метода составила 100%**. Вместе с тем 2 пациента из категории «без ТС» были ошибочно отнесены в категорию «умер», т. е. получено 2 ложноположительных результата.

Из 11 пациентов из категории «без ТС» правильно были распознаны все 11, из категории «1 год» из 7 пациентов правильно распознаны 6, из 8 «ТС» – 6, из 3 «умер» – 3.

Именно эта модель прогноза в дальнейшем была использована при создании компьютерной программы.

При построении прогноза не по четырем видам исхода («без ТС», «1 год», «ТС» и «умер»), а только по 2 («умер» и «жив») три исхода – «без ТС», «1 год» и «ТС» – были объединены в одну категорию – «жив».

Таким образом, используя приведенный выше математический расчет вероятности развития смерти у лиц, нуждающихся в ТС, была создан алгоритм расчета вероятности смерти в течение 1 года (рис. 4).

На данном примере показано, что путем ввода результатов спироВЭП в алгоритм расчета с помощью компьютерной программы в течение нескольких секунд можно получить данные о вероятности выживания данного пациента в течение 1 года после постановки в лист ожидания ТС. Вероятность выживания в данном случае достаточно велика – 0,9788, вероятность смерти, напротив, весьма низкая – 0,0212. Следовательно, пациент с приведенными выше данными и результатами спироВЭП не нуждается в проведении ТС в течение как минимум 1 года. Через год может быть рекомендовано повторное выполнение спироВЭП, внесение их в разработанную компьютерную программу, расчет вероятности смерти на протяжении последующего 1 года и оценка необходимости в проведении ТС в течение следующих 12 месяцев.

Республиканский научно-практический центр
«Кардиология»

прогноз 2-х исходов

прогноз 4-х исходов

Пациент ?

Очистить список

Пациент ?	Безмен
ИМТ	21
рост	178
ДАД	70
АД н	100
ЧСС н	138
%ожид. ЧСС н	80
Дост. W	50
%от ожидаемой, Дост. W	23
время теста, с	360
Проба	пол
VO2	13.7
%VO2 от ожидаемой	30
RER	0.8
Ишемия	да

Рассчитать

Жив	Умер
0.9788	0.0212

Рис. 4. Алгоритм расчета вероятности смерти

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем исследовании выявлены дополнительные спiroвелоэргометрические критерии высокой вероятности смерти в течение 1 года: $VO_{2max} < 30\%$ от возрастной нормы, прирост VD/VT в процессе нагрузки, максимально достигнутая мощность нагрузки ≤ 50 Вт и/или $< 20\%$ от ожидаемой с учетом возраста.

Разработана математическая модель прогноза смерти в течение 1 года с момента постановки в «лист ожидания» трансплантации сердца на основании данных спiroвелоэргометрической пробы. Данная модель прогноза легла в основу алгоритма расчета вероятности смерти в течение 1 года с помощью компьютерной программы. Использование разработанного алгоритма способствует повышению качества отбора пациентов, нуждающихся в urgentном проведении вмешательства, а также повышению эффективности динамического наблюде-

ния за пациентами, нуждающимися в трансплантации сердца.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Mancini D, Lietz K. Selection of cardiac transplantation candidates in 2010. *Circulation*. 2010; 122: 173–183.
2. Mehra MR, Kobasigawa J, Starling R et al. Listing Criteria for Heart Transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2006: 1024–1042.
3. Renlund DG, Taylor DO, Shaddy RS. New UNOS rules: historical background and implications for transplantation management. United Network for Organ Sharing. *J Heart Lung Transplant*. 1999 Nov; 18 (11): 1065–1070.
4. Jimenes J, Edwards LB, Higgins R et al. Should stable UNOS Status 2 patients be transplanted? *J Heart Lung Transplant*. Feb. 2005; 24 (2): 178–183.
5. Tavazzi L, Giannuzzi P, Dubach P et al. Recommendations for exercise testing in chronic heart failure patients Working Group on Cardiac Rehabilitation & Exercise

- Physiology and Working Group on Heart Failure of the European Society of Cardiology. *European Heart Journal*. 2001; 22: 37–45. doi:10.1053/euhj.2000.2388.
6. R Development Core Team (2007). R: A Language and Environment for Statistical Computing. [Intern] R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. Available from: <http://www.R-project.org/>.
 7. Pearson K. On lines and planes of closest fit to systems of points in space. *Philosophical Magazine*. 1901; 2: 559–572.
 8. Breiman L, Friedman JH, Olshen RA, Stone CJ. [Intern] Classification and regression trees. 1984. Belmont, CA: Wadsworth International Group. Available from: <http://www-lrn.cs.umass.edu/papers/bradford-mitecs.pdf>.
 9. Venables WN, Ripley BD. Modern Applied Statistics with S. Fourth edition. Springer 2002.
 10. Kohonen T. Self-Organizing Maps. Number 30 in Springer Series in Information Sciences. Springer-Verlag, Berlin, 3 Edition.
 11. Kohonen T. Self-Organizing Maps. Third Extended Edition. New York, 2001: 501.
 12. Debo G, Kohonen T. The analysis of financial data using self-organizing maps. Alpina Publisher, 2001: 317.
 13. Зиновьев А.Ю. Визуализация многомерных данных. Красноярск: Изд. Красноярского государственного технического университета, 2000: 180. Zinovjev AY. Vizualizaciya mnogomernich dannich. Krasnojarsk: Izd. Krasnojarskogo gosudarstvennogo technicheskogo universiteta, 2000: 180. [In Russ].
 14. Helsinki University of Technology [Intern] CIS Laboratory 2007. «Bibliography of SOM Papers». Available from: <http://www.cis.hut.fi/research/som-bibl/>.
 15. Self- and Super-organizing Maps in R: The Kohonen Package. *Journal of Statistical Software*. October 2007; 21: 5.

Статья поступила в редакцию 09.09.2014 г.

DOI: 10.15825/1995-1191-2014-4-27-32

ТРАНСФОРМИРУЮЩИЙ ФАКТОР РОСТА $\beta 1$ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ ДЕТЯМ РАННЕГО ВОЗРАСТА

Курабекова Р.М.¹, Шевченко О.П.^{1, 2}, Цирульникова О.М.^{2, 3}, Цирульникова И.Е.⁴,
Олефиренко Г.А.¹, Готье С.В.^{2, 3}

¹ Отдел регуляторных механизмов в трансплантологии ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

² ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

³ Кафедра трансплантологии и искусственных органов ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова», Москва, Российская Федерация

⁴ Отделение хирургическое № 2 ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

Трансформирующий фактор роста бета 1 (TGF- $\beta 1$) играет ключевую роль в развитии иммунного ответа, а также в процессах регенерации печени. Измерение уровня TGF- $\beta 1$ может иметь важное клиническое значение при трансплантации печени, т. к. концентрация цитокина в ткани и в плазме крови изменяется при различных заболеваниях печени. **Цель:** анализ динамики уровней TGF- $\beta 1$ у детей – реципиентов печени при трансплантации от родственного донора, в том числе от не совместимого по группе крови. **Материалы и методы.** Обследовано 127 детей в возрасте от 3 до 72 мес. (медиана – 8, средний возраст – 12 ± 14 мес.), из них 57 мальчиков и 70 девочек, с циррозом печени, развившимся в исходе врожденных и наследственных заболеваний гепатобилиарной системы. Всем пациентам была проведена трансплантация левого латерального сектора печени от живого родственного донора: 98 пациентам был пересажен фрагмент печени от идентичного или совместимого по системе АВ0 донора, а 29 – от несовместимого донора. Концентрацию ИФР-1 определяли методом ИФА в образцах плазмы крови. **Результаты.** Средний уровень TGF- $\beta 1$ в плазме крови детей, страдающих циррозом печени, развившимся в исходе врожденных и наследственных заболеваний гепатобилиарной системы, составил $5,2 \pm 5,5$ нг/мл. Через месяц после трансплантации печени от родственного донора уровень TGF- $\beta 1$ в плазме крови реципиентов повысился до $8,1 \pm 9,6$ нг/мл. Спустя год после трансплантации среднее содержание TGF- $\beta 1$ у реципиентов фрагмента печени составляло $7,7 \pm 8,4$ нг/мл и достоверно ($p = 0,00$) отличалось от уровня до трансплантации. Не выявлено связи уровня TGF- $\beta 1$ через месяц и год после трансплантации с совместимостью реципиента с донором по системе АВ0. Обнаружена корреляция ($r = -0,23$, $p < 0,05$) уровня TGF- $\beta 1$ до трансплантации с развитием дисфункции трансплантата: у реципиентов с дисфункцией трансплантата (16 случаев) уровень цитокина до операции был ниже ($p = 0,047$), чем у остальных реципиентов. **Заключение.** Трансплантация печени приводит к достоверному увеличению содержания TGF- $\beta 1$ в плазме крови детей-реципиентов и не различается у реципиентов после трансплантации фрагмента печени, совместимого и не совместимого по системе АВ0, а также у реципиентов с антигрупповыми антителами до и/или после трансплантации и без них.

Ключевые слова: родственная трансплантация печени, иммунные биомаркеры, АВ0-несовместимая трансплантация, цитокины.

Для корреспонденции: Шевченко Ольга Павловна. Адрес: 123182, г. Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. 8 (499) 190-38-77. E-mail: transplant2009@mail.ru.

For correspondence: Shevchenko Olga Pavlovna. Address: 1, Shchukinskaya st., Moscow, 123182, Russian Federation. Tel. 8 (499) 190-38-77. E-mail: transplant2009@mail.ru.

TRANSFORMING GROWTH FACTOR β 1 IN CHILDREN OF EARLY AGE WITH LIVER TRANSPLANTATION

Kurabekova R.M.¹, Shevchenko O.P.^{1, 2}, Tsirolnikova O.M.^{2, 3}, Tsirolnikova I.E.⁴, Olefirenko G.A.¹, Gautier S.V.^{2, 3}

¹ V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Department of Regulatory Mechanisms in Transplantology, Moscow, Russian Federation

² V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation

³ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Department of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation

⁴ V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Division of Surgery № 2, Moscow, Russian Federation

Transforming growth factor β 1 (TGF- β 1) plays a key role in the development of the immune response, as well as in the process of liver regeneration. Measuring the level of TGF- β 1 may have important clinical implications in liver transplantation, because cytokine concentration in the tissue and in blood plasma varies with different liver diseases. **Aim.** To analyze the dynamics of TGF- β 1 levels in children-recipients with liver transplant from related donors, including from incompatible blood groups. **Materials and methods.** The study involved 127 children aged 3 to 72 months (median – 8, average age – 12 ± 14 months), including 57 boys and 70 girls, with liver cirrhosis, developed as the result of congenital and hereditary diseases of the hepatobiliary system. All patients underwent transplantation of the left lateral liver sector from living related donors: 98 patients were transplanted fragment of a liver from identical or AB0-compatible donors and 29 – from incompatible donors. The concentration of TGF- β 1 was determined by enzyme immunoassay method in blood plasma samples. **Results.** Average level of TGF- β 1 in blood plasma of children with liver cirrhosis, developed as the result of congenital and hereditary diseases of the hepatobiliary system was $5,2 \pm 5,5$ ng/ml. A month after liver transplantation from a related donor level of TGF- β 1 in blood plasma of recipients increased to $8,1 \pm 9,6$ ng/ml. One year after transplantation, the average level of TGF- β 1 in the recipients of liver fragment was $7,7 \pm 8,4$ ng/ml, and significantly ($p = 0,00$) differed from the level prior to transplantation. No association between TGF- β 1 level in a month and a year after transplantation and the compatibility of the recipient with AB0 donor was found. A correlation ($r = -0,23$, $p < 0,05$) between level of TGF- β 1 prior to transplantation and the development of graft dysfunction was observed: in recipients with graft dysfunction (16 cases) cytokine level prior to surgery was lower ($p = 0,047$) than in other recipients. **Conclusion.** Liver transplantation leads to a significant increase in the level of TGF- β 1 in the blood plasma of children and that level is not different in recipients after transplantation of a liver fragment from AB0-compatible and AB0-incompatible donors and in recipients with anti-group antibodies before and/or after transplantation, and without them.

Key words: related liver transplantation, immune biomarkers, AB0-incompatible transplantation, cytokines.

В настоящее время трансплантация печени является единственным эффективным методом лечения детей, страдающих врожденными заболеваниями гепатобилиарной системы. Однако многие вопросы, связанные с безопасностью и эффективностью трансплантации печени, требуют дальнейшего исследования [1]. Объективными критериями функционального восстановления трансплантированной печени и организма в целом являются как рутинные лабораторные показатели, так и новые биомаркеры, отражающие состояние иммунной и других важнейших систем поддержания гомеостаза. В последние годы в трансплантологии большое внимание уделяется изучению роли ключевых молекул, регулирующих иммунный ответ, таких как неоптерин, CD30, лиганд CD40, трансформирующий фактор роста бета 1 (TGF- β 1) и другие [2, 3]. TGF- β 1 является

одним из перспективных биомаркеров в трансплантации печени, т. к. играет ключевую роль не только в развитии иммунного ответа [4], но и в процессах регенерации печени [5, 6].

TGF- β является представителем большого семейства цитокинов с плеiotропным действием на широкий спектр клеток, включенных в различные физиологические и патофизиологические процессы, такие как эмбриогенез, канцерогенез, апоптоз, фиброгенез и иммунный ответ [7]. У млекопитающих описано 3 вида TGF- β (TGF- β 1, TGF- β 2 и TGF- β 3); TGF- β 1 является формой, экспрессирующейся преимущественно в иммунной системе. Данный цитокин продуцируется практически всеми клетками организма, а в иммунной системе – различными типами лимфоцитов и клетками стромы и участвует в регуляции опосредованной T-клетками

аутоиммунной толерантности путем активной иммуносупрессии Th1- и Th2-клеток [8].

Измерение уровня TGF- β 1 может иметь важное клиническое значение при трансплантации печени, так как концентрация цитокина в ткани и в плазме крови изменяется при различных заболеваниях печени. Показано, что при фиброзе печени уровень TGF- β 1 в ткани печени повышен, а у детей с билиарной атрезией, фульминантным гепатитом и циррозом печени его уровень в плазме крови снижен [9]. Согласно данным Briem-Richter с соавторами [3], уровень TGF- β 1 вместе с другими биомаркерами может быть показателем, помогающим регулировать режим иммуносупрессивной терапии у детей – реципиентов печени.

ЦЕЛЬ

В настоящей работе проведен анализ динамики уровней TGF- β 1 у детей – реципиентов печени при трансплантации от родственного донора, в том числе от не совместимого по группе крови.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 127 детей в возрасте от 3 до 72 мес. (медиана – 8, средний возраст – 12 ± 14 мес.), из них 57 мальчиков и 70 девочек, с циррозом печени, развившимся в исходе врожденных и наследственных заболеваний гепатобилиарной системы. Этиология цирроза включала следующие заболевания: атрезия желчевыводящих путей ($n = 79$), болезнь Байлера ($n = 13$), гипоплазия желчевыводящих путей ($n = 12$), синдром Алажилля ($n = 6$), болезнь Кароли ($n = 3$) и другие ($n = 14$).

98 пациентам был пересажен фрагмент печени от живого родственного донора, идентичного или совместимого по системе АВ0. 29 детям была произведена трансплантация фрагмента печени от родственного донора, не совместимого по системе АВ0: 9 пациентам с группой 0(I) была проведена трансплантация от доноров с группой А(II), 11 пациентам с группой 0(I) – от доноров с группой В(III), 3 пациентам с группой А(II) – от доноров с группой В(III), 3 пациентам с группой А(II) – от доноров с группой АВ(IV), 3 пациентам с группой В(III) – от доноров с группой АВ(IV). У 9 детей до и/или после трансплантации печени обнаруживались антигрупповые антитела в титре более 1:8; для снижения титр антител этим пациентам проводились сеансы плазмафереза, трое из них получали препарат химерных моноклональных мышинных антител к трансмембранному антигену CD20 (ритуксимаб).

Всем пациентам проводилось клиническое и лабораторное обследование, включающее сбор анамнеза, физикальное и лабораторное обследование

(биохимический и клинический анализ крови, коагулограмма, вирусологическое и иммунологическое обследование), инструментальные (УЗИ, ЭКГ и др.) и по показаниям дополнительные исследования (МРТ головного мозга и др.).

После трансплантации левого латерального сектора печени от живого родственного донора все пациенты получали 2- или 3-компонентную иммуносупрессивную терапию, включающую такролимус.

В качестве материала для исследования использовали плазму крови, которую получали до, через месяц и через год после трансплантации печени. Концентрацию TGF- β 1 измеряли с помощью иммуноферментного метода с помощью специфического набора реагентов (Bender MedSystems, Австрия).

Данные представлены как среднее арифметическое и стандартное отклонение ($M \pm S.D.$) для параметрических и как медиана и межквартильный размах для непараметрических переменных. Статистическую обработку данных проводили методами непараметрической статистики: при сравнении независимых выборок рассчитывали U-критерий Манна–Уитни, для сравнения зависимых переменных применяли парный критерий Вилкоксона. Статистически значимыми считали различия, когда вероятность ошибки составляла менее 0,05 ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Уровень TGF- β 1 в плазме крови детей, страдающих циррозом печени, развившимся в исходе врожденных и наследственных заболеваний гепатобилиарной системы, значительно варьировал: от 0,3 до 30,9 нг/мл (медиана – 3,3 нг/мл), средний уровень составил $5,2 \pm 5,5$ нг/мл. Анализ корреляции уровня цитокина в плазме крови пациентов с полом, возрастом, диагнозом и индексом PELD (Pediatric End-stage Liver Disease, терминальная стадия болезни печени у детей) [10] не показал наличия статистически достоверных связей.

Через месяц после трансплантации печени от родственного донора уровень TGF- β 1 в плазме крови реципиентов составил от 0,4 до 42,7 нг/мл (медиана – 4,2 нг/мл), средний уровень – $8,1 \pm 9,6$ нг/мл, что было достоверно выше ($p = 0,02$), чем до операции. Спустя год после трансплантации содержание TGF- β 1 у реципиентов фрагмента печени составляло от 0,2 до 50,1 нг/мл (медиана – 5,8 нг/мл), средний уровень – $7,7 \pm 8,4$ нг/мл, и достоверно ($p = 0,00$) отличалось от уровня до трансплантации (рис. 1). Анализ связи уровня TGF- β 1 в плазме крови детей – реципиентов печени через месяц и год после трансплантации с различными клиническими параметрами, такими как возраст, пол реципиента, диагноз и индекс PELD, не показал достоверных корреляций. Не выявлено также связи уровня TGF- β 1 через ме-

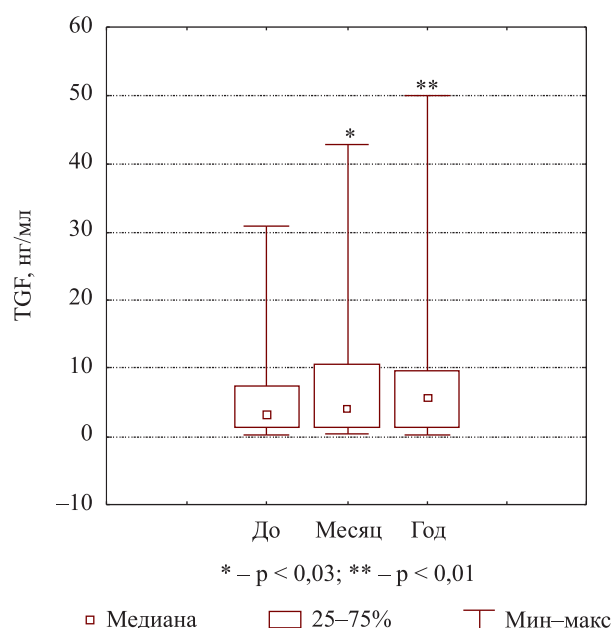


Рис. 1. Динамика уровня TGF-β1 после трансплантации печени детям

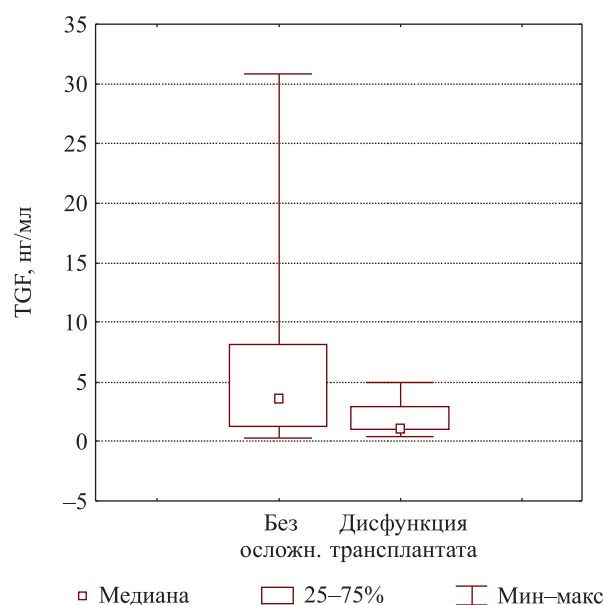


Рис. 2. Уровень TGF-β1 до трансплантации печени у пациентов без осложнений и пациентов с развившейся в послеоперационном периоде дисфункцией трансплантата

ся и год после трансплантации с совместимостью реципиента с донором по системе АВ0 или по полу.

В течение первого года послеоперационного наблюдения у 54 пациентов (43%), были диагностированы следующие виды осложнений: билиарные (желчные свищи, 26 реципиентов), коагулологические (тромбозы и кровотечения, 11 реципиентов), иммунные (кризы отторжения, 11 реципиентов), инфекционные (вирусные и бактериальные инфекции, 19 реципиентов), а также дисфункция трансплантата, которая явилась результатом различных осложнений (16 реципиентов). Анализ связи уровня

TGF-β1 в плазме крови детей – реципиентов печени через месяц и год после трансплантации с развитием указанных типов осложнений не выявил достоверных связей.

Однако анализ корреляции уровня TGF-β1 до трансплантации с развитием различных осложнений в послеоперационном периоде позволил обнаружить слабую ($r = -0,23$), но достоверную корреляцию ($p < 0,05$) с развитием дисфункции трансплантата. У тех реципиентов, у которых в послеоперационном периоде развилась дисфункция трансплантата (16 случаев), уровень цитокина до операции был достоверно ниже ($p = 0,047$), чем у остальных реципиентов (рис. 2). Таким образом, полученные данные позволяют полагать, что низкий уровень TGF-β1 до трансплантации у детей с гепатобилиарными заболеваниями может быть связан с негативным прогнозом после трансплантации печени.

Результаты настоящей работы согласуются с данными Rosensweig и соавторов [9], которые показали, что уровень TGF-β1 в плазме детей с билиарной атрезией и фиброзом печени составлял от 2 до 13 нг/мл и был достоверно ниже, чем у здоровых детей, уровень которого в среднем составлял 42 ± 6 нг/мл. Согласно данным Okamoto с соавторами [11], уровень TGF-β1 в плазме крови здоровых детей до 14 лет составлял 62 ± 19 нг/мл, отрицательно коррелировал с возрастом и был выше, чем у здоровых взрослых. Сравнение полученных нами результатов с данными других авторов показывает, что уровень TGF-β1 в плазме крови большинства детей – реципиентов печени через год после трансплантации не достигает уровня здоровых детей: лишь у 5% реципиентов плазменный уровень цитокина через год составлял около 40 нг/мл. Возможно, что более низкий уровень цитокина в плазме реципиентов может быть связан как с неполным восстановлением функции печени и организма в целом к концу первого года после трансплантации, так и с эффектом иммуносупрессивной терапии.

Содержание TGF-β1 у реципиентов, которым была пересажена печень от совместимого и не совместимого по группе крови донора, ни до ($4,8 \pm 5,5$ и $6,0 \pm 5,6$ нг/мл соответственно, $p = 0,6$), ни спустя месяц после трансплантации ($6,7 \pm 7,8$ и $12,3 \pm 13,2$ нг/мл соответственно, $p = 0,16$) статистически не различалось. Через месяц после трансплантации характер изменений уровня TGF-β1 был аналогичным у реципиентов, перенесших трансплантацию печени от совместимого и не совместимого по группе крови донора: увеличение содержания маркера не было достоверным и носило характер тенденции ($p = 0,06$; $p = 0,17$ соответственно в сравнении с уровнем до трансплантации) (рис. 3).

Динамика уровня TGF-β1 через год после трансплантации у реципиентов групп АВ0с и АВ0н пред-

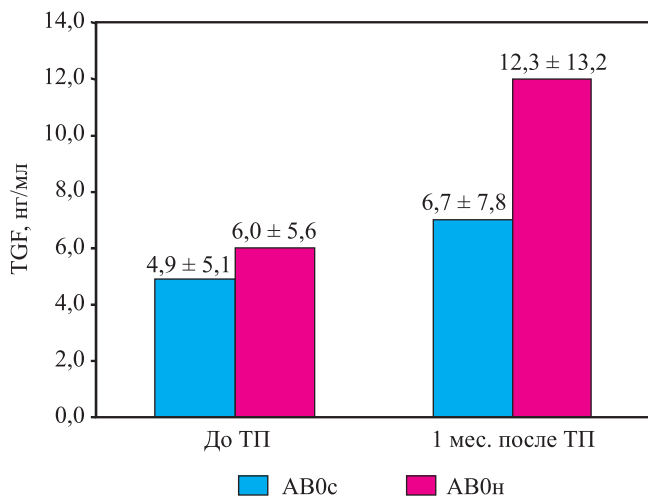


Рис. 3. Динамика уровней TGF-β1 через месяц после трансплантации печени (ТП) детям от донора, совместимого (AB0c) и не совместимого (AB0n) по группе крови

ставлена на рис. 4. Спустя год после трансплантации уровень TGF-β1 достоверно увеличился в обеих группах реципиентов: до $7,8 \pm 8,8$ нг/мл от совместимого и до $7,0 \pm 5,8$ нг/мл от несовместимого донора ($p = 0,01$; $p = 0,02$ соответственно, в сравнении с уровнем до трансплантации), но различий в указанных группах выявлено не было ($p = 0,9$).

У 9 детей с наличием до и/или после трансплантации группоспецифических антител в титре 1:8 и выше средний уровень TGF-β1 до трансплантации составил $5,5 \pm 6,2$ нг/мл и не имел достоверных отличий от такового у детей без антител – $5,1 \pm 4,9$ нг/мл, $p = 0,8$. К концу первого месяца, а также через год после трансплантации достоверных различий в среднем содержании TGF-β1 в указанных группах также не было ($p = 0,3$ и $p = 0,2$ соответственно).

Полученные в настоящей работе результаты отличаются от данных, опубликованных Hussein с соавторами [12], которые показали, что средний уровень TGF-β1 в сыворотке у детей после трансплантации печени от AB0-несовместимого донора был выше, чем у реципиентов печени от AB0-совместимого донора. Авторы делают вывод о более высоком риске отторжения трансплантата у пациентов с AB0н-трансплантацией. Следует отметить, что в обсуждаемой работе исследовано лишь 7 AB0-несовместимых реципиентов печени разного возраста (от 1,5 до 25 лет) и в разные сроки после трансплантации (от 1 года до 14 лет), что, учитывая значительный разброс значений уровня TGF-β1 у реципиентов печени и корреляцию его содержания с возрастом, не позволяет рассматривать полученные в указанной работе выводы как достаточно обоснованные. Кроме того, наблюдаемый в данной работе повышенный уровень цитокина у реципиентов с AB0н-трансплантацией составлял всего лишь $7,4 \pm 2,2$ нг/мл, что значительно ниже уровня здоровых

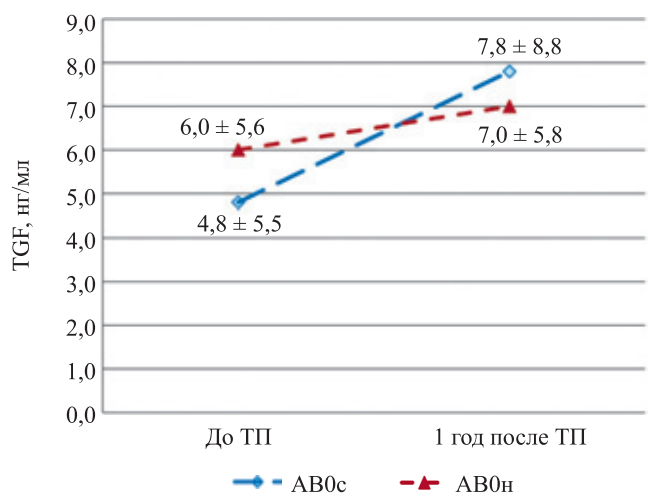


Рис. 4. Динамика уровней TGF-β1 через год после трансплантации печени детям от донора, совместимого (AB0c) и не совместимого (AB0n) по группе крови

взрослых и вряд ли может рассматриваться как фактор риска развития фиброза. Так, например, в работе Kanzler с соавторами [13] показано, что лишь при уровне цитокина в сыворотке крови пациентов с хроническим гепатитом С выше 75 нг/мл диагностировался фиброз печени. Более того, в работе Briem-Richter с соавторами [3] выявлена тенденция к повышению уровня TGF-β1 в сыворотке крови реципиентов с хорошей функцией трансплантата. Таким образом, полученное в нашей работе отсутствие различий в содержании TGF-β1 у пациентов с AB0c- и AB0н-трансплантацией печени с большей степенью вероятности может свидетельствовать о безопасности последней.

Вопрос о связи содержания TGF-β1 в крови с его эффектами на иммунную систему и развитие фиброза в трансплантате печени остается открытым. Опубликованные данные о корреляции уровня TGF-β1 в крови со степенью развития фиброза печени противоречивы: в ряде работ не удавалось обнаружить связи между уровнем цитокина и фиброзом [9, 14], тогда как в других работах такая корреляция наблюдалась [5, 13]. Противоречивость данных и сложность интерпретации результатов определения TGF-β1, по-видимому, обусловлены продукцией цитокина многими типами клеток и его плеiotропными эффектами в различных тканях. Так, известно, что цитокин участвует в регуляции процессов фиброгенеза и регенерации печени [6]: все типы непаренхиматозных клеток способны экспрессировать TGF-β1, а гепатоциты экспрессируют все 3 типа рецепторов к TGF-β [15]. Цитокин оказывает плеiotропное действие на клетки печени, так как, с одной стороны, гепатоциты очень чувствительны к действию TGF-β1 как ингибитору митоза, как *in vitro*, так и *in vivo*, а с другой стороны, через 4–72 часа после резекции печени наблюдается увеличение экспрес-

сии матричной РНК TGF- β 1 и последовательное усиление пролиферации гепатоцитов [16].

В то же время TGF- β 1 действует как ключевой профиброгенный цитокин в печени и других тканях, стимулируя продукцию различных белков экстрацеллюлярного матрикса. Основным источником цитокина в печени являются активированные Т-лимфоцитами звездчатые клетки, которые в ответ способны индуцировать апоптоз в делящихся Т-клетках [17]. Таким образом, TGF- β 1 оказывает как иммуносупрессивный эффект в плазме крови и в ткани печени, так и фиброгенный эффект в печени. Вероятно, результирующее действие TGF- β 1 зависит от концентрации в крови самого цитокина и соотношения с другими регуляторными факторами, что требует дальнейшего исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У детей раннего возраста с циррозом печени в исходе врожденных заболеваний печени и желчевыводящих путей уровень TGF- β 1 ниже, чем у здоровых детей того же возраста. Трансплантация печени приводит к достоверному увеличению содержания TGF- β 1 в плазме крови.

Уровень цитокина в плазме крови не различается у реципиентов после трансплантации фрагмента печени, совместимого и не совместимого по системе АВ0, а также у реципиентов с антигрупповыми антителами до и/или после трансплантации и без них. Результаты настоящей работы являются дополнительным аргументом в пользу безопасности трансплантации не совместимого по группе крови трансплантата печени детям раннего возраста.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Готье СВ. Очерки клинической трансплантологии. М.: Триада, 2009: 360. Gautier SV (ed.). Ocherki klinicheskoi transplantologii. M.: Triada, 2009: 360. [In Rus].
2. Shevchenko OP, Tsurulnikova OM, Gichkun OE, Kurabekova RM, Ammosov AA, Gautier SV. Plasma levels of soluble CD30 and CD40L in pediatric patients after liver transplantation. *Advances in Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2012; 124–127.
3. Briem-Richter A, Leuschner A, Krieger T, Grabhorn E, Fischer L, Nashan B et al. Peripheral blood biomarkers for the characterization of alloimmune reactivity after pediatric liver transplantation. *Pediatr Transplant*. 2013; 17 (8): 757–764.
4. Li MO, Wan YY, Sanjabi S, Robertson AK, Flavell RA. Transforming growth factor-beta regulation of immune responses. *Annu Rev Immunol*. 2006; 24: 99–146.
5. Valva P, Casciato P, Diaz Carrasco JM, Gadano A, Galdame O, Galoppo MC et al. The role of serum biomarkers in predicting fibrosis progression in pediatric and adult hepatitis C virus chronic infection. *PloS one*. 2011; 6 (8): 17.
6. Kang LI, Mars WM, Michalopoulos GK. Signals and cells involved in regulating liver regeneration. *Cells*. 2012; 1 (4): 1261–1292.
7. Blobel GC, Schiemann WP, Lodish HF. Role of transforming growth factor beta in human disease. *N Engl J Med*. 2000; 342 (18): 1350–1358.
8. Li MO, Wan YY, Flavell RA. T cell-produced transforming growth factor-beta1 controls T cell tolerance and regulates Th1- and Th17-cell differentiation. *Immunity*. 2007; 26 (5): 579–591.
9. Rosensweig JN, Omori M, Page K, Potter CJ, Perlman EJ, Thorgeirsson SS et al. Transforming growth factor-beta1 in plasma and liver of children with liver disease. *Pediatr Res*. 1998; 44 (3): 402–409.
10. Freeman RB, Jr., Wiesner RH, Roberts JP, McDiarmid S, Dykstra DM, Merion RM. Improving liver allocation: MELD and PELD. *Am J Transplant*. 2004; 9: 114–131.
11. Okamoto Y, Gotoh Y, Uemura O, Tanaka S, Ando T, Nishida M. Age-dependent decrease in serum transforming growth factor (TGF)-beta 1 in healthy Japanese individuals; population study of serum TGF-beta 1 level in Japanese. *Dis Markers*. 2005; 21 (2): 71–74.
12. Hussein MH, Hashimoto T, Abdel-Hamid Daoud G, Kato T, Hibi M, Tomishige H et al. Pediatric patients receiving ABO-incompatible living related liver transplantation exhibit higher serum transforming growth factor-beta1, interferon-gamma and interleukin-2 levels. *Pediatr Surg Int*. 2011; 27 (3): 263–268.
13. Kanzler S, Baumann M, Schirmacher P, Dries V, Bayer E, Gerken G et al. Prediction of progressive liver fibrosis in hepatitis C infection by serum and tissue levels of transforming growth factor-beta. *J Viral Hepat*. 2001; 8 (6): 430–437.
14. Lebensztejn DM, Sobaniec-Lotowska M, Kaczmarek M, Werpachowska I, Sienkiewicz J. Serum concentration of transforming growth factor (TGF)-beta 1 does not predict advanced liver fibrosis in children with chronic hepatitis B. *Hepatogastroenterology*. 2004; 51 (55): 229–233.
15. Chari RS, Price DT, Sue SR, Meyers WC, Jirtle RL. Down-regulation of transforming growth factor beta receptor type I, II, and III during liver regeneration. *Am J Surg*. 1995; 169 (1): 126–131.
16. Russell WE, Coffey RJ, Jr., Ouellette AJ, Moses HL. Type beta transforming growth factor reversibly inhibits the early proliferative response to partial hepatectomy in the rat. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988; 85 (14): 5126–5130.
17. Charles R, Chou HS, Wang L, Fung JJ, Lu L, Qian S. Human hepatic stellate cells inhibit T-cell response through B7-H1 pathway. *Transplantation*. 2013; 96 (1): 17–24.

Исследование частично профинансировано грантом Президента РФ по государственной поддержке ведущих научных исследований.
НИИ-6294.2014.7

Статья поступила в редакцию 29.09.2014 г.

DOI: 10.15825/1995-1191-2014-4-33-39

ВЗАИМОСВЯЗЬ ОБЪЕМНОЙ СКОРОСТИ КРОВотоКА ПО ПЕЧЕНОЧНОЙ АРТЕРИИ И СОСТОЯНИЯ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА ТРАНСПЛАНТИРОВАННОЙ ПЕЧЕНИ ПОСЛЕ ЕЕ РЕВАСКУЛЯРИЗАЦИИ

Гранов Д.А.¹, Тилеубергенов И.И.¹, Шаповал С.В.¹,
Майстренко Д.Н.², Пожарисский К.М.³, Кудайбергенова А.Г.³,
Боровик В.В.¹, Руткин И.О.¹

¹ Отдел оперативной хирургии и интервенционной радиологии
ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий» Минздрава России,
Санкт-Петербург, Российская Федерация

² Отделение сердечно-сосудистой хирургии ФГБУ «Российский научный центр радиологии
и хирургических технологий» Минздрава России, Санкт-Петербург,
Российская Федерация

³ Лаборатория иммуногистохимии ФГБУ «Российский научный центр радиологии
и хирургических технологий» Минздрава России, Санкт-Петербург,
Российская Федерация

Цель: оптимизация тактики хирургического лечения при ортотопической трансплантации печени (ОТП) в зависимости от данных интраоперационной флоуметрии и состояния внутripеченочного микроциркуляторного русла, по данным иммуногистохимического исследования (ИГХ) микропрепаратов донорской печени. **Материалы и методы.** В исследование включены 60 пациентов. Первая группа (n = 30) – пациенты, не требовавшие дополнительных вмешательств на сосудистом русле гепатопанкреатобилиарной зоны во время ОТП. Вторая группа (n = 30) – с недостаточным артериальным кровоснабжением трансплантата на интраоперационном этапе, где потребовалось выполнение дополнительных и/или повторных вмешательств на артериях гепатопанкреатобилиарной зоны. В группах исследования проводилась интраоперационная флоуметрия с оценкой объемной скорости кровотока (ОСК) по печеночной артерии (ПА). Референтное значение ОСК – 100 мл/мин и более. В биоптатах печени до и после реперфузии проводилось ИГХ-исследование с использованием эндотелиального маркера CD 31 с последующим морфометрическим определением удельной площади микрососудистого русла. **Результаты.** В обеих группах изменения удельной площади в зоне портального тракта и центральной вены до и после запуска кровотока не было. Во второй группе отмечалось увеличение удельной площади синусоидов после запуска кровотока в 8 раз ($p < 0,01$). **Заключение.** Интраоперационный флоуметрический контроль кровотока позволяет своевременно выполнить хирургическую коррекцию артериального кровоснабжения трансплантата во время ОТП и снижает риск тромбоза ПА до 0%. Величина ОСК по ПА имеет достоверную зависимость от состояния микроциркуляторного русла трупной донорской печени после реперфузии.

Ключевые слова: ортотопическая трансплантация печени, тромбоз печеночной артерии, объемная скорость кровотока, удельная площадь синусоидов, интраоперационная флоуметрия, иммуногистохимическое исследование ткани печени с морфометрией.

Для корреспонденции: Тилеубергенов Инхат Ибрагимович. Адрес: Санкт-Петербург, п. Песочный, ул. Ленинградская, д. 70.
Тел. +7 (911) 702-95-05. E-mail: inkhat@mail.ru.

For correspondence: Tileubergenov Inkhat Ibragimovich. Address: 70, Leningradskaya st., p. Pesochny, St. Petersburg, Russia.
Tel. +7 (911) 702-95-05. E-mail: inkhat@mail.ru.

CORRELATION OF VOLUME BLOOD CIRCULATION IN THE HEPATIC ARTERY AND THE STATE OF MICROCIRCULATORY BLOODSTREAM OF THE TRANSPLANTED LIVER AFTER ITS REVASCULIZATION

Granov D.A.¹, Tileubergenov I.I.¹, Shapoval S.V.¹, Maystrenko D.N.²,
Pozharissky K.M.³, Kudaybergenova A.G.³, Borovik V.V.¹, Rutkin I.O.¹

¹ Department of operative surgery and interventional radiology FSBI «Russian research center for radiology and surgical technologies» the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation

² Division of cardio-vascular surgery FSBI «Russian research center for radiology and surgical technologies» the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation

³ Laboratory of immunohistochemistry FSBI «Russian research center for radiology and surgical technologies» the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation

Aim: optimization of the surgical treatment policy with orthotopic liver transplantation (OLT) depending on the results of intraoperative flowmetry and the state of intrahepatic microcirculatory bloodstream according to immunohistochemical (IHC) study of microspecimens of the donor's liver. **Materials and methods.** 60 patients are included in the study. Group I (n = 30) comprised of patients for whom it was not necessary to perform any additional interventions on the bloodstream in the hepatopancreatobiliary area during OLT. Group II (n = 30) had patients with insufficient arterial blood supply for the graft in the intraoperative stage where it was needed to perform additional and/or repeated interventions in the arteries of the hepatopancreatobiliary area. Intraoperative flowmetry with assessment of the volume blood circulation (VBC) in the hepatic artery (HA) was carried out in the both studied groups. Reference value of VBC was 100 ml/min and higher. Before and after reperfusion in the liver biopsy material we performed immunohistochemical study with the use of endothelial marker CD 31 with subsequent morphometric estimation of the specific square of the microvascular bloodstream. **Results.** In both groups there was no change in the specific square in the areas of portal tract and central vein before and after restoring blood flow. In the second group, an 8 times increase of the specific square of sinusoids was observed after restoring blood flow ($p < 0,01$). **Conclusion.** Intraoperative flowmetric control of the blood flow allows in due time to perform surgical correction of the graft arterial blood supply during OLT, and it reduces the risk of thrombosis up to 0%. The value of VBC in the hepatic artery (HA) has reliable dependence upon the state of microcirculatory bloodstream of cadaveric donor's liver after reperfusion.

Key words: orthotopic liver transplantation, thrombosis of the hepatic artery, volume blood circulation, specific square of sinusoids, intraoperative flowmetry, immunohistochemical study, liver tissue, morphometry.

ВВЕДЕНИЕ

Ортоотопическая трансплантация печени (ОТП) остается единственным эффективным методом лечения больных в терминальной стадии диффузных заболеваний печени, а в отдельных случаях и при ее опухолевом поражении [1, 2].

Необходимость в выполнении ОТП велика. В нашей стране существует значительное отставание возможности ее проведения от потребности в ней. Количество выполняемых трансплантаций печени в США составляет в среднем 19,9 на 1 млн населения в год (<http://optn.transplant.hrsa.gov>), в европейских странах – 14,2 (www.eurotransplant.org), в России этот показатель на уровне 1,7 [3].

Клиническая практика показывает, что даже при строгом соблюдении общепринятых критериев пригодности донорской печени к трансплантации нередко возникают проблемы на этапе ее реваску-

ляризации, что негативно отражается на течении послеоперационного периода [4–6].

Во время пересадки и после нее донорская печень подвергается воздействию множества повреждающих факторов: гипотензия, гипоксия, ишемия (холодовая и тепловая), гепатотоксичные лекарственные препараты и др. Все это лежит в основе развития различных осложнений, как в ранние сроки после операции, так и в поздние [2, 4, 8].

Тромбоз печеночной артерии (ТПА) – это одна из основных причин недостаточности функции донорского органа. Она ведет к его потере в раннем послеоперационном периоде в 55% случаев, к гибели пациента – в 33% и является основным показанием для выполнения urgent ретрансплантации печени [5, 8, 9].

Возникновение ТПА в ранние сроки после ОТП приводит к массивному некрозу желчных протоков,

абсцессам печени, развитию сепсиса в условиях иммуносупрессии и практически неизбежной гибели пациента. Высокая летальность при развитии ТПА после ОТП обусловлена отсутствием коллатеральных артериальных кровотоков. Развитие коллатерального кровотока способствует более благоприятному течению «поздних» ТПА [4, 6, 8].

Частота развития ранних ТПА, по данным разных авторов, значительно варьирует и составляет от 2 до 15% [5, 10, 11].

Большинство авторов едины во мнении, что объемная скорость кровотока (ОСК) в ПА сразу после артериальной реконструкции во время ОТП представляется важным прогностическим фактором развития ее тромбоза. По данным различных авторских коллективов, величина ОСК варьирует в широких пределах. Средние значения ее колеблются от 93,3 до 452 мл/мин. Риск ТПА считается минимальным при значениях от 187,7 до 518 мл/мин. Таким образом, все исследователи сходятся во мнении, что величина ОСК является определяющей для прогнозирования раннего ТПА [6, 8, 11].

Нарушения артериального кровоснабжения трансплантата после этапа реваскуляризации, по мнению ряда авторов, связаны с выраженностью ишемического и реперфузионного повреждения [5, 8–10]. Следовательно, особенности повреждения микроциркуляторного русла после реваскуляризации донорской печени представляют интерес для исследования.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Улучшить непосредственные результаты ОТП путем оптимизации тактики хирургического лечения в зависимости от данных флоуметрии и оценки состояния внутриспеченочного микроциркуляторного русла, выявленных при иммуногистохимическом (ИГХ) исследовании микропрепаратов донорской печени.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Представленная работа базируется на результатах обследования и лечения 120 больных, перенесших ОТП в условиях ФГБУ «РНЦРХТ» МЗ РФ с 1998-го по 2013 г. Для анализа и оценки были отобраны данные 60 пациентов, сопоставимых по полу, возрасту, основному заболеванию и не имевших сердечной недостаточности.

Пациенты, вошедшие в исследование, были разделены на две группы сравнения. В первую (контрольную) группу ($n = 30$) включены больные с показателями интраоперационной флоуметрии, не требовавшие дополнительных вмешательств на сосудищем русле гепатопанкреатобилиарной зоны во

время ОТП. Среди них было 39% мужчин ($n = 13$; возраст $41,7 \pm 13,7$ года) и 61% женщин ($n = 17$; возраст $44,5 \pm 12,3$ года).

Вторая группа состояла из пациентов ($n = 30$) с недостаточным, по данным флоуметрии, артериальным кровоснабжением печени на интраоперационном этапе, где потребовалось выполнение дополнительных и/или повторных вмешательств на артериях гепатопанкреатобилиарной зоны. Мужчины составили 42% ($n = 14$; возраст $42,7 \pm 11,6$ года), женщины – 58% ($n = 16$; возраст $45,2 \pm 12,1$ года). Референтным значением ОСК при интраоперационной флоуметрии считали 100 мл/мин и более.

Пациенты групп сравнения были сопоставимы по демографическим показателям и нозологическим формам (рис. 1).

Во время трансплантации печени, гепатэктомия у реципиентов выполнялась следующим образом: с резекцией нижней полой вены (НПВ) без вено-венозного шунтирования (ВВШ) – у двух больных, с резекцией НПВ с использованием ВВШ – у трех, с частичным пережатием НПВ – у пяти, с полным пережатием НПВ – также у пяти, без пережатия НПВ – у 50 пациентов.

Кавакавастомия выполнялась путем интерпозиции НПВ у пяти больных, с устьями печеночных вен (piggy back) – у 42, по типу «конец в бок» – у 10 и «бок в бок» – у трех пациентов.

Реконструкция воротной вены в 100% случаев выполнялась по типу «конец в конец».

Артериальная реконструкция выполнялась следующим образом. В 1-й группе в 66,6% ($n = 20$) случаев анастомоз формировался на общей площадке гастродуоденальной артерии (ГДА) реципиента и аналогичного донорского участка трансплантата.

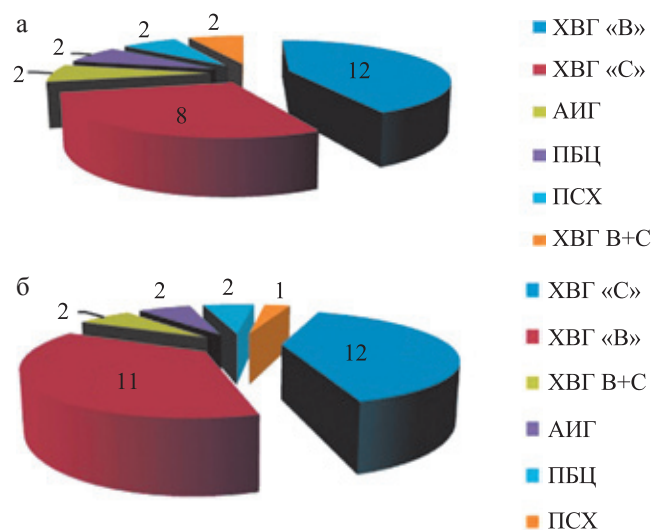


Рис. 1. Демографические показатели и нозологические формы в группах сравнения: а – пациенты I группы; б – пациенты II группы

Между собственной печеночной артерией (СПА) реципиента и аналогичной артерией донорской печени – в 16,6% ($n = 5$) случаев. Наименее часто в формировании артериального анастомоза отдельно использовались левая печеночная артерия (ЛПА) и правая печеночная артерия (ППА) реципиента и донорской печени – 13,3% ($n = 4$) случаев. В 3,3% ($n = 1$) случаев для артериальной реконструкции использован графт из подвздошной артерии донора. Анастомоз был сформирован между аортой (выше чревного ствола) и площадкой на уровне отхождения ГДА донорской печени.

Во второй группе в 73,3% ($n = 22$) случаев анастомоз также формировался на общей площадке ГДА реципиента и донорского участка трансплантата. СПА реципиента и аналогичная артерия донорской печени использованы в 16,6% ($n = 5$) случаев. ЛПА и ППА реципиента и донорской печени при формировании анастомозов использованы в 10% ($n = 3$) случаев.

Для трансплантации были использованы донорские печени, изъятые у посмертных доноров по критериям смерти головного мозга, не имевших клинико-лабораторных противопоказаний к заготовке органов.

Доноры: мужчины ($n = 34$), средний возраст которых составлял $38,2 \pm 11,5$ года; и женщины ($n = 26$) со средним возрастом $36,1 \pm 12,4$ года.

Среднее время холодовой ишемии: первая группа 422 ± 15 мин (255–590 мин), вторая группа 412 ± 13 мин (245–580 мин). Среднее время тепловой ишемии: в первой группе $38 \pm 3,2$ мин (34–42 мин), во второй группе $40 \pm 2,8$ мин (36–44 мин). Различия статистически недостоверны ($p > 0,05$).

ИНТРАОПЕРАЦИОННАЯ ОЦЕНКА ОСК

Для интраоперационного измерения ОСК по ПА использовали ультразвуковой датчик необходимого размера, подключенный к флоуметру (ультразвуковой флоуметр HT323 фирмы Transonic Systems Inc., USA). Для записи и обработки данных флоуметр подключали к персональному компьютеру посредством полиграфа.

Перед проведением измерений выполняли калибровку датчика в емкости с физиологическим раствором. В зависимости от размера печеночной артерии использовали соответствующий датчик: HQD3FMV, HQD4FMV, HQD6FMV, HQD8FMV (датчики HQ серии фирмы Transonic Systems Inc., USA), где цифра обозначает максимальный диаметр сосуда, в котором выполняется измерение. Использование датчика соответствующего размера позволяло минимизировать погрешности измерения. Датчик устанавливали на сосуд, после чего операционную рану заполняли физиологическим раство-

ром для улучшения проведения ультразвукового сигнала.

Двухканальный ультразвуковой расходомер, оснащенный встроенным печатающим устройством, позволял одновременно производить измерение объемной скорости кровотока двумя датчиками. Отображение ОСК происходило в режиме реального времени на встроенном дисплее, а также распечатывалось на встроенном принтере. Посредством полиграфа (MP30 фирмы Biopac Systems Inc., USA) флоуметр подключали к персональному компьютеру для записи и обработки данных, полученных во время флоуметрии.

MP30 – основной блок Biopac Student Lab PRO System полиграфа. В MP30 встроен микропроцессор, контролирующий поступление данных и связь с компьютером. Блок MP30 преобразовывает входящие аналоговые сигналы в цифровые, которые передаются на компьютер, имеет четыре аналоговых входных канала, подключается к USB-порту персонального компьютера. Входящее в комплект программное обеспечение BSL PRO предоставляет широкие возможности обработки и анализа результатов.

КОРРЕКЦИЯ РЕГИОНАРНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ

При недостаточности ОСК по ПА в ходе исследования был выработан определенный алгоритм действий, направленных на ее оптимизацию. При ОСК по ПА после реваскуляризации менее 100 мл/мин осуществляли инфильтрацию паравазальных тканей 2% раствором папаверина. Если в течение 5–10 мин скорость кровотока не менялась, проводили механическую дилатацию ПА зондом Фогарти, после чего вновь контролировали ОСК по ПА. При отсутствии ее увеличения более чем на 10–20 мл/мин выполняли лигирование ГДА. Осуществляли мониторинг скорости кровотока, если ОСК не достигала 100 мл/мин, лигировали селезеночную артерию, а при необходимости рассекали ножки диафрагмы и/или протезировали чревный ствол графтами из подвздошных артерий донора.

МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

В ходе работы огромное значение уделялось анализу результатов оценки биопсийного материала из донорской печени. Особенности заготовки биопсийного материала: в нативном донорском органе и через 3 часа после восстановления кровотока при ОТП выполнялась клиновидная биопсия из края правой доли печени, объемом не менее 1 см³. Биоптат фиксировался в 10% растворе формалина.

После стандартной гистологической проводки парафиновые срезы биоптатов толщиной 2–3 микрона депарафинировали в ксилоле (3 мин), дегидратировали в абсолютном спирте (3 + 2 мин) и этиловом спирте (3 + 2 мин). Активность эндогенной пероксидазы блокировали в 3% растворе перекиси водорода (5 мин при комнатной температуре). Для проведения процедуры высокотемпературного восстановления антигенной активности использовали PT MODULE (Thermo). Ретривел проводили в режиме: 8 мин – время набора температуры, время высокотемпературной обработки – 20 мин при температуре 95 °С, время охлаждения – 20 мин. Инкубирование первичными антителами проводили во влажных камерах при комнатной температуре в течение 30 мин. В последующем стекла два раза по 5 мин промывали в трис-NaCl-буфере и наносили вторичные антитела на 30 мин при комнатной температуре, после чего два раза по 5 мин промывали в трис-NaCl-буфере и проявляли комплекс «антиген–антитело» с помощью 3,3'-диаминобензидина. Затем срезы докрашивали гематоксилином Майера, дегидратировали и заключали под покровное стекло.

При световой микроскопии проводилась оценка сохранности балочной структуры, выраженности холестаза, лейкоцитарной инфильтрации и содержания гликогена. Степень жирового гепатоза определялась как процентное отношение гепатоцитов с жировыми вакуолями к общему числу гепатоцитов в поле зрения. Степень фиброза определялась по шкале METEVIR.

Иммуногистохимическое исследование и морфометрическая оценка удельной площади синусоидов проводилась ретроспективно. Для изучения микроциркуляторного русла был использован эндотелиальный маркер CD 31. Положительным результатом являлось наличие специфического коричневого окрашивания эндотелиоцитов в стенке портальных вен, синусоидов и центральных вен печеночных долек.

ПРОЦЕДУРА ОЦЕНКИ ЭКСПРЕССИИ ИГХ-МАРКЕРА

С целью получения цифровых копий гистологических препаратов каждый гистологический (ГЭ) и иммуногистохимический (CD 31) препарат был просканирован по технологии WSI с помощью сканера гистологических препаратов Pannoramic M16x. Было проведено сопоставление гистологического и иммуногистохимического изображения одного и того же участка биоптата с целью исследования коррелирующих участков соответственно классическому представлению о строении печеночной дольки и направлении кровотока в ней.

МОРФОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ УДЕЛЬНОЙ ПЛОЩАДИ СИНУСОИДОВ

С помощью программного обеспечения Pannoramic Viewer, используя алгоритм создания аннотаций, на цифровых копиях гистологических препаратов проводили отбор полей для измерения в пределах одной печеночной дольки в трех зонах: портальный тракт, центральная вена и зона синусоидов (рис. 2). Этот этап необходим для вычисления значений удельных площадей и периметров, поскольку в дальнейшем все вычисления нами осуществляются по приведенным к 1 мм² площади гистологического среза значениям. Затем, используя возможности программы и графический планшет, измеряли площадь и периметр каждого элемента, окрашенного CD31. Программа заносила данные в специальную таблицу – с разбивкой по видам биоптата (до или после включения кровотока) и по видам исследованных микрососудов: портальная вена, синусоиды, центральная вена. Всего в каждом случае нами было исследовано от 120 до 200 микрососудов.

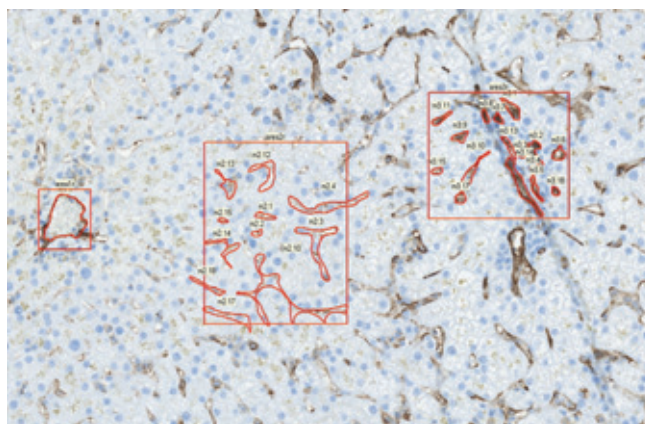


Рис. 2. Компьютерная морфометрия различных отделов микроциркуляторного русла

РЕЗУЛЬТАТЫ

В первой группе ОСК по собственной печеночной артерии после сосудистой реконструкции в среднем составила 180 ± 42 мл/мин. Причем следует отметить, что в 50% случаях ($n = 15$) ОСК была от 100 до 150 мл/мин, в 20% случаев ($n = 6$) – от 150 до 200 мл/мин и в 30% ($n = 9$) была более 200 мл/мин.

Во второй группе ОСК в среднем составила 51 ± 16 мл/мин. В 50% ($n = 15$) – от 80 до 100 мл/мин, в 30% ($n = 9$) случаев – от 50 до 80 мл/мин и в 20% ($n = 6$) – менее 50 мл/мин.

По результатам интраоперационной оценки ОСК в 1-й группе коррекция регионарной гемодинамики не проводилась.

Таблица

Данные морфометрии биоптатов печени

	I группа			II группа		
	Средняя площадь пор- тальной вены (мкм/мм ²)	Средняя площадь синусоидов (мкм/мм ²)	Средняя пло- щадь цент- ральной вены (мкм/мм ²)	Средняя площадь пор- тальной вены (мкм/мм ²)	Средняя площадь синусоидов (мкм/мм ²)	Средняя пло- щадь цент- ральной вены (мкм/мм ²)
До реперфузии	169 555	126 457	465 899	168 965	124 550*	467 987
После реперфузии	175 688	132 544	480 938	181 254	1 103 978*	478 995

Примечание. * – $p < 0,01$.

Во 2-й группе во всех случаях проводилась коррекция регионарной гемодинамики: инфильтрация паравазальных тканей папаверином, механическая дилатация печеночных артерий зондом Фогарти. Эти мероприятия были эффективны у 13 больных (43,3%).

В 17 случаях (56,7%) дополнительно выполнено лигирование гастродуоденальной артерии. Оно оказалось эффективным у 12 больных (70,6%).

В 5 случаях (29,4%) были вынуждены дополнительно лигировать селезеночную артерию (помимо ГДА), в 3 случаях, кроме того, потребовалось рассечение ножек диафрагмы и в одном случае – протезирование чревного ствола донорским графтом из подвздошной артерии. После выполнения вышеописанных мероприятий в 100% случаев ОСК по ПА возросла до 100 мл/мин и более.

При световой микроскопии значимые морфологические изменения в образцах биоптатов донорских органов после отмывки сосудистого русла и в период холодовой консервации в обеих группах не выявлены.

Жировой гепатоз – $34 \pm 13\%$ (0–48%) в 1-й группе и $34,5 \pm 12\%$ (0–52%) во 2-й группе. Различия имели недостоверный характер ($p > 0,05$).

Фиброз составил в 1-й группе $0,4 \pm 0,16$ (0–1) балла и $0,4 \pm 0,13$ (0–2) балла во 2-й группе. Полученные данные также имели статистически недостоверные отличия ($p > 0,05$).

Таким образом, по данным световой микроскопии, донорские органы, пересаженные пациентам 1-й и 2-й групп, были сопоставимы по своему качеству.

После маркировки материалов биоптатов CD 31 проведена морфометрия, оценка удельной площади сосудистого русла в трех зонах: портальный тракт, синусоиды и в зоне центральной вены в пределах одной печеночной доли (табл.).

Из полученных данных морфометрии было вычислено соотношение удельных площадей трех зон биоптата печени по группам исследования до и после реваскуляризации донорского органа, результаты представлены на рис. 3.

Как видно из таблицы и рис. 3, в обеих группах существенного изменения удельной площади в зоне

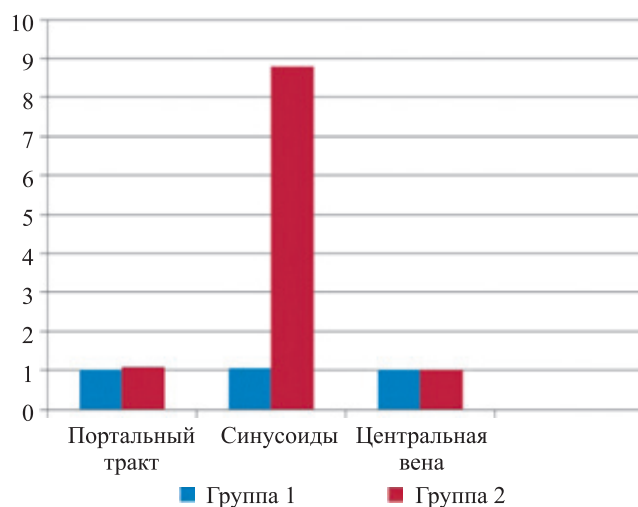


Рис. 3. Соотношение удельной площади микрососудистого русла в группах сравнения до и после запуска кровотока в донорской печени

портального тракта и центральной вены до и после запуска кровотока не отмечается. При этом во второй группе имеется статистически достоверное увеличение удельной площади синусоидов после запуска кровотока в 8 раз ($p < 0,01$). Следовательно, полученные данные морфометрии имеют непосредственную взаимосвязь с результатами интраоперационной флоуметрии.

ОБСУЖДЕНИЕ

Одним из наиболее существенных факторов, определяющих успешный исход трансплантации печени, является состояние донорского органа [2–4, 8]. Это общепринятое представление, и оно не подлежит сомнению.

В исследование было включено 2 группы пациентов после пересадки печени. Органы, использованные для ОТП, были сопоставимы по клинико-морфологическим параметрам.

Недостаточность артериального кровоснабжения трансплантированной печени ведет к грозным и зачастую необратимым осложнениям на интраоперационном этапе и в ближайшем послеоперационном периоде в виде ТПА и дисфункции транс-

плантата [2, 4, 6]. Поэтому оценка артериального кровоснабжения донорской печени, а при необходимости и его коррекция после этапа реваскуляризации, является крайне важной задачей.

Для решения этой задачи мы использовали интраоперационную флоуметрию у 60 пациентов. На основании полученных результатов больные были разделены на 2 группы: с адекватным и с недостаточным кровотоком по ПА.

В настоящее время у трансплантологов нет единого мнения об оптимальных величинах ОСК по ПА. В ходе нашей работы были признаны референтными значения ОСК 100 мл/мин и более.

Во 2-й группе, где ОСК была ниже 100 мл/мин, проводили коррекцию кровотока по ПА, направленную на его увеличение.

Более чем в половине случаев (56,7%) потребовались различные варианты лигирования артерий гепатопанкреатобилиарной зоны, направленные на перераспределение кровотоков в пользу печеночной артерии.

Следует подчеркнуть, что эти процедуры в 100% случаев позволили достичь адекватной артериальной перфузии донорского органа. Возможно, благодаря этому во всех наблюдениях нам удалось избежать такого грозного осложнения, как ТПА.

Следует отметить, что использованные для пересадки органы достоверно не отличались по основным клинико-морфологическим признакам, таким как стеатоз и фиброз.

В этой связи нам показалось интересным изучить состояние микроциркуляторного русла пересаженной печени у наших пациентов.

Исследовав различные участки микроциркуляторного русла пересаженного органа, мы обнаружили выраженные изменения удельной площади синусоидов после реперфузии у пациентов с низкой ОСК по ПА.

На наш взгляд, данный показатель отражает несоответствие артериального «притока» уровню «оттока» из донорского органа за счет высокого «периферического сопротивления» в сосудистом русле. Это свидетельствует об обоснованности принятых нами за норму референтных значений ОСК по ПА 100 мл/мин и более.

ВЫВОДЫ

1. Интраоперационный флоуметрический контроль кровотока по ПА позволяет своевременно выполнить хирургическую коррекцию артериального кровоснабжения трансплантата во время ОТП и снижает риск ТПА.
2. Величина ОСК по ПА имеет достоверную зависимость от состояния микроциркуляторного русла трупной донорской печени.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Андрейцева ОИ. Возможности ортотопической трансплантации печени при лечении больных с терминальными поражениями печени. *Consilium medicum*. 2004; 6: 414–421. Andreytseva OI. Vozmozhnosti ortotopicheskoy transplantatsii pecheni pri lechenii bol'nykh s terminal'nymi porazheniyami pecheni. *Consilium medicum*. 2004; 6: 414–421.
2. Готье СВ, Константинов БА, Цирульников ОМ. Трансплантация печени: Руководство для врачей. М.: Медицинское информационное агентство, 2008: 248. Gautier SV, Konstantinov BA, Tsiurul'nikova OM. Transplantatsiya pecheni: Rukovodstvo dlya vrachei. M.: Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo, 2008: 248.
3. Готье СВ, Мойсюк ЯГ, Хомяков СМ. Органное донорство и трансплантация в Российской Федерации в 2012 году. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2013; XV (2): 8–22. Gautier SV, Moysyuk YaG, Khomyakov SM. Organное donorstvo i transplantatsiya v Rossiyskoy Federatsii v 2012 godu. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2013; XV (2): 8–22.
4. Matsuda H, Yagi T, Sadamori H et al. Complications of arterial reconstruction in living donor liver transplantation: a single center experience. *Surg Today*. 2006; 36 (3): 245–251.
5. Settmacher U, Stange B, Haase R et al. Department of Surgery, Charité, Humboldt-University Berlin, Germany. Arterial complications after liver transplantation. *Transpl Int*. 2000; 13 (5): 372–378.
6. Stange BJ, Glanemann M, Nuessler NC et al. Hepatic artery thrombosis after adult liver transplantation. *Liver Transpl*. 2003 Jun; 9 (6): 612–620.
7. Шкалова ЛВ, Мойсюк ЯГ, Готье СВ и др. Морфология ишемического повреждения аллотрансплантационной печени по данным исследования пункционных биоптатов. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2010; 3: 16. Shkalova LV, Moysyuk YaG, Gautier SV i dr. Morfologiya ishemicheskogo povrezhdeniya allotransplantirovannoy pecheni po dannym issledovaniya punktsionnykh biopptatov. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2010; 3: 16.
8. Ohdan H, Tashiro H, Ishiyama K et al. Microsurgical hepatic artery reconstruction during living-donor liver transplantation by using head-mounted surgical binocular system. *Transpl Int*. 2007; 20: 970.
9. Bekker J, Ploem S, K. P. de Jong Early Hepatic Artery Thrombosis after Liver. Transplantation: A Systematic Review of the Incidence, Outcome and Risk Factors. *Am J Transplant*. 2009; 9: 746–75.
10. Gonsar F, Rolando N, Pastacaldi S et al. Late hepatic artery thrombosis after orthotopic liver transplantation. *Liver Transpl*. 2003 Jun; 9 (6): 605–611.
11. Lin M, Crawford M, Fisher J et al. Hepatic artery thrombosis and intraoperative hepatic artery flow rates in adult orthotopic liver transplantation. *ANZ J Surg*. 2002 Nov; 72 (11): 798–800.

Статья поступила в редакцию 29.05.2014 г.

DOI: 10.15825/1995-1191-2014-4-40-44

ТИТРОВАНИЕ ИЗОАГГЛЮТИНИНОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СОВРЕМЕННЫХ ГЕЛЕВЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ПРИ АВ0-НЕСОВМЕСТИМЫХ ТРАНСПЛАНТАЦИЯХ

Порунова А.К., Морозова В.В., Цирульникова И.Е., Цирульникова О.М., Готье С.В.

ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

Цель: создать лабораторный метод, позволяющий точно, надежно и наглядно производить титрование групповых антител системы АВ0, в том числе у пациентов с низкой исходной концентрацией агглютининов в крови; более экономный в плане расходования сыворотки крови, требующий меньших затрат времени. **Материалы и методы.** Эмпирически подобраны режимы, обеспечивающие возможность титрования агглютининов системы АВ0 с помощью микротипирующей гелевой технологии, проанализирован материал 1640 определений титра групповых антител сыворотки крови реципиентов при АВ0-несовместимой трансплантации. **Результат** использования разработанного нами метода при трансплантации органов от не совместимых по группе крови доноров заключается в повышении точности, чувствительности титрования естественных, полных и неполных иммунных антител системы АВ0, в обеспечении его наглядности, использования микродоз крови обследуемого, что особенно важно в педиатрии, это способ, позволяющий на более ранних стадиях выявить появление сенсибилизации пациента. **Заключение.** Разработанная методика титрования АВ0-антител с применением современных гелевых технологий дает возможность более точного мониторинга титра антител, что необходимо для прогнозирования риска отторжения трансплантата, выбора протокола предоперационной подготовки и послеоперационного ведения пациента, для оценки эффективности проводимой терапии у пациентов, которым затруднительно подобрать донора, совместимого по группе крови и для которых сегодня АВ0-несовместимая трансплантация является жизненноспасающей.

Ключевые слова: АВ0-несовместимая трансплантация, титрование изоагглютининов, гелевые технологии.

TITRATION METHOD OF AB0 ANTIBODIES WITH THE USE OF MODERN GEL TECHNOLOGY IN AB0-INCOMPATIBLE TRANSPLANTATION

Porunova A.K., Morozova V.V., Tsirolnikova I.E., Tsirolnikova O.M., Gautier S.V.

V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

It is shown that developed method of titrating AB0 antibodies allows defining the titer of the investigational antibodies more precisely on 1–3 dilution of serum compared to the prototype method (titration method of antibodies in saline medium on the plane). It is more obvious as it excludes hardly interpretable results due to the possibility of conducting visual assessment of agglutination reaction in the gel card thick column and requires less time for analysis. The results can be saved for comparison with the results of further research. That is not possible under prototype titration method. **Aim:** our aim is to create a laboratory technique that can accurately, reliably and clearly produce titration of AB0 system antibodies, including in patients with low initial concentration of agglutinins in the blood; a technique more economical in terms of spending serum and that takes less time. **Materials and methods:** those modes were empirically chosen which allow titration of AB0 system agglutinins using gel technology based micro typing; to titer group antibodies 1640 serum assays of recipients in AB0-incompatible transplantation were analyzed. **The result** of the use of specially developed method in organ transplantation from

Для корреспонденции: Порунова Анна Константиновна. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. 8 (499) 193-37-37. E-mail: opknii@yandex.ru.

For correspondence: Porunova Anna Konstantinovna. Address: 1, Shchukinskaya st., Moscow, 123182, Russian Federation. Tel. 8 (499) 193-37-37. E-mail: opknii@yandex.ru.

incompatible blood donors consists in enhancing accuracy, sensitivity of natural, complete and incomplete ABO system immune antibodies titration, in its clarity, using of blood micro-doses for earlier detection of sensitizing of the patient, which is especially important in Pediatrics. **Conclusion:** the developed procedure of ABO-antibodies' titration using modern gel technology makes possible a more precise monitoring of the titer of antibodies that is necessary to predict the graft rejection risk, to select the Protocol of preoperative preparation and postoperative management of patients, to assess the effectiveness of therapy in patients for whom it is difficult to find a compatible blood type donor, and for whom today ABO-incompatible transplantation is a life-saving.

Key words: ABO-incompatible transplantation, titration of ABO-antibodies, gel technology.

Недостаток донорских органов приводит к увеличению числа пациентов, ожидающих трансплантацию. Одним из путей, дающих возможность увеличить число доноров печени и почки, является преодоление иммунологического барьера – ABO-несовместимости. Несовместимость по ABO зачастую приводит к отказу от подходящего по другим параметрам донора. Трансплантация ABO-несовместимого органа может привести к реакции опосредованного антителами молниеносного отторжения (hyperacute rejection). В зависимости от распределения групп крови в различных популяциях исключаются около 30–35% потенциальных живых доноров вследствие несовместимости по ABO.

Первые ABO-несовместимые трансплантации были проведены в середине прошлого века, однако результат был негативным в связи с реакцией молниеносного отторжения. Наибольшее число ABO-несовместимых трансплантаций проведено в Японии, где опубликованы успешные долгосрочные результаты ABO-несовместимой трансплантации почки от живых доноров [1]. После введения в практику специфических анти-А или анти-В иммуносорбционных колонок (Glycosorb®) и анти-CD20 моноклональных антител (rituximab) в различных терапевтических режимах ABO-несовместимая почечная трансплантация стала обычной процедурой в европейских странах, особенно в Швеции и Германии [2, 3].

Разработка предоперационного протокола подготовки для достижения целевого титра анти А/В < 1: 16 в последние годы дала возможность снизить и поддерживать анти-А/В титры против группы крови донора на уровне, достаточном для предотвращения антитело-опосредованной реакции отторжения, и проводить ABO-несовместимые трансплантации. Основным фактором выживания трансплантата является предотвращение молниеносной реакции отторжения и установление аккомодации. Аккомодация означает отсутствие реакции антиген – антитело, несмотря на наличие «чужеродного» антигена на эндотелиальных клетках сосудов трансплантата и наличие антител в крови реципиента [4]. Протоколы в США и Японии отличаются от протоколов большинства европейских центров, где с целью удаления антител используется антиген-специфическая иммуносорбция, реже, чем обмен плазмы (плазма-

ферез с использованием для замещения донорской плазмы AB(IV) группы крови или кровезаменителей). Иммуносорбция с анти-А/В-специфическими Glycosorb® колонками является эффективным способом удаления анти-ABO-антител, без побочных эффектов, присущих плазмаферезу – коагуляционные расстройства, возможность передачи вирусных инфекций при использовании свежемороженой плазмы или аллергических реакций.

Однако остается еще много нерешенных вопросов. Неизвестно, каков приемлемый верхний уровень титра ABO антител во время трансплантации, для предотвращения антитело-опосредованной реакции отторжения. Есть мнение, что при использовании новейших режимов иммуносупрессии трансплантацию можно проводить безопасно при титре 1:32 [5]. Однако воспроизводимость результатов тестов мониторинга изоагглютининов и методики отличается в различных центрах по техническим причинам.

В лаборатории отделения переливания крови Федерального научного центра трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова накоплен значительный опыт мониторинга агглютининов при ABO-несовместимых трансплантациях почек и печени от живых доноров-родственников [6]. Реципиентами части печени в большинстве случаев являлись дети. Известно, что у детей титры агглютининов ниже, чем у взрослых, из-за несовершенства иммунной системы, которая достигает зрелости к 5–10-му году жизни.

Рекомендуемый Приказом МЗ РФ № 2 от 09.01.1998 г. метод титрования антител в солевой среде на плоскости, как оказалось на практике, является недостаточно чувствительным, в связи с чем мы длительное время занимались его усовершенствованием, используя для титрования гелевые карты, одновременно в параллели титровали сывротки общепринятым способом (изогемагглютинирующий тест серийных разведений в солевой среде на плоскости) [7, 8]. В результате мы получили современную методику:

- более чувствительную (разница в титре на 1–3-й степени разведения), что позволяет на более ранних этапах выявить изоиммунизацию групповыми факторами системы ABO;

- более наглядную – на гелевых ID-картах исключаются трудно интерпретируемые результаты, особенно при низких исходных титрах антител у детей раннего возраста;
- требующую для исследования незначительное количество (микродоза) сыворотки (что немало важно в педиатрии);
- требующую меньше времени для анализа.

Возможно, наш опыт мониторинга АВ0-антител с использованием современных гелевых технологий будет полезен сотрудникам лечебных учреждений, занимающихся трансплантацией. Предлагаем подробное описание разработанной нами методики.

Микротипирующая гелевая технология предложена французским ученым Y. Lapierre в 1986 году. Эта технология использует комбинацию методов агглютинации и гель-фильтрации. Все реакции проводятся в пластиковых диагностических карточках, которые содержат специальный гель.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИТРА АГГЛЮТИНИНОВ

В нашей лаборатории для определения титра естественных и иммунных антител системы АВ0 используется изоагглютинирующий тест серийных разведений в солевой среде с последующим переносом и детекцией образцов в гелевых картах.

ID-гелевая система представляет собой пластиковые карты с микропробирками, заполненными гелем, к которому добавляются эритроциты и сыворотки. Пробирки с гелем содержат модифицированный Sephadex и предназначены для скрининга антител. После центрифугирования в специальной центрифуге агглютинированные эритроциты задерживаются в верхних слоях геля, в то время как неагглютинированные эритроциты, беспрепятственно пройдя через гель, образуют осадок на дне пробирок. Положительные реакции наглядно отличаются от отрицательных и могут быть разделены по силе реакции. Всего с 2010 года проведено титрование изоагглютининов для 70 разнотипных трансплантаций печени, почек, сердца. Для одного пациента в среднем проводилось от 2 до 5 титрований до операции и от 5 до 30 титрований после операции. Всего было выполнено 1640 титрований; 110 титрований были поставлены в параллели с солевым методом на плоскости.

ОСНАЩЕНИЕ

- Стандартные эритроциты группы A₁(II) и B (III) ID-DiaCell AB0 0,8% Bio-Rad или Grifols Serigrup Diana A₁/B.
- Изотонический 0,9% раствор NaCl.
- Культуральный планшет для разведения сыворотки на 24 лунки (вместо него можно использовать пробирки типа эппендорф, планшет для ИФА).
- Гелевые карты нейтральные Bio-Rad ID-Card «NaCl, Enzyme Test and Cold Agglutinins».
- Гелевые карты с реактивом Кумбса LISS/Coombs Anti-IgG + C3d.
- Термостат 37 °C.
- Центрифуга для гелевых карт ID-Centrifuge 12 SII.
- Термостат на 70 °C.
- Дозаторы с переменным объемом от 25 до 200 мкл.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИТРА ЕСТЕСТВЕННЫХ α- И β-АНТИТЕЛ

1. Для определения естественных α- и β-антител класса Ig M сыворотку последовательно разводим в планшете от 1:1 до 1:1024. Начиная со второй лунки в каждую лунку планшета вносим 200 мкл изотонического раствора NaCl.
2. В первую и во вторую лунку вносим по 200 мкл неразведенной сыворотки. Во второй лунке сыворотку перемешиваем (пипетированием) с раствором NaCl, затем 200 мкл разведенной сыворотки переносим в третью лунку, где перемешиваем (пипетированием) и переносим в четвертую лунку и так далее до последней лунки, где получается разведение 1024 (рис. 1).
3. Подписываем гелевую нейтральную карту (Ф. И. О. пациента, дата исследования, разведение).
4. Затем в каждую колонку гелевой карты вносим 50 мкл стандартных эритроцитов A₁, если определяем титр α изоагглютининов, и стандартных эритроцитов B, если определяем титр β изоагглютининов.
5. В первую колонку вносим 25 мкл неразведенной сыворотки, во вторую и последующие колонки вносим по 25 мкл разведенных сывороток.

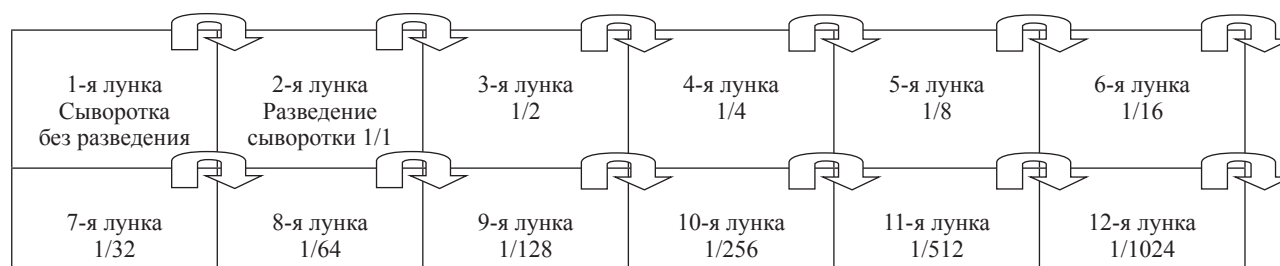


Рис. 1. Схема разведения сыворотки в культуральном планшете

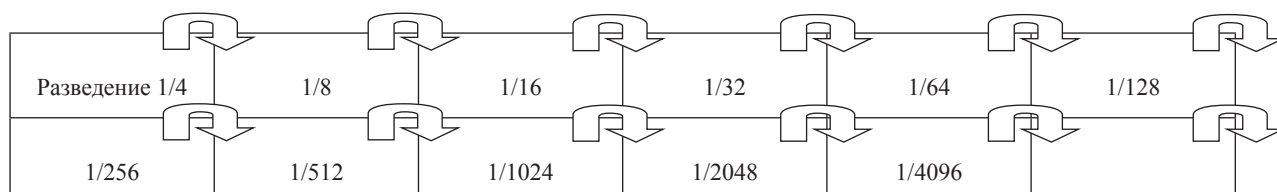


Рис. 2. Схема разведения в гелевой карте LISS/Coombs

6. Карты оставляем на 20–25 мин при комнатной температуре для реакции агглютинации.
7. Затем карты откручиваем в центрифуге при стандартном режиме для карт 10 мин и оцениваем результаты. Титром считается последнее разведение, в толще колонки которого будут наблюдаться сагглютинированные эритроциты (следующая колонка, в которой все эритроциты осели на дно, уже считается отрицательной.).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИММУННЫХ АНТИТЕЛ СИСТЕМЫ АВ0 (АНТИ-А И АНТИ-В)

По приказу № 2 от 9 января 1998 г., в соответствии с инструкцией «Определение полных иммунных антител системы АВ0 реакцией солевой агглютинации» исследуемую сыворотку (не плазму) в пробирке эппендорф разводим в четыре раза изотоническим раствором NaCl (например, 100 мкл сыворотки + 300 мкл NaCl) во избежание коагуляции при нагревании, затем прогреваем в течение 10 мин при 70 °С, точно соблюдая температуру и время. Таким образом, получаем прогретую сыворотку с разведением 1/4 (при этом естественные групповые антитела α и β инактивируются). Далее для определения полных иммунных антител титруем прогретую сыворотку по методике определения титра естественных групповых антител, описанной нами выше, с применением нейтральных гелевых карт.

С целью выявления неполных иммунных IgG-антител (анти-А и анти-В) исследование разведенной в четыре раза, прогретой сыворотки дополняем постановкой реакции непрямой агглютинации с кроличьими IgG-антителами, нанесенными в гелевую карту LISS/Coombs (реакция Кумбса).

1. Определение неполных иммунных антител начинаем последующим разведением прогретой и разведенной раствором NaCl 1/4 сыворотки в культуральном планшете, как для естественных изоагглютининов. Начиная со второй лунки, в каждую лунку вносим 200 мкл изотонического раствора NaCl.
2. В первую и во вторую лунку вносим по 200 мкл прогретой сыворотки с разведением 1/4. Во второй лунке сыворотку перемешиваем раствором NaCl, используя пипетку, затем 200 мкл разведенной сыворотки переносим в третью лунку, где перемешиваем и 200 мкл переносим в чет-

вертую лунку, и так далее до последней лунки, где получается разведение 4096. Если сыворотка титруется второй раз и известен ее последний титр, то достаточно внести в карточку последнее известное разведение +2 разведения (рис. 2).

3. Подписываем гелевые карты LISS/Coombs Anti-IgG + C3d.
4. Затем в каждую колонку гелевой карты Liss/Coombs вносим 50 мкл стандартных эритроцитов A₁, если определяем титр анти-А и эритроцитов В, если определяем титр анти-В. При необходимости определения титра анти-А и анти-В количество колонок удваивается.
5. В первую колонку вносим 25 мкл сыворотки с разведения 1/4, во вторую и последующие колонки вносим по 25 мкл последовательно разведенных сывороток.
6. Карты оставляем на 20–25 мин при 37 °С для реакции агглютинации.
7. Затем карты откручиваем в центрифуге при стандартном режиме для карт 10 мин. Оцениваем результаты: титром антител считается последнее разведение, при этом в толще колонки гелевой карты будут наблюдаться сагглютинированные эритроциты (следующая колонка, в которой все эритроциты осели на дно, уже считается отрицательной).

ТРАКТОВКА РЕЗУЛЬТАТОВ

В ходе исследования выявляются естественные полные антитела – агглютинины α и β (термолabile) и иммунные полные и неполные анти-А и анти-В (термостабильные).

Наличие иммунных антител полной или неполной формы свидетельствует об имевшем место поступлении в организм человека антигена, не совместимого по АВ0-системе [7].

Высокий титр нормальных агглютининов α и β (α выше, чем 1:256, и β выше, чем 1:128) даже при отсутствии иммунных термостабильных антител в момент исследования, отражает состояние повышенной сенсibilизации организма и позволяет сделать предположение о бывшем в предшествующее время поступлении антигена, не совместимого по системе АВ0 [7].

Отсутствие иммунных термостабильных антител анти-А и анти-В при титре естественных изоаг-

глютенинов α не выше, чем 1:256, и β не выше, чем 1:128, говорит об отсутствии у человека изоиммунизации групповыми факторами системы АВ0.

ВЫВОДЫ

Разработанная методика титрования АВ0-антител с применением современных гелевых технологий дает возможность более точного, более наглядного, в особенности у пациентов с низкой исходной концентрацией агглютининов в крови, мониторинга титра антител, что необходимо для прогнозирования риска отторжения трансплантата, выбора протокола предоперационной подготовки и послеоперационного ведения пациента, для оценки эффективности проводимой терапии у пациентов, которым затруднительно подобрать донора, совместимого по группе крови, для которых сегодня АВ0-несовместимая трансплантация является жизненноспасающей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показано, что разработанный нами способ титрования АВ0-антител позволяет точнее на 1–3 разведения сыворотки крови, по сравнению с прототипом (метод титрования антител в солевой среде на плоскости), определить титр исследуемых антител. Он является более наглядным, поскольку исключает трудно интерпретируемые результаты за счет возможности проведения визуальной оценки реакции агглютинации в толще колонки гелевой карты, требует меньше времени для анализа. При этом результаты могут быть сохранены для сравнения с результатами дальнейших исследований, что невозможно при титровании по способу-прототипу.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Takahashi K, Saito K, Takahara S et al. Excellent long-term outcome of AB0-incompatible living donor kidney transplantation in Japan. *Am J Transplant.* 2004; 4: 1089–1096.
2. Tyden G, Kumlien G, Genberg H et al. AB0-incompatible kidney transplantations without splenectomy, using antigen-specific immunoabsorption and rituximab. *Am J Transplant.* 2005; 5: 145–148.
3. Tyden G, Kumlien G, Genberg H et al. The Stockholm experience with AB0-incompatible kidney transplantations without splenectomy. *Xenotransplantation.* 2006; 13: 105–107.
4. Takahashi KA. New concept of accommodation in AB0-incompatible kidney transplantation. *Clin Transplant.* 2005; 19 (14): 76–85.
5. Shimmura H, Tanabe K, Ishikawa N et al. Role of anti-A/B antibody titers in results of AB0-incompatible kidney transplantation. *Transplantation.* 2000; 70: 1331–1335.
6. Готье СВ, Цирульников ОМ, Аммосов АА и др. Опыт АВ0-несовместимых трансплантаций печени. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2011; 2: 21–28. Gautier SV, Tsirol'nikova OM, Ammosov AA i dr. Opyt AB0-nesovmestimykh transplantatsiy pecheni. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov.* 2011; 2: 21–28.
7. Приказ МЗ РФ № 2 от 09.01.1998 г. Об утверждении инструкций по иммуносерологии. 180–186. Prikaz MZ RF № 2 ot 09.01.1998 g. Ob utverzhdenii instruktsiy po immunoserologii. 180–186.
8. Минеева НВ. Группы крови человека. Основы иммунологии, 1-е изд. 2005: 94–123. Mineeva NV. Gruppy krovi cheloveka. Osnovy immunogematologii, 1-e izd. 2005: 94–123.

*Исследование частично профинансировано грантом Президента РФ по государственной поддержке ведущих научных исследований.
НИ-6294.2014.7*

Статья поступила в редакцию 11.06.2014 г.

DOI: 10.15825/1995-1191-2014-4-45-54

ВОЗБУДИТЕЛИ БАКТЕРИЕМИЙ И МИКРОБИОТА КИШЕЧНИКА У РЕЦИПИЕНТОВ ДОНОРСКОЙ ПЕЧЕНИ

Габриэлян Н.И., Горская Е.М., Драпкина И.В., Спирина Т.С.,
Цирульникова О.М.

ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов
имени академика В.И. Шумакова» Минздрава РФ,
Москва, Российская Федерация

Цель: исследование микробиоты кишечника, а также исследование характера и особенностей флоры, выделяемой из крови, трахеальных, внутрисосудистых катетеров и дренажей брюшной полости, у реципиентов доли родственной печени. **Материалы и методы.** Проведен ретроспективный анализ результатов клинико-лабораторных и бактериологических исследований 235 реципиентов фрагмента печени от родственного донора. Возраст реципиентов – 1–17 лет. Микробиологическое исследование содержимого кишечника, трахеи, крови, сосудистых катетеров осуществляли путем посева материала на стандартные питательные среды. Идентификацию микробов проводили с помощью панелей BD Crystal и базы данных BBL Crystal MIND. Чувствительность выделенных штаммов условно-патогенных бактерий к антибиотикам исследовали диско-диффузионным методом на среде Мюллера–Хинтона в соответствии со стандартами NCCLS. **Результаты.** В процессе исследования выявлены глубокие микрoэкологические нарушения кишечника. У всех реципиентов печени снижено содержание резидентной микрофлоры с выраженным уменьшением содержания бифидобактерий, лактобацилл и кишечных палочек. Показано нарастание частоты выделения условно-патогенных грамотрицательных бактерий, особенно клебсиелл и энтеробактеров (до 100%). В единичных случаях обнаружены неферментирующие грамотрицательные бактерии, в частности синегнойные палочки. Среди грамположительных бактерий преобладали коагулазоотрицательные стафилококки. При анализе результатов исследования спектра возбудителей эпизодов бактериемий послеоперационного периода у основной когорты обследованных, реципиентов со штатным послеоперационным течением (группа 1), было показано, что основными возбудителями являются представители грамположительной кокковой флоры, как правило, коагулазонегативные стафилококки (*CNS*) и энтерококки (*Ent. spp.*). Единичные случаи выделения грамотрицательной флоры были связаны с представителями рода клебсиелл, семейства энтеробактерий. Иная картина наблюдалась у реципиентов с формированием тяжелых форм бактериальных инфекций (группа 2). При развитии тяжелых инфекционных осложнений из крови изолировали *Pseudomonas aeruginosa* (44%) или *Klebsiella pneumoniae* (36%). Аналогичные микроорганизмы высеяны у этих же пациентов и из сосудистых катетеров. При этом важно отметить, что существенных различий в содержании клебсиелл и неферментирующих микроорганизмов в составе микробиоты кишечника пациентов обеих групп не выявлено. **Заключение.** *Klebsiella pneumoniae* является основным патогеном, высокое содержание которого в составе кишечной микробиоты характерно для всех обследованных реципиентов доли печени. Выделение *Klebsiella pneumoniae* из крови составило 23,7% для пациентов с развитием тяжелых форм инфекционных осложнений и 12,9% при эпизодах бактериемий у реципиентов при штатном течении послеоперационного периода. Подобной зависимости в отношении *Pseudomonas aeruginosa* не выявлено.

Ключевые слова: микробиота кишечника, трансплантация доли печени, бактериемия, условно-патогенные микробы.

Для корреспонденции: Габриэлян Нина Индзаровна. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. +7 (499) 748-53-09. E-mail: labgso@mail.ru.

For correspondence: Gabrielyan Nina Indzarovna. Address: 1, Shchukinskaya st., Moscow, 123182, Russian Federation. Tel. +7 (499) 748-53-09. E-mail: labgso@mail.ru.

CAUSATIVE AGENT OF BACTEREMIA AND INTESTINAL MICROBIOTA IN RECIPIENTS OF DONOR LIVER

Gabrielyan N.I., Gorskaya E.M., Drapkina I.V., Spirina T.S., Tsirolnikova O.M.

V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

Aim. To study microbiota of the intestinal tract of recipients with cirrhosis of the liver lobes before transplantation and its association with postoperative bacteremia pathogens. **Materials and methods.** Microbiota of the intestinal tract was studied in 235 recipients (1–17 years) prior to transplantation of the liver fragment from a related donor (2005–2014). Microbiological study of intestinal contents, trachea, blood, vascular catheters was performed by plating a material on the standard culture medium. Identification was carried out using microbial BD Crystal panels and BBL Crystal MIND databases. Susceptibility of isolated opportunistic bacteria to antibiotics was investigated by disk diffusion method. **Results.** Deep microecological disturbances in the intestinal tract in children were revealed. All recipients showed the reduction of resident microbiota with reduced content of bifidobacteria, lactobacilli and coliform bacteria. The growth rate of isolating opportunistic Gram-negative bacteria, especially *Klebsiella* and *enterobacteria* (up 100%) was detected. Non-fermenting Gram-negative bacteria, in particular, *Pseudomonas aeruginosa* were isolated rarely. Among Gram-positive bacteria dominated *coagulase-negative staphylococci* (CoNS). In patients with unremarkable post-transplant period (Group 1) CoNS and *enterococci* were often isolated. In the blood of patients with complicated postoperative period (Group 2) *Pseudomonas aeruginosa* (44%) and *Klebsiella pneumoniae* (36%) were isolated. Similar microorganisms were seeded from vascular catheters of the same patients. It is worth noting that no essential differences in the content of *Klebsiella* and non-fermenting microorganisms in microbiota of the intestinal tract of the recipients of both groups were not determined. **Conclusion.** Studies showed deep microecological disorders of the intestinal microbiota. *Klebsiella pneumonia* was the main pathogen, whose high content was detected in all liver lobe recipients studied. Isolation of *Klebsiella pneumonia* in the blood was 23,7% in patients with complicated postoperative period, and 12,9% in those with unremarkable post-transplant period. No such dependence was revealed in relation to *Pseudomonas aeruginosa*.

Key words: microbiota of the intestinal tract, liver lobe transplantation, bacteremia, opportunistic microbes.

ВВЕДЕНИЕ

В результате наследственных и врожденных заболеваний гепатоцеллюлярной системы формируются циррозы печени, приводящие в терминальной стадии к летальному исходу. Жизнеспасающей операцией при циррозах печени различной этиологии является трансплантация печени (ортотопическая или чаще – фрагмента печени от близкого родственника). С развитием новых хирургических технологий выживание пациентов в течение года после операции превышает 90%, а пятилетнее составляет более 80% [1]. На благополучный исход операции влияет коррекция белково-энергетической недостаточности, диагностика и лечение очагов инфекции, дисбактериозов пищеварительного тракта с целью предотвращения послеоперационных инфекционных осложнений (ПИО) [1, 2]. Так, у пациентов с билиарным циррозом, наиболее часто встречающимся, отмечено развитие ПИО в 30% случаев [3]. Этиологическими агентами могут быть как грамотрицательные микробы (представители энтеробактерий, неферментирующих микробов), так и грамположительные (энтерококки, стафилококки). Источником распространения инфекций являются холангиты, пневмонии, а также кровотоки (до 85–90%) [1, 4]. Определенное значение имеют

как резервуар условно-патогенной микрофлоры (УПМ) дисбактериозы кишечника. Существуют тесные анатомические и функциональные связи между кишечником и печенью. При циррозах печени в результате воспалительных и дегенеративных изменений в этом органе, а также в стенке кишечника облегчается транслокация условно-патогенных бактерий из кишечника. Кровь портальной вены переносит кишечные бактерии и их фрагменты, ферменты и токсины в печень для детоксикации. При дисбактериозах, как показано в многочисленных исследованиях, меняются состав и функции микробиоты кишечника – снижается количество ее облигатных представителей и нарастает частота появления различных условно-патогенных бактерий [5, 6].

В последнее время все большее значение в хирургических клиниках придается инфекциям, связанным с оказанием медицинской помощи (ИСМП), т. е. с передачей возбудителей через различного вида катетеры, аппаратуру для искусственного дыхания, средств механической поддержки кровообращения и др. Значительную роль в этой эпидемиолого-патогенетической цепочке играет медицинский, ухаживающий персонал, кровати, постельное белье, различные предметы внешней среды. Если для здоровых людей – носителей условно-патогенные бак-

терии не страшны, то для пациентов, особенно иммунодефицитных, соматически ослабленных, это угрожаемые факторы риска послеоперационных инфекционных осложнений [7].

Пациенты, направляемые по жизненно важным показаниям в нашу клинику на операции по трансплантации фрагмента печени от родственного донора (ТФПР), относятся именно к вышеуказанной категории. Хотя немногочисленные данные о возбудителях послеоперационных инфекционных осложнений (ППО) в литературе имеются, но совсем нет данных об источниках их происхождения.

Целью данной работы явился ретроспективный анализ возбудителей бактериемий за 5-летний период (2009–2014 гг.) у реципиентов (пациенты со штатным течением послеоперационного периода и пациенты с осложненным течением послеоперационного периода) после операций ТФПР и установление наличия или отсутствия возможной связи их происхождения с микробиотой кишечника и другими резервуарами инфицирования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В анализ включены данные по возбудителям бактериемий от 47 летальных и 125 выписанных пациентов, поступивших в клинику для трансплантации фрагмента печени от родственного донора в возрасте от 3 мес. до 17 лет. Наиболее частыми показаниями для операции явились билиарная атрезия, синдром Бадда–Киари, первичный склерозирующий холангит. Стерильно забранную кровь культивировали в аппарате BactAlert фирмы BioMerieux (Франция). При положительных результатах осуществляли выделение чистых культур микробов и их идентификацию. Для выделения микробов из крови, фекалий и других очагов использовали стандартизированные питательные среды фирмы Pronadisa (Испания).

Микрофлору фекалий исследовали в соответствии с отраслевым стандартом «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» [8]. Идентификацию микробов проводили на панелях BD Crystal с автоматическим считыванием данных при использовании базы данных BBL Crystal MIND. Выборочно проведена оценка чувствительности выделенных штаммов УПБ к антибиотикам диско-диффузионным методом на среде Мюллера–Хинтона в соответствии со стандартами CLSI. Определение зон задержки роста осуществляли на приборе «Озирис» фирмы «Biorad» (Франция) с использованием экспертной программы, позволяющей учитывать минимальную ингибиторную концентрацию антибиотиков, природную резистентность микроорганизмов, метициллинрезистентность (МР) и бета-лактамазную активность бактерий (БЛРС). МР, как маркер множественной резистентности грамположительных бактерий микробов к антибиотикам, исследовали по чувствительности выделенных штаммов к оксациллину и цефокситину. Бета-лактамазную активность определяли, используя диски с цефтазидимом и цефтазидин/клавулановой кислотой.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Как следует из данных о состоянии кишечного экобиоценоза у обследованных нами реципиентов и показателями нормальной микрофлоры, представленными в таблицах, у реципиентов до трансплантации печени наиболее подавлена бифидофлора – снижение на 2 и более lg КОЕ/г наблюдалось у 80–100% пациентов (табл. 1, 2). Популяция молочнокислых бактерий также уменьшена. Снижение их содержания отмечено от 26,6 до 72,2%, в среднем у 51,9% обследуемых. Количество энтерококков падало не так значительно. Уменьшение их содержания имело место у 3–27,7% пациентов.

Таблица 1

Состав и количество микрофлоры в кишечнике у реципиентов печени (2009–2014 гг.)

Год	Бифидобактерии Снижение на ≥ 2 lg	Лактобациллы Снижение на ≥ 2 lg	Энтерококки Снижение на ≥ 2 lg	Кишечные палочки Снижение на ≥ 2 lg	Клостридии Повышение
2009 n = 30	↓ 28 (93,3%) (n = 30)	↓ 10 (50%) (n = 30)	↓ 2 (6,6%) (n = 30)	↓ 24 (80%) (n = 30)	↑ 4 (13,3%) (n = 30)
2010 n = 53	↓ 42 (79,2%) (n = 53)	↓ 33 (62,3%) (n = 53)	↓ 13 (24,5%) (n = 53)	↓ 33 (62,3%) (n = 53)	↑ 13 (25%) (n = 53)
2011 n = 36	↓ 35 (97,2%) (n = 36)	↓ 26 (72,2%) (n = 36)	↓ 10 (27,7%) (n = 36)	↓ 20 (56%) (n = 36)	↑ 4 (11,1%) (n = 36)
2012 n = 50	↓ 44 (88%) (n = 50)	↓ 12 (26,6%) (n = 45)	↓ 5 (10%) (n = 50)	↓ 29 (60,4%) (n = 48)	↑ 7 (14,0%) (n = 50)
2013 n = 66	↓ 64 (100%) (n = 64)	↓ 32 (48,5%) (n = 66)	↓ 14 (15,4%) ↑ 2 (3%) (n = 65)	↓ 40 (60,6%) (n = 66)	Не определяли
Всего 235 чел.	N штаммов 233 ↓ M ± m 91,54 ± 3,7%	N 230 ↓ M ± m 51,92 ± 7,7%	N 234 ↓ Mm 16,84 ± 4,1%	N 233 ↓ M ± m 63,86 ± 4,2%	N 235 ↑ M ± m 15,8 ± 9,9%

Таблица 2

Качественный и количественный состав основной кишечной микрофлоры у здоровых людей [8]

Виды микроорганизмов	Возраст	
	< 1 года	От 1 года до 60 лет
Бифидобактерии	$10^{10}-10^{11}$	10^9-10^{10}
Лактобактерии	10^6-10^7	10^7-10^8
Кишечные палочки (типичные)	10^7-10^8	10^7-10^8
Кишечные палочки (лактозонегативные)	$< 10^5$	$< 10^5$
Кишечные палочки (гемолитические)	0	0
Другие условно-патогенные энтеробактерии	$< 10^4$	$< 10^4$
Энтерококки	10^5-10^7	10^5-10^8
Клостридии	$\leq 10^3$	$\leq 10^5$
Стафилококки золотистые	0	0
Стафилококки коагулазонегативные	$\leq 10^4$	$\leq 10^4$
Дрожжеподобные грибы рода <i>Candida</i>	$\leq 10^3$	$\leq 10^4$
Неферментирующие бактерии	$\leq 10^3$	$\leq 10^4$

Примерно такие же данные, только в сторону повышения частоты встречаемости зарегистрированы в отношении популяции клостридий (от 11 до 25% обследуемых). Для кишечных палочек характерным было падение их содержания у 56–80% пациентов. Лактозоотрицательные кишечные палочки не были выделены, а гемолизинпродуцирующие эшерихии были редкими. Результаты оценки содержания различных видов энтеробактерий, неферментирующих грамотрицательных бактерий, показали, что повышение содержания условно-патогенных представителей семейства энтеробактерий, в частности клебсиеллы, на ≥ 2 lg имеет место практически у всех обследованных пациентов (табл. 3).

Следует отметить разнообразие спектра условнопатогенных бактерий (УПБ) в содержимом кишечника (табл. 3 и рис. 1). Наибольшая доля из

433 идентифицированных штаммов (2009–2014 гг.) приходится на грамотрицательные возбудители (72,8–85,2%). Из них первое место занимают клебсиеллы. Их удельный вес среди УПБ составляет от 21,8–27,8 до 53,3%. Второе место по частоте обнаружения занимают энтеробактеры. Встречаемость других представителей энтеробактерий колеблется в зависимости от года. Так, *Citrobacter spp.* выделяли с частотой 10,46% в 2010 г., 13% – в 2013 г.; *Hafnia alvei* – 15,6% в 2009 г. и 6,5% – в 2012 г.; *Serratia spp.* – 13% в 2012 г. Другие энтеробактерии занимали меньшую и непостоянную нишу.

Важно указать, что неферментирующие грамотрицательные бактерии изолированы в небольшом проценте случаев. Так, *Pseudomonas aeruginosa* выделены в 2,8% в 2012 г. и 9,3% – 2011 г. (от пула грамотрицательных микробов); *Stenotrophomonas*

Таблица 3

Спектр и частота встречаемости условно-патогенной микрофлоры кишечника у реципиентов до операции

Микроорганизмы грамотрицат.	2009 г.		2010 г.		2011 г.		2012 г.		2013 г.	
	п штаммов	%	п штаммов	%	п штаммов	%	п штаммов	%	п штаммов	%
<i>Klebsiella spp.</i>	14	21,8	40	42,5	31	41,3	30	27,8	49	53,3
<i>Enterobacter spp.</i>	14	21,8	26	27,6	20	26,7	37	34,3	11	12,0
<i>Citrobacter spp.</i>	5	7,8	9	9,6	5	6,7	4	3,7	12	13,0
<i>Serratia spp.</i>	4	6,2	5	5,3	1	1,3	14	13,0	5	5,4
<i>Hafnia alvei</i>	10	15,6	2	2,1	3	4,0	7	6,5	2	2,2
<i>Proteus spp.</i>	2	3,1	4	4,2	2	2,7	6	5,6	3	3,3
<i>Pantoea spp.</i>	2	3,1	–	–	5	6,7	1	0,9	1	1,1
НГОВ	4	6,2	–	–	1	1,3	3	2,8	1	1,1
<i>Pseudomonas spp.</i>	4	6,2	4	4,2	7	9,3	3	2,8	4	4,3
<i>Acinetobacter spp.</i>	1	1,56	2	2,1	–	–	3	2,8	3	3,3
<i>Stenotrophomonas spp.</i>	3	4,68	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Burkholderia spp.</i>	1	1,56	2	2,1	–	–	–	–	1	1,1
Всего	30 пациентов; 64 штамма		53 пациента; 94 штамма		34 пациента; 75 штаммов		47 пациентов; 108 штаммов		70 пациентов; 92 штамма	

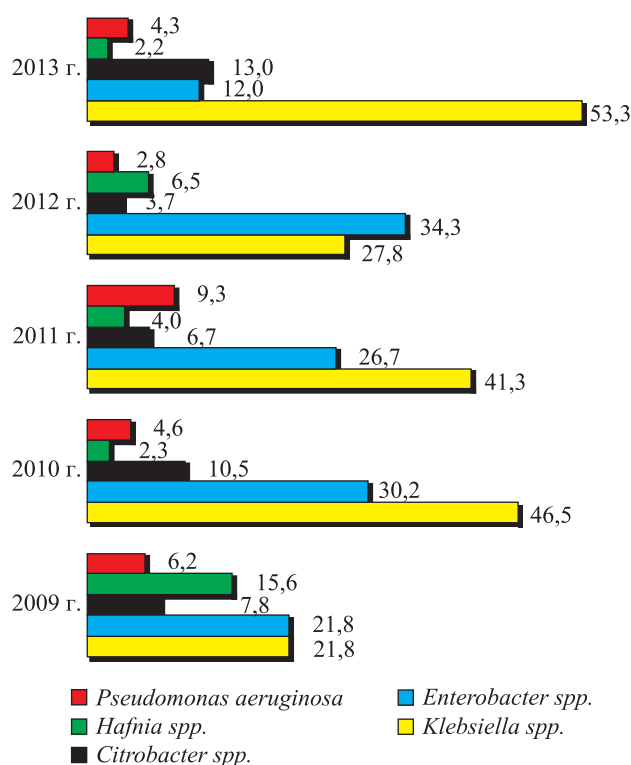


Рис. 1. Частота встречаемости энтеробактерий и синегнойных палочек в кишечнике пациентов до операции, %

maltophilia – в 4,68% в 2009 г., затем не зарегистрированы.

Среди популяции грамположительных микробов обращала на себя внимание незначительная частота встречаемости пациентов с наличием грибов рода *Candida* в количествах, превышающих границу нормы. При этом следует указать, что при повторных исследованиях, как правило, были зафиксированы нормальные показатели, что свидетельствует о транзитном характере выявленных изменений.

На следующем этапе особое внимание было уделено анализу возбудителей бактериемий у реципиентов с осложненным (группа 1; $n = 47$) и штатным (группа 2) течением послеоперационного периода. На рис. 2 показана частота выделения УПБ из крови пациентов суммарно за 5 лет (2009–2013 гг.). Интересные результаты были получены при сопоставлении динамики показателей частоты встречаемости клинически значимых патогенов при бактериемиях у реципиентов с осложненным (группа 1) и штат-

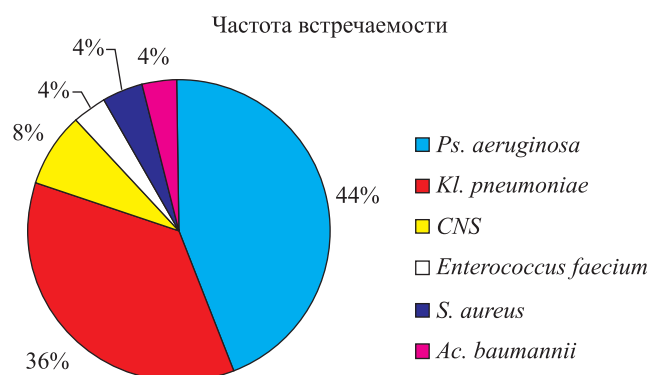


Рис. 2. Возбудители бактериемий у реципиентов с осложненным течением послеоперационного периода, %

ным (группа 2) течением послеоперационного периода. Результаты представлены в табл. 4.

У пациентов 1-й группы, с развитием некурабельных форм бактериальных осложнений, из крови изолированы разные виды микроорганизмов, в частности синегнойные палочки, ацинетобактерии, клебсиеллы, энтеробактерии, золотистые и коагулазоотрицательные стафилококки, энтерококки (всего 26 штаммов). Обращало на себя внимание, что наиболее часто изолируемыми бактериями были представители неферментирующих грамотрицательных бактерий – *Pseudomonas aeruginosa* (44%) и энтеробактерий – *Kl. pneumoniae* (36%). Коагулазоотрицательные стафилококки выделены в 8%, энтерококки, золотистые стафилококки – в 4%.

Как следует из представленных данных, с 2009-го по 2013 г. частота изоляции *Ps. aeruginosa* из крови реципиентов с осложненным течением послеоперационного периода составила 32% с колебаниями от 50–60 до 14–20%.

В крови реципиентов со штатным течением послеоперационного периода в 2009, 2012, 2013 гг. *Ps. aeruginosa* не выделялась. В 2010–2011 гг. частота выделения составила 3,2%. Аналогичные данные, свидетельствующие о значительном повышении частоты выделения из крови реципиентов 1-й группы клинически значимого патогена, получены в отношении *Kl. pneumoniae*. Как показали исследования, частота выделения клебсиелл из крови реципиентов с осложненным течением послеоперационного периода составила в среднем 25,7%. У реципиентов

Таблица 4

Ps. aeruginosa и *Kl. pneumoniae* в крови реципиентов за период 2009–2013 гг.

Год	<i>Ps. aeruginosa</i>		<i>Kl. pneumoniae</i>	
	Группа № 1	Группа № 2	Группа № 1	Группа № 2
2009	2/4 50%	0/29 0%	1/4 25%	1/29 3,4%
2010	3/5 60%	2/56 3,6%	0/5 0%	12/56 21,4%
2011	2/12 16,6%	8/63 12,7%	3/12 25%	9/63 14,2%
2012	1/7 14,3%	0/56 0%	2/7 28,5%	6/56 10,7%
2013	1/5 20%	0/61 0%	2/5 40%	6/61 11,4%

со штатным течением послеоперационного периода частота встречаемости *Kl. pneumonia* колебалась в пределах 3,4–14,2%, составляя в среднем 12,2%.

Для оценки возможного механизма формирования бактериемий, вызванных синегнойными палочками и клебсиеллами, проведен анализ частоты высеваемости изучаемых патогенов при исследовании других клинических субстратов у реципиентов

с выявленной бактериемией. Материалом исследований служили смывы с трахеи, внутрисосудистых катетеров, дренажей брюшной полости. Параллельно оценивался спектр условно-патогенной флоры кишечного содержимого. Полученные результаты и данные о возможных источниках транслокации *Ps. aeruginosa* и *Kl. pneumonia* при бактериемиях представлены в табл. 5, 6.

Таблица 5

Выделение *Ps. aeruginosa* и *Kl. pneumonia* из клинических субстратов реципиентов с бактериемиями

Год	Фамилия	Кровь	Трахея, легкие	Кишечник	Сосуд. катетеры	Дренажи
2009	Ш., 1 г. 4 мес.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		–		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	А., 2 г.	<i>Ps. fluorescens</i>		–	<i>CNS; Ps. aeruginosa</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>
	Б., 15 л.	<i>Ps. aeruginosa</i>		–		<i>Ps. aeruginosa</i>
	Е., 11 мес.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		+ lg7		<i>Kl. pneumoniae; Ps. aeruginosa + Kl. pneum.</i>
2010	К., 6 мес.	<i>Ps. aeruginosa</i>		–	<i>CNS (2)</i>	<i>Serratia liquefaciens</i>
	Каб., 6 мес.	<i>Ps. aeruginosa</i>		–		<i>S. aureus., Enterobacter</i>
	Кр., 8 мес.	<i>Ps. aeruginosa</i>		–	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>Streptococcus spp.</i>
	Коч., 2 г.	<i>M. luteus</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	+ lg4		<i>Ps. aeruginosa (2) + S. liquefaciens</i>
	Ч., 1 г. 7 мес.	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	+		<i>Kl. pneumoniae (2) + CNS</i>
2011	П., 6 мес.	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	–		<i>Pantoea agglomerans</i>
	Ш., 7 мес.	<i>CNS</i>				<i>Kl. pneumoniae (7)</i>
	Док., 8 мес.	<i>Ps. aeruginosa + Kl. pneumoniae</i>		<i>Kl. pneumoniae lg7-8</i>		<i>Ps. aeruginosa + Kl. pneumoniae</i>
	Дед., 10 мес.	<i>Kl. pneumoniae</i>		<i>Kl. pneumoniae lg 8</i>		<i>Kl. pneumoniae + Hafnia spp.</i>
	Пл., 1 г.	<i>Kl. pneumoniae</i>	<i>Kl. pneumoniae</i>	<i>Kl. pneumoniae lg7</i>		
	Р., 6 мес.	<i>Ac. baumannii</i>				
	Шар.	<i>Kl. pneumoniae + CNS</i>				
2012	Дюк., 8 мес.	<i>Kl. pneumoniae + Enterobacter aerogenes</i>	<i>Kl. pneumoniae + Ac. baumannii</i>	<i>Kl. pneumoniae lg 8</i>	<i>Kl. pneumoniae (3)</i>	<i>Kl. pneumoniae; Kl. pneumoniae (4) + Enterobacter aerogenes</i>
	Каз., 2 г. 7 мес.	<i>CNS</i>	<i>CNS + Kl. pneumoniae (2)</i>			<i>Kl. pneumoniae (6)</i>
	Дав., 12 л.	<i>Kl. pneumoniae + S. aureus</i>		Не определяли	<i>CNS; Candida spp.</i>	<i>Kl. pneumoniae + Candida spp.</i>
	Ч., 9 мес.	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	Не определяли	<i>Kl. pneumoniae</i>	<i>Ac. baumannii</i>
	К., 5 мес.	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>Ps. aeruginosa + Kl. pneumoniae</i>			<i>Kl. pneumoniae</i>
2013	М., 1 г. 5 мес.	<i>Kl. pneumoniae</i>	<i>Kl. pneumoniae + Ps. aeruginosa</i>	+	<i>Kl. pneumoniae (3) + Ps. aeruginosa</i>	<i>S. liquefaciens + CNS –</i>
	Рощ., 1 г.	<i>CNS</i>				<i>Kl. pneum. (4) + E. coli</i>
	О., 8 мес.	<i>Kl. pneumoniae</i>	<i>Kl. pneumoniae</i>	<i>Kl. pneumoniae lg 8</i>	<i>Kl. pneumoniae (2)</i>	–
	К., 11 мес.	<i>S. aureus</i>	<i>Kl. pneum. + Ac. baumannii</i>	<i>Kl. pneumoniae lg 7</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	
	Рыж., 9 л.	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia.</i>	<i>Kl. pneumoniae lg 8</i>		<i>Kl. pneumoniae (1) Stenotrophomonas maltophilia.</i>

Таблица 6

Возможные источники поступления микробов в кровь при бактериемиях (суммарные данные)

Возбудители бактериемий	n	Трахея	Кишечник	Сосудистые катетеры	Дренажи
<i>Ps. aeruginosa</i>	10	2/10	0/10	0/3	3/10
<i>Kl. pneumoniae</i>	7	4/7	6/7	3/7	4/7

Таблица 7

Возбудители эпизодов бактериемий у реципиентов со штатным течением послеоперационного периода (группа 2)

Микробы	2009 г.	2010 г.	2011 г.	2012 г.	2013 г.
<i>S. aureus</i>	4/29 13,8%	4/39 7,14%	6/63 9,5%	16/56 28,6%	7/61 11,4%
<i>CNS</i>	13/29 44,8%	17/39 30,3%	24/63 38%	19/56 33,9%	22/61 36%
<i>Strept. spp.</i>	1/29 3,4%	3/39 5,3%	4/63 6,34%	0/56 0%	5/61 8,19%
<i>Enterococcus spp.</i>	5/29 17,2%	8/39 14,3%	10/63 15,87%	7/56 12,5%	6/61 9,8%
<i>Candida spp.</i>	1/29 3,4%	1/39 1,7%	1/63 1,58%	3/56 5,35%	6/61 9,8%
<i>Kl. pneumoniae</i>	1/29 3,4%	12/39 21,4%	9/63 14,2%	6/56 10,7%	7/61 11,4%
<i>Enterobacter spp.</i>	0/29 0%	0/39 0%	0/63 0%	2/56 3,6%	1/61 1,6%
<i>E. coli</i>	2/29 6,9%	0/39 0%	0/63 0%	0/56 0%	5/61 8,19%
<i>Serratia spp.</i>	0/29 0%	0/39 0%	0/63 0%	1/56 1,8%	1/61 1,6%
<i>P. aeruginosa</i>	0/29 0%	2/39 3,57%	8/63 12,69%	0/56 0%	0/61 0%
<i>Stenotrophomonas</i>	1/29 3,4%	0/39 0%	1/63 1,58%	1/56 1,8%	1/61 1,6%
<i>НГОВ</i>	1/29 3,4%	0/39 0%	0/63 0%	0/56 0%	3/61 4,9%
<i>Acinetobacter spp.</i>	0/29 0%	2/39 3,57%	0/63 0%	0/56 0%	0/61 0%

Как следует из полученных данных, возможными источниками проникновения бактерий в кровь при бактериемиях, вызванных *Ps. aeruginosa* и *Kl. pneumoniae*, могут быть дыхательные пути, сосудистые катетеры, дренажи и кишечник. В 3 случаях синегнойные палочки выделены из трахеи при нахождении их в крови, а клебсиеллы – в 6 случаях. Ранее было показано, что у всех пациентов в дооперационном периоде имелся выраженный дисбактериоз кишечной микрофлоры с повышением частоты выделения условно-патогенных бактерий. При этом для всех обследованных реципиентов наиболее значимым было увеличение количества клебсиелл. Данные о структуре условно-патогенных микроорганизмов, выделенных на фоне обратимых эпизодов бактериемий из крови реципиентов со штатным течением послеоперационного периода (группа 2), свидетельствуют о вариабельном характере спектра возбудителей (табл. 7).

В 2009–2013 гг. по частоте высеваемости из крови в этой группе лидировали коагулазоотрицательные стафилококки (44,8, 30,3, 38, 33,3, 34,3% соответственно). Второе и третье места занимали: энтерококки и золотистые стафилококки (2009 г.), *Kl. pneumoniae* и энтерококки (2010 г.), энтерококки и *Kl. pneumoniae* (2011 г.), *S. aureus* и энтерококки (2012 г.), *S. aureus* и *Kl. pneumoniae* (2013 г.) Неферментирующие грамотрицательные бактерии, включая *Ps. aeruginosa*, изолировали только в 2011 г. (12,7%).

Данные по определению чувствительности *Ps. aeruginosa* к антибиотикам, выделенной из

крови у реципиентов с осложненным течением послеоперационного периода, свидетельствуют о панрезистентности у 6 из 8 штаммов; у 2 штаммов имелась множественная резистентность к АБ. *Ps. aeruginosa* была чувствительна к полимиксину, колистину, азтреонему, в отдельных случаях – к тигемаму, цефтазидиму, цефипиму, аминогликозидам и фторхинолонам. Основной пул (90%) штаммов *Kl. pneumoniae*, выделяемых из крови у той же категории пациентов, обладал БЛРС, что определило высокую резистентность к используемым в клинике антибиотикам. Анализ полученных антибиотикограмм показал чувствительность к полимиксину, карбапенемам, тигацилу, некоторым фторхинолонам и аминогликозидам.

ОБСУЖДЕНИЕ

Кишечник является резервуаром микроорганизмов и содержит более 1800 видов бактерий. При энтерокозите сохраняется определенное соотношение между всеми его представителями, что поддерживает высокую колонизационную резистентность к заражению патогенными и условно-патогенными бактериями. При дисбактериозах меняются состав и функции микробиоты кишечника – снижается количество ее облигатных представителей и нарастает частота появления различных условно-патогенных бактерий [5, 6]. Мы не встретили работ по характеристике микробиоты кишечника у детей с терминальными стадиями циррозов печени. Как по-

казано нами в предыдущих исследованиях, при анализе микрофлоры толстой кишки 157 детей от года до 17 лет до трансплантации доли печени выявляются глубокие микробиологические нарушения [9]. В настоящей работе анализ микробиоты кишечной флоры 235 реципиентов печени подтвердил полученные ранее данные: количество бифидобактерий было снижено более чем у 90% детей на несколько логарифмов и у 50% – лактобацилл. Характерным для 56–80% пациентов явилось значимое снижение содержания кишечных палочек. Популяция кластридий повышалась у 11–25% детей.

Лактобациллы и бифидобактерии играют важную роль в колонизационной резистентности и предотвращают избыточный рост условнопатогенных бактерий, таких как *E. coli*, *Enterobacter spp.*, *K. pneumoniae* [10]. При анализе нами найдено повышенное содержание УПБ в содержимом кишечника, особенно энтеробактерий (клебсиеллы и энтеробактеры). Удельный вес клебсиелл среди всех УПБ составлял от 27,8 до 53,3%. Неферментирующие грамотрицательные бактерии составляли небольшую часть пула грамотрицательных микробов.

Нами исследована возможная связь возбудителей бактериемий у пациентов после трансплантации печени с условно-патогенными микробами, выделяемыми при наличии у них выраженного дисбактериоза кишечника. Инфекции крови нередко являются причиной смертности у реципиентов трансплантатов. После трансплантации печени среди возбудителей послеоперационных инфекционных осложнений (ПИО) фигурируют члены семейства энтеробактерий и виды энтерококков, которые в основном происходят из микробиоты кишечника, являясь наиболее частыми патогенами у трансплантированных пациентов [11, 12]. У взрослых пациентов Bert et al. [13] после трансплантации печени наблюдали бактериемию в 29,1% случаев из 704 пациентов. Как отмечают авторы, наиболее частыми патогенами были энтеробактерии (41%), *S. aureus* (19,8%), энтерококки (13,1%). *Ps. aeruginosa* встречались в 8,8%, грибы – в 7,1%.

Во Франции проведено 10-летнее исследование (2001–2010 гг.) частоты и факторов риска ПИО, вызванных энтеробактериями с БЛРС, после трансплантации печени у взрослых пациентов. Из 710 пациентов до трансплантации у 29 (4,1%) обнаружено фекальное носительство грамотрицательных бактерий с БЛРС. Больше всего было штаммов *Escherichia coli* (n = 21), затем *Enterobacter cloacae* (n = 5), *Klebsiella pneumoniae* (n = 4), *Klebsiella oxytoca* (n = 1), *Citrobacter freundii* (n = 1), *Citrobacter koseri* (n = 1). После операции у 39 пациентов из 710 (5,5%) в течение 4 мес. развились ПИО, вызванные вышеуказанными кишечными микроорганизмами с БЛРС. Все изоляты были чувствительны к карбапе-

немам. Смертность, связанная с инфекцией, отмечена у 8 пациентов (20,5%). Госпитальная смертность была значительно выше у пациентов с инфекцией, вызванной микробами с БЛРС (28,25 против 15,9%). На протяжении 14 дней после трансплантации БЛРС-инфекция происходила у 13 (44,8%) из 29 пациентов с предтрансплантационным фекальным носительством данных патогенов [13].

Китайские авторы сравнительно исследовали больных с циррозами печени с диагностированной бактериемией, вызванной *Pseudomonas aeruginosa* (61 человек – опытная группа), и бактериемией, вызванной представителями *Enterobacteriaceae* (n = 61). К предикторам синегнойной инфекции были отнесены факторы, связанные с оказанием медицинской помощи – использование центральных венозных катетеров, мочевых катетеров, применение антимикробной терапии в течение предыдущих 90 дней. Исследования показали, что избыточный рост кишечных бактерий отмечен у цирротических больных (до операции) и у пациентов после трансплантации. У пациентов после трансплантации печени было снижено число бифидобактерий, лактобацилл, фузо- и эубактерий, что, как подчеркивают авторы, свидетельствует о наличии дисбиоза после трансплантации печени.

Предыдущие исследования авторов статьи показали, что и при хроническом гепатите нарушена кишечная микрофлора и повреждена колонизационная резистентность. Авторы наблюдали ассоциативную связь между преобладающими в кишечнике бактериями и провоспалительными медиаторами у цирротических и трансплантированных пациентов [14].

Rayes et al. показали, что раннее энтеральное питание с добавлением смеси молочнокислых бактерий и пищевых волокон редуцирует частоту бактериальных инфекций после трансплантации печени и гепатобилиарной хирургии [15]. Эти наблюдения, а также ряд других, изложенные в обзоре [16], показывают, что применение пре- и пробиотиков может вносить вклад в снижение частоты ПИО у реципиентов трансплантатов печени.

Наблюдавшийся нами избыточный рост условно-патогенных бактерий в содержимом кишечника может быть предрасполагающим фактором для развития оппортунистических инфекций у реципиентов. И конечно, ярким подтверждением всего вышеизложенного явилось нахождение с большой частотой в крови реципиентов с осложненным течением послеоперационного периода синегнойных палочек и клебсиелл по сравнению с реципиентами со штатным течением послеоперационного периода. Примечательно, что хотя синегнойные палочки из кишечника редко были изолированы, но из крови они выделялись. Это в отличие от клебсиелл – доказательство некишечного их происхождения. Проведенный анализ показал, что в ряде случаев

синегнойные палочки попадают из трахеи. Источниками попадания клебсиелл в кровь может быть дыхательная аппаратура, т. к. их выделяли и из трахеи, а также, в первую очередь, кишечник, в котором с большим постоянством находили клебсиеллы в количестве 7–8 lg КОЕ/г при норме < 4 lg КОЕ/г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенные исследования показали наличие глубоких микробиологических нарушений в микробиоте кишечника 235 обследуемых в предтрансплантационном периоде. Отмечены количественные и качественные изменения в составе микрофлоры, подавление резидентной микрофлоры – бифидобактерий, лактобацилл, а также кишечных палочек, расширение спектра условно-патогенных бактерий, особенно энтеробактерий, грибов рода *Candida*. Наиболее частыми изолятами были клебсиеллы и энтеробактеры с высоким содержанием (7–8 lg КОЕ/г) и редкими – неферментирующие грамотрицательные бактерии, включая *P. aeruginosa*. На основании ретроспективного анализа возбудителей бактериемий за 5-летний период (2009–2013 гг.) выявлено, что наиболее часто выделяемыми бактериями у реципиентов с осложненным течением послеоперационного периода были представители неферментирующих грамотрицательных бактерий – *Pseudomonas aeruginosa* (44%) и энтеробактерий – *Kl. pneumoniae* (36%). В то же время у реципиентов со штатным течением послеоперационного периода при бактериемиях лидировали коагулазоотрицательные стафилококки (30,3–44,8%); 2-е и 3-е места занимали: энтерококки, золотистые стафилококки, *Kl. pneumoniae*. Грамотрицательные неферментирующие бактерии изолировали нечасто, включая *Ps. aeruginosa*, за исключением 2011 г. (12,7%). Данные по определению чувствительности *Ps. aeruginosa* и *Kl. pneumoniae* к антибиотикам, выделенных из крови у реципиентов с осложненным течением послеоперационного периода, выявили их множественную резистентность к АБ.

Полученные данные по высеваемости клебсиелл и синегнойных палочек из трахеи, сосудистых катетеров и дренажей и сопоставление их с микрофлорой кишечника позволяют сделать заключение о внекишечном происхождении *Ps. aeruginosa* при бактериемиях и нескольких путях транслокации *Kl. pneumoniae* – кишечного и внекишечного (трахея, сосудистые катетеры, дренажи).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Инфекции в трансплантологии. Под ред. С.В. Готье. М.: Триада, 2010: 382. Infection in transplantation. Ed. S.V. Gotie. M.: Triad, 2010: 382.
2. Зайнудинов ЗМ. Цирроз печени у детей (критерии диагностики, клиническое течение, показания к трансплантации печени): Автореф. дис. ... докт. мед. наук. М., 2005. Zainudinov ZM. Cirrhosis of the liver in children (diagnostic criteria for clinical indications for liver transplantation): Abstract. uch on competition. degree of Doctor of Medical Science. M., 2005.
3. Чеклецова ЕВ. Принципы отбора и оптимальные сроки проведения трансплантации печени у детей с врожденными и наследственными заболеваниями гепатобилиарной системы, манифестирующими в течение первых месяцев жизни: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2010. Chekletsova EV. Principles of selection and optimal timing of liver transplantation in children with congenital and hereditary diseases of the hepatobiliary system, manifested during the first months of life: Abstract. diss. uch on competition. Candidate of medical sciences degree. M., 2010.
4. Singh N, Wagener MM, Obman A, Cacciarelli de Vera ME. Bacteremias in liver transplant recipients: shift toward gram-negative bacteria as predominant pathogens. *Liver Transpl.* 2004; 10; 844–849.
5. Барановский АЮ, Кондрашина ЭА. Дисбактериоз кишечника. Изд. 3-е. СПб.: Питер: 240. Baranowski AU, Kondrashin EA. Dysbacteriosis of intestinum. Ed. 3rd. St. Petersburg: Peter: 240.
6. Смирнова ГИ, Ляликова ВБ. Методы диагностики и лечения дисбактериоза у детей. Учебное пособие для врачей. М., 2012: 96. Smirnova GI, Lyalikova VB. Diagnosis and treatment of dysbiosis in children. A manual for physicians. M., 2012: 96.
7. Руднов ВА, Бельский ДВ. Инфекции в ОРИТ России: результаты национального многоцентрового исследования. *Клин. микроб. и антимикробная химиотерапия.* 2011; 13 (4): 294–304. Rudnov VA, Belsky DV. Infection in the ICU Russia: results of a national multicenter study. *Clin. microbe. and Antimicrobial Chemotherapy.* 2011; 13 (4): 294–304.
8. Отраслевой стандарт «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» Приказ МЗ РФ от 09.06.2003 № 231. Industry Standard «Treatment Protocol. Intestinal dysbiosis» Order MH from 09.06.2003 № 231.
9. Габриэлян НИ, Горская ЕМ, Цирульникова ОМ, Спирина ТС, Ромашикина ЛЮ. Особенности микрофлоры кишечника у детей – реципиентов донорской печени. *Вестник транспл. и искусств. органов.* 2013; 15 (4): 40–46. Gabrielyan NI, Gorskaja EM, Tsurul'nikova OM, Spirina TS, Romashkina LY. Features of intestinal microflora in children – donor liver transplant recipients. *Herald transpl. and Arts. organs.* 2013; 15 (4): 40–46.
10. Kinross J, von Roon AC, Penney N, Holmes E, Silk D, Nicholson JK et al. The gut microbiota as a target for improved surgical outcome and improved patient care. *Curr. Pharm. Des.* 2009; 15: 1537–1545.
11. Bellier C, Bert F, Durand F, Retout S, Belghiti J, Mentre F et al. Risk factors for enterobacteriaceae bacteremia after liver transplantation. *Transpl Int.* 2008; 21: 755–763.
12. Eguchi S, Takatsuki M, Hidaka M, Soyama A, Ichikawa T, Kanematsu T. Perioperative antibiotic treatment to

- prevent infectious complications in patients after elective living donor liver transplantation: a prospective randomized study. *Am J Surg*. 2011; 201: 498–502.
13. Bert F, Larroque B, Paugam-Burtz C, Dondero F, Durand F, Marcon E et al. Pretransplant fecal carriage of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* and infection after liver transplant, France. *Emerging Infect. Dis*. 2012; 18 (6): 908–916.
14. Bang Ji Hwan, Jung Younghee, Cheon Shinhye, Chung Jong Kim, Kyung Ho Song, Pyeong Gyun Choe et al. *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia in patients with liver cirrhosis: a comparison with bacteremia caused by *Enterobacteriaceae*. *BMC Infect. Dis*. 2013; 13: 332–338.
15. Rayes N, Seehofer D, Theruvath T, Schiller RA, Langrehr JM, Jonas S et al. Supply of pre- and probiotics reduces bacterial infection rates after liver transplantation-a randomized, double-blind trial. *Am J Transplant*. 2005; 5: 125–130.
16. Габриэлян НИ, Горская ЕМ. Применение пробиотиков, пребиотиков и синбиотиков в хирургии. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2008; 2: 59–64. Gabrieljan NI, Gorskaya EM. Probiotics, prebiotics and synbiotics in surgery. *Journal of Transplantation and Artificial Organs*. 2008; 2: 59–64.

Статья поступила в редакцию 03.07.2014 г.

DOI: 10.15825/1995-1191-2014-4-55-61

УЛУЧШЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ

Столяр А.Г.¹, Будкар Л.Н.², Климушева Н.Ф.¹, Лесняк О.М.³

¹ ГБУЗ СО «Свердловская областная клиническая больница № 1», Екатеринбург, Российская Федерация

² Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промышленных предприятий Роспотребнадзора, Екатеринбург, Российская Федерация

³ ГОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия», Екатеринбург, Российская Федерация

Цель. Изучение результатов операций трансплантации почки за 20-летний период (1990–2010), выполненных в ГБУЗ СО «СОКБ № 1» г. Екатеринбурга. **Материалы и методы.** Проанализированы материалы наблюдений 340 пациентов, перенесших операцию трансплантации почки; мужчин – 218 (64%), женщин – 122 (36%), в возрасте от 12 лет до 61 года ($37,57 \pm 0,64$). Проводился анализ выживаемости пациентов, ренальных аллотрансплантатов, структуры летальности и потерь трансплантатов. Для проведения анализа использовался пакет прикладных программ SPSS, версия 16. **Результаты.** 10-летняя выживаемость пациентов составила 64%, трансплантатов – 48%. 20-летняя выживаемость пациентов составила 43%, трансплантатов – 41%. Основной причиной потери пациентов явились инфекционные осложнения, ведущими причинами потерь трансплантатов – смерть пациентов с функционирующим трансплантатом и хроническая нефропатия трансплантата. Обнаружено статистически достоверное улучшение результатов трансплантации в течение последних 10 лет. Удалось показать роль применения молекулярно-генетического метода иммунологического подбора пары донор–реципиент и применения современных протоколов иммуносупрессивной терапии для улучшения результатов трансплантации почки. **Заключение.** В течение последнего десятилетия наблюдается улучшение результатов трансплантации почки за счет внедрения современных методов иммуносупрессивной терапии, иммунологического подбора трансплантатов и других факторов.

Ключевые слова: трансплантация почки, выживаемость, ренальный аллотрансплантат.

IMPROVEMENT OF RESULTS OF KIDNEY TRANSPLANTATION

Stolyar A.G.¹, Budkar L.N.², Klimusheva N.F.¹, Lesnjak O.M.³

¹ Regional Clinical Hospital № 1 of the Sverdlovsk Region, Ekaterinburg, Russian Federation

² Ekaterinburg Medical Scientific Center of Prevention and Protection of Health of Workers of Industrial Enterprises, Ekaterinburg, Russian Federation

³ Ural State Medical Academy, Ekaterinburg, Russian Federation

Aim. Analysis of the results of kidney allotransplantations over 20 years (1990–2010), made by the research group from the Regional Hospital № 1 (Ekaterinburg, Russia). **Materials and methods.** We analyzed the outcomes of kidney transplantations in 340 patients: men – 218 (64%), women – 122 (36%), average age: 12 to 61 ($37,57 \pm 0,64$). We focused on the patient and transplant survival rates, structure of mortality and transplant loss. For the statistical analysis we used SPSS. **Results.** Patient survival rate during 10-year period was 64%; transplant survival rate during 10-year period was 48%. Patient survival rate during 20-year period was 43%; transplant survival rate during 20-year period was 41%. The main causes of patients' death were infections; the dominant causes of transplant losses were deaths of patients with functioning transplants and chronic allograft nephropathy. We defined statistically reliable improvement of transplant results over last 10 years. We showed the advantages of molecular genetic method of immunological selection of donor-recipient pair for improvement of transplant outcomes. **Conclusion.** Over last 10 years we observed an improvement of kidney allograft results by means of contemporary methods of immunosuppressive therapy, immunological selection of transplants and other factors.

Key words: kidney transplantation, survival, kidney allograft.

Для корреспонденции: Столяр Алексей Геннадьевич. Адрес: 620075, г. Екатеринбург, ул. Луначарского, д. 130, кв. 11. Тел. 8 (912) 634-65-57, факс 8 (343) 351-16-76. E-mail: ambr375@mail.ru.

For correspondence: Stolyar Aleksey Gennadjevich. Address: 620075, Ekaterinburg, 130 Lunacharskogo Street, office 11. Tel. 8 (912) 634-65-57, fax 8 (343) 351-16-76. E-mail: ambr375@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема лечения пациентов с терминальной стадией заболевания почек является одной из наиболее актуальных современных медицинских и социальных проблем [1]. При этом, по данным международных и российских исследований, аллотрансплантация почки (АТП) является наиболее адекватным методом заместительной почечной терапии по сравнению с диализом (гемодиализ либо перитонеальный диализ) [1–3]. Трансплантация почки обеспечивает более высокое качество жизни пациентов, а также является предпочтительным методом заместительной почечной терапии с экономической точки зрения [4, 5]. Несмотря на очевидные преимущества данного вида заместительной почечной терапии, имеются многочисленные ограничения доступности трансплантации почки по всему земному шару: социальные, культурные, экономические [6].

Целью данного исследования явилось изучение результатов операций трансплантации почки, выполненных с ноября 1990-го по декабрь 2010 г. (20-летний период) в ГБУЗ СО «СОКБ № 1» г. Екатеринбург.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проанализированы материалы наблюдений 340 пациентов, перенесших операцию АТП по поводу терминальной почечной недостаточности – 218 мужчин (64%) и 122 женщины (36%). Возраст пациентов составлял в среднем $37,57 \pm 0,64$ года (от 12 лет до 61 года). При этом детей до 18 лет было прооперировано 6 человек, возрастная группа от 18 до 29 лет составила 64 человека, от 30 до 39 лет – 85, от 40 до 49 лет – 95, от 50 до 60 лет – 47, старше 60 лет – 3 человека.

Основными заболеваниями почек, приведшими к развитию терминальной почечной недостаточности, были следующие. Хронический гломерулонефрит диагностирован у 177 пациентов (52%). Следует отметить, что диагноз ХГН был подтвержден при помощи биопсии почки у 25 пациентов, то есть среди 14,84% больных ХГН. Хронический пиелонефрит и хронический тубуло-интерстициальный нефрит наблюдались у 31 пациента (9%), врожденные заболевания почек (поликистоз почек, дисплазия почек, синдром Альпорта) – у 15 пациентов (4,5%), диабетическая нефропатия – у 9 пациентов (2,5%): из них 6 имели сахарный диабет 1-го типа, 2 – сахарный диабет 2-го типа. Другие нефропатии (люпус-нефрит, геморрагический васкулит, типичный гемолизико-уремический синдром, острый кортикальный некроз при эклампсии, гипертонический нефроангиосклероз и др.) диагностировались у 10 пациентов (3%). Диагноз основного заболевания почек не

был определен (неуточненная нефропатия) у 98 человек (29%).

Средняя продолжительность диализа до АТП составляла $27,02 \pm 1,37$ мес. Основное число АТП было произведено с использованием почки от трупных доноров – 333 (98%). Трансплантаций от живых родственных доноров было 7 (2%). Первичных трансплантаций было выполнено 329 (97%), повторных – 11 (3%).

Для типирования антигенов системы HLA (A, B и DR-локусы) применялся как серологический (с помощью специфических сывороток фирмы «Гисанс», г. Москва) – в период 1990–2001 гг., так и молекулярно-генетический метод (реагенты фирмы «Protrans», Германия) – в период 2002–2012 гг.

Использовались три протокола иммуносупрессивной терапии (ИМСТ): 1) циклоспорин + преднизолон + азатиоприн (1990–1998 гг., 65 пациентов – 21,67%); 2) циклоспорин + преднизолон + микофенолат (1999–2010 гг., 209 пациентов – 69,67%); 3) такролимус + преднизолон + микофенолат (2008–2010 гг., 26 пациентов – 8,67%).

До 2000 года для исследования уровня циклоспорина-А в крови использовали метод радиоиммунного анализа. Начиная с 2000 года использовалась методика флюоресцентного поляризационного иммуноанализа Abbott TDX. Для определения концентрации такролимуса и циклоспорина в крови использовалась также иммунохимическая методика на автоматизированном иммунохимическом анализаторе «Архитект i2000 sr».

Дисфункцию трансплантата констатировали по повышению значения креатинина сыворотки. При внезапном повышении креатинина, при отсутствии подозрений на какие-либо иные причины дисфункции РАТ, устанавливали клинический диагноз – острое отторжение и проводили «пульс-терапию» метилпреднизолоном (внутривенное введение препарата 3 дня подряд по 500–1000 мг, до суммарной дозы 1,5–3 г). В ряде случаев проводили биопсию трансплантата с морфологическим исследованием. При постепенном повышении креатинина, что, как правило, наблюдалось в позднем послеоперационном периоде, также проводили морфологическую диагностику характера поражения РАТ. Морфологическое состояние трансплантатов оценивали согласно международной BANF-классификации.

Проводился анализ выживаемости пациентов и ренальных аллотрансплантатов (РАТ) после операции АТП. При этом любая утрата ренальных аллотрансплантатов – потеря функции вследствие отторжения либо гибель пациента с функционирующим трансплантатом и др. – расценивались как потеря РАТ. Выживаемость пациентов оценивалась и при утрате функции РАТ и возвращении пациентов на диализ. Проводился также анализ структуры

летальности и потерь РАТ. Случаи внезапной смерти были отнесены к кардиоваскулярным причинам летальных исходов.

Для проведения анализа использовался пакет прикладных программ SPSS, версия 16.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На первом этапе проводился анализ выживаемости реципиентов и ренальных аллотрансплантатов. Выживаемость пациентов составила: 1-летняя – 81%, 5-летняя – 75%, 10-летняя – 64%, 20-летняя – 43%. Срединное время выживаемости пациентов (время, в течение которого остаются в живых 50% пациентов) было при этом 226,05 мес. (около 19 лет).

С помощью анализа функции риска было выявлено, что наибольший риск летальных исходов приходится на срок 6 месяцев после трансплантации почки (Hazard rate = 0,01).

Выживаемость РАТ составила: 1-летняя – 76%, 5-летняя – 60%, 10-летняя – 48%, 20-летняя – 41%. Срединное время выживаемости трансплантатов было 120,63 мес. (10 лет). Наибольший риск потери трансплантатов отмечается в течение первого месяца после трансплантации почки (Hazard rate = 0,04).

При анализе структуры летальности пациентов выделено пять классов причин летальных исходов. 1-й класс – инфекции. Показано, что наиболее частой причиной гибели больных после АТП являлись инфекционные осложнения – 26 случаев (37,68%). Среди них были: пневмонии – 12 пациентов (46%), сепсис – 9 пациентов (35%), туберкулез – 4 (15%), абсцесс легких – 1 больной (4%).

2-й класс причин смерти реципиентов почечных трансплантатов – кардиоваскулярные осложнения, 15 случаев (21,74%). Наблюдались следующие причины потерь больных от сердечно-сосудистых заболеваний: хроническая сердечная недостаточность – 5 больных (33%), острая сердечная недостаточность – 3 (20%), инфаркт миокарда – 3 (20%), внезапная смерть – 3 (20%), острое нарушение мозгового кровообращения – 1 пациент (7%).

3-й класс причин летальных исходов составили кровотечения – 7 случаев (10,14%). Источниками кровотечений были: сосуды трансплантата – 3 (43%), разрыв трансплантата – 2 (29%), сосуды послеоперационной раны – 1 (14%), желудочно-кишечное кровотечение – 1 (14%). Следует отметить, что все кровотечения наблюдались в ранний послеоперационный период (до 6 недель после АТП).

4-й класс – иные причины летальных исходов, 9 случаев (13,04%). Здесь наблюдались такие причины, как перитонит – 4 пациента (44%), уремия – 4 больных (44%), странгуляционная кишечная непроходимость в 1 случае (12%).

5-й класс – смерть по неуточненной причине – 12 случаев (17,39%). На рис. 1 показана структура смертности в форме диаграммы.

Анализ структуры причин потерь трансплантатов показал, что наиболее частой причиной данного исхода была смерть пациента с функционирующим РАТ – 38 случаев (37%). На втором месте по числу потерь РАТ была хроническая трансплантационная нефропатия (ХТН). Число больных, утративших трансплантат вследствие развития ХТН, составило 36 (35%). На третьем месте оказалось острое отторжение – 11 случаев (11%). Остальные причины утраты функции РАТ были достаточно редкими; среди них: несостоятельность пузырно-мочеточникового анастомоза – 6 случаев (6%), разрывы РАТ – 4 (4%), кровотечения из сосудов РАТ – 4 (4%), первично не функционирующий трансплантат – 2 (2%), апостематозный пиелонефрит трансплантата – 1 (1%). Структура потерь ренальных аллотрансплантатов представлена на рис. 2.

Далее был проведен сравнительный анализ выживаемости реципиентов и продолжительности функционирования ренальных трансплантатов за два 10-летних периода: 1990–1999 и 2000–2009 гг. Выживаемость пациентов, прооперированных в течение 1990–1999 гг.: 1-летняя – 63%, 5-летняя – 50%, а 10-летняя – 36%. При этом срединное время выживаемости больных после АТП составило 66 мес. (5,5 года). Выживаемость пациентов, прооперированных в период 2000–2009 гг., составила:



Рис. 1. Структура летальности пациентов



Рис. 2. Структура причин потерь ренальных аллотрансплантатов

1-летняя – 86%, 5-летняя – 83%, 10-летняя – 81%, при среднем времени выживаемости 150 мес. (12,5 года). Данные различия оказались статистически достоверными ($p = 0,000$; Wilcoxon-Gehan statistic); см. рис. 3.

Аналогично и для продолжительности функционирования РАТ было обнаружено достоверное увеличение ее в период 2000–2009 гг. Если у пациентов, перенесших АТП в течение 1990–1999 гг., однолетняя, пятилетняя и десятилетняя выживаемость РАТ составила 53, 33 и 22% соответственно (среднее время выживаемости трансплантатов за данный период составило 24 мес.), то для трансплантатов пациентов, прооперированных в течение 2000–2009 гг., однолетняя выживаемость составила 81%, пятилетняя – 69%, десятилетняя – 63% (среднее время выживаемости РАТ – 150 мес.). Сравнение было также статистически достоверно ($p = 0,0001$; Wilcoxon-Gehan statistic); см. рис. 4.

Не было выявлено статистически достоверной разницы в продолжительности жизни пациентов и в зависимости от пола, возраста, продолжительности диализа до АТП. Выявлена тенденция к сниженной продолжительности РАТ у пациентов с сахарным диабетом по сравнению с другими нозологическими формами – причинами терминальной почечной недостаточности ($p = 0,093$).

Удалось показать значение для исходов АТП таких факторов, как иммунологический подбор РАТ, использование современных протоколов иммуносупрессивной терапии.

Была показана роль применения молекулярно-генетического метода иммунологического подбора пары донор–реципиент. Проведено сравнение результатов АТП между двумя группами пациентов:

«группой 0» – пациенты, у которых применялся серологический метод HLA-типирования (85 человек), и «группой 1» – пациенты, у которых применялся молекулярно-генетический метод HLA-типирования (150 человек). Анализ производился для реципиентов, функция трансплантата которых сохранялась более 6 месяцев после операции. Полученные данные показали статистически значимое улучшение выживаемости РАТ при использовании молекулярно-генетического метода иммунологического подбора. В «группе 0» 5-летняя выживаемость РАТ составила 67%, 10-летняя – 55%, среднее время выживаемости (СВВ) – 150,5 мес. (12,5 года). В «группе 1» 5-летняя выживаемость РАТ достигла 83%, 10-летняя – 79%, СВВ – 204 мес. (17 лет) (Wilcoxon-Gehan, $p = 0,029$) (рис. 5).

Обнаружено достоверное различие в выживаемости пациентов в зависимости от типа применявшейся иммуносупрессивной терапии (ИМСТ). При использовании протокола «циклоsporин + азатиоприн + преднизолон» отмечалась достоверно более низкая выживаемость больных, чем при использовании протоколов «циклоsporин + микофенолат + преднизолон» либо «такролимус + микофенолат + преднизолон». При этом 1-летняя выживаемость больных – 62%, 10-летняя – 40% отмечалась при использовании протокола «циклоsporин + азатиоприн + преднизолон». При использовании протокола «циклоsporин + микофенолат + преднизолон» 1-летняя выживаемость – 87%, 10-летняя – 79%. При использовании протокола «такролимус + микофенолат + преднизолон» 1-летняя выживаемость составила 95%; в 42 мес. (3,5 года) – максимальное время наблюдения для данной группы ($p = 0,000$; Wilcoxon-Gehan statistic) (рис. 6).

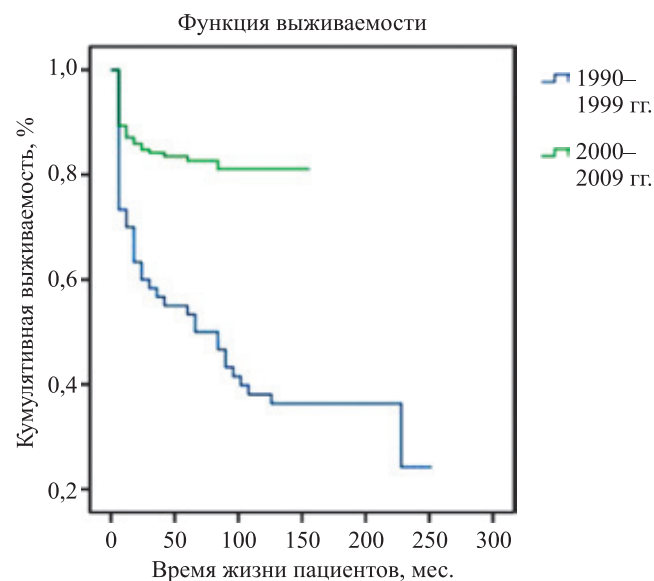


Рис. 3. Выживаемость пациентов после АТП за два периода: 1990–1999 и 2000–2009 гг.

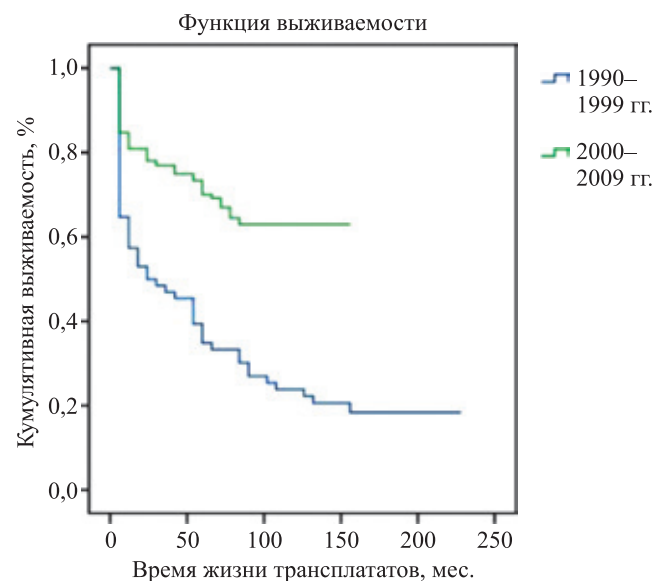


Рис. 4. Выживаемость трансплантатов пациентов после АТП за два периода: 1990–1999 и 2000–2009 гг.

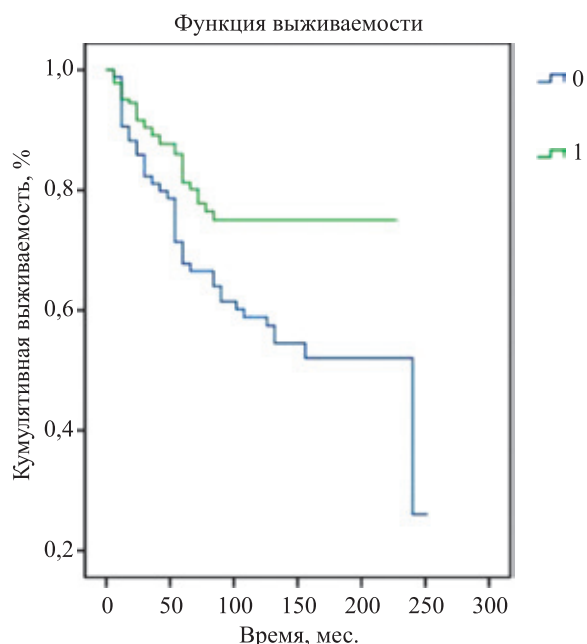


Рис. 5. Кривые выживаемости трансплантатов при применении разных методов HLA-типирования: группа 0 – серологический метод подбора; группа 1 – молекулярно-генетический метод подбора

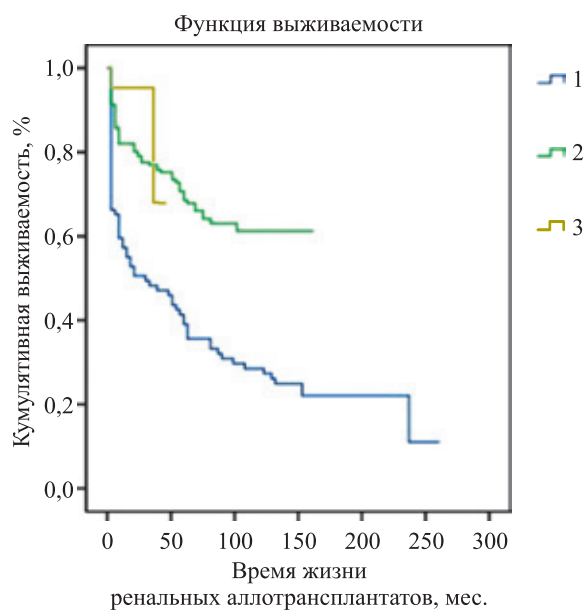


Рис. 7. Кривые выживаемости ренальных аллотрансплантатов при применении различных протоколов иммуносупрессивной терапии: 1 – циклоsporин + азатиоприн + преднизолон; 2 – циклоsporин + микофенолат + преднизолон; 3 – такролимус + микофенолат + преднизолон

Было выявлено также достоверное различие в выживаемости РАТ пациентов в зависимости от типа применявшейся ИМСТ. При использовании протокола «циклоsporин + азатиоприн + преднизолон» отмечалась достоверно более низкая выживаемость трансплантатов, чем при использовании протоколов «циклоsporин + микофенолат +

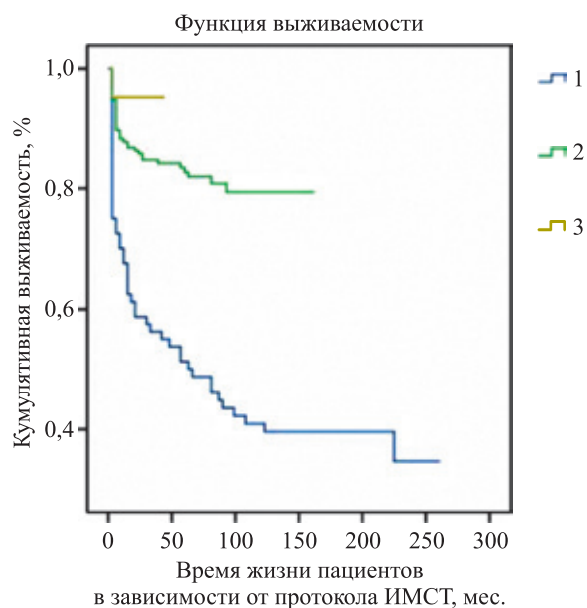


Рис. 6. Кривые выживаемости пациентов при применении различных протоколов иммуносупрессивной терапии: 1 – циклоsporин + азатиоприн + преднизолон; 2 – циклоsporин + микофенолат + преднизолон; 3 – такролимус + микофенолат + преднизолон

преднизолон» либо «такролимус + микофенолат + преднизолон». При этом 1-летняя выживаемость – 55%, 10-летняя – 27% отмечалась при использовании протокола «циклоsporин + азатиоприн + преднизолон». При использовании протокола «циклоsporин + микофенолат + преднизолон» 1-летняя выживаемость трансплантатов была 82% и 10-летняя – 61%. При использовании протокола «такролимус + микофенолат + преднизолон» 1-летняя выживаемость составила 95%, 3-летняя – 95%; максимальное время наблюдения для данной группы составило 42 мес. (3,5 года) ($p = 0,000$; Wilcoxon-Gehan statistic) (рис. 7).

Следует отметить, что статистически достоверного различия в выживаемости пациентов и трансплантатов между группами пациентов, получавших циклоsporин + микофенолат + преднизолон и такролимус + микофенолат + преднизолон, обнаружено не было ($p = 0,341$, Wilcoxon-Gehan statistic). Также не было найдено различия в продолжительности функционирования трансплантатов ($p = 0,272$, Wilcoxon-Gehan statistic).

ОБСУЖДЕНИЕ

Внимание отечественных и зарубежных исследователей привлечено к изучению исходов трансплантации почки. Анализ результатов трансплантации почки НИИТиИО, выполненный в 90-х годах прошлого века, показал, что 5-летняя выживаемость пациентов после операции составила 85%, а РАТ – 72% [7]. По данным крупных международ-

ных исследований, результаты трансплантации почки улучшаются. Так, Opelz Dr.G. (Collaborative Transplant Study) [8] подчеркивает, что выживаемость ренальных аллотрансплантатов после АТП в 2000-х годах улучшилась по сравнению с выживаемостью пациентов в 1990-х годах. При этом 1-летняя выживаемость больных, перенесших АТП в течение периода 1991–1995 гг., составляла – 95%, 5-летняя – 85%; тогда как выживаемость пациентов после АТП в период 2001–2005 гг. составила: 1-летняя – 97%, 5-летняя – 90%. Выживаемость РАТ в период 1991–1995 гг.: 1-летняя – 85%, 5-летняя – 70%. Продолжительность функционирования трансплантатов в период 2001–2005 гг. составила: 1-летняя – 91%, 5-летняя – 81%.

В руководстве по трансплантации почки под редакцией Т. Kalble, А. Alcaraz, К. Budde и соавт. [3] приводятся следующие рекомендации: выживаемость трансплантата после среднестатистической трансплантации почки не должна быть менее 85% в течение первого года в посттрансплантационном периоде и менее 70% в течение 5 лет в посттрансплантационном периоде.

Достаточно интересным и значимым является изучение длительного функционирования почечных трансплантатов. Имеются данные, что через 10 лет после трансплантации в Европе функционирует 56% почечных трансплантатов, в США – 46% у белых, 48% у латиноамериканцев, 34% у афроамериканцев [9]. В проведенном нами исследовании при анализе трансплантаций за 20-летний период мы получили уровень 10-летней выживаемости, равный 48%. При сравнительном анализе двух 10-летних периодов были обнаружены значимые различия в выживаемости трансплантатов: 10-летняя выживаемость РАТ в период 1990–1999 гг. была 22%, тогда как в период 2000–2009 гг. она достигла 63%.

Данные Opelz Dr.G. (Collaborative Transplant Study) [8] демонстрируют преимущества иммуносупрессии на основе сочетания ингибиторов кальциневрина (циклоспорин, такролимус) с микофенолатами по сравнению с протоколом на основе циклоспорина и азатиоприна. При использовании протокола «циклоспорин + азатиоприн» 1-летняя выживаемость РАТ была 87%, а 3-летняя – 81%, тогда как при использовании протокола «циклоспорин (такролимус) + микофенолат» выживаемость трансплантатов была: 1-летняя – 92%, 3-летняя – 87%. Мы также обнаружили достоверное улучшение выживаемости трансплантатов при использовании ИМСТ на основе ингибиторов кальциневрина (циклоспорин, такролимус) + микофенолатов по сравнению с ИМСТ «циклоспорин + азатиоприн».

По данным исследования Ким И.Г. и соавт. [10], при сравнении результатов АТП по протоко-

лам ИМСТ на основе циклоспорина и такролимуса были получены следующие данные. Выживаемость реципиентов через 3 года после трансплантации составила 95,3% в 1-й группе больных, получавших СуА, и 89,9% во 2-й группе, в которой базовым компонентом ИМСТ был Тас ($p < 0,12$), выживаемость трансплантатов в эти же сроки составила 94,3 и 91,7% соответственно ($p < 0,6$). Мы также не обнаружили различия в результатах АТП при использовании ИМСТ на основе циклоспорина и такролимуса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Показано, что аллотрансплантация почки является высокоэффективным методом заместительной почечной терапии, обеспечивающим длительную выживаемость пациентов (10-летняя – 64%, 20-летняя – 43%) и ренальных аллотрансплантатов (10-летняя – 48%, 20-летняя – 41%).
2. Основными причинами летальных исходов после операции АТП являются инфекции (38%) и кардиоваскулярные осложнения (22%).
3. Основными причинами потерь ренальных аллотрансплантатов являются смерть пациента с функционирующим трансплантатом (37%) и хроническая трансплантационная нефропатия (35%).
4. В течение последнего десятилетия отмечается значимое улучшение результатов АТП, но при этом необходимо дальнейшее совершенствование медицинской технологии для достижения более совершенных результатов.
5. Приоритетным направлением на пути улучшения результатов АТП является предупреждение инфекционных и кардиоваскулярных осложнений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Национальное руководство по нефрологии. Под редакцией Н.А. Мухина. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009: 716. National nephrologic textbook. Formulation of N.A. Muchin. Moscow: GEOTAR-Media, 2009: 716.
2. Трансплантация почки. Под редакцией Габриэль М. Данович. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. Kidney transplantation. Formulation of G.M. Danovich. Moscow: GEOTAR-Media, 2013.
3. Трансплантация почки. Под редакцией Т. Калбл, А. Алкараз, К. Будде и соавт. М.: АБВ-пресс, 2010. Kidney transplantation. Formulation of T. Kalble, A. Alcaraz, K. Budde et al. Moscow: ABV-press, 2010.
4. Does transplantation produce quality of life benefits? A quantitative analysis of the literature. M.A. Dew, G.E. Switzer, J.M. Goycoolea. *Transplantation*. 1997; 64: 1261.

5. An economic analysis of renal transplantation. Evans R.W., Kitzmann D.J. *Surg. Clin. North. Am.* 1998; 78: 149.
6. Значение трансплантации почки в мире. Г.Г. Гарсия, П. Харден, Д. Чапмен. *Современная медицинская наука*. 2012; 1: 147–157. The significance of kidney transplantation in the world. G.G. Garsia, P. Harden, D. Chapman. *Sovremennaja medicinskaja nauka*. 2012; 1: 147–157.
7. Факторы риска поздней дисфункции трансплантированной почки. Н.А. Томилина, Е.С. Столяревич, Ф.С. Баранова. *Нефрология и диализ*. 2003; 5 (1): 15–24. Risk-factors of late dysfunction of transplant kidney. N.A. Tomilina, E.S. Stolyarevich, F.S. Baranova. *Nephrology and Dialysis*. 2003; 5 (1): 15–24.
8. <http://www.ctstransplant.org/>
9. www.hd13.ru, «Гемодиализ для специалистов». www.hd13.ru, «Hemodialysis for specialists».
10. Влияние режима поддерживающей иммуносупрессивной терапии на отдаленные результаты трансплантации почки. И.Г. Ким, Е.С. Столяревич, Л.Ю. Артюхина, Н.Ф. Фролова, Н.Д. Федорова, Н.А. Томилина. *Нефрология и диализ*. 2012; 14 (1): 41–47. The impact of regimen of sustaining immunosuppressive therapy to distant results of kidney transplantation. I.G. Kim, E.S. Stolyarevich, L.U. Artjuchina, N.F. Frolova, N.D. Fedorova, N.A. Tomilina. *Nephrology and Dialysis*. 2012; 14 (1): 41–47.

Статья поступила в редакцию 15.05.2014 г.

DOI: 10.15825/1995-1191-2014-4-62-67

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ АОРТАЛЬНОГО КЛАПАНА ПРИ МЕХАНИЧЕСКОЙ ПОДДЕРЖКЕ КРОВООБРАЩЕНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ

Быков И.В., Иткин Г.П.

Лаборатория биотехнических систем ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. В.И. Шумакова» Минздрава РФ, Москва, Российская Федерация

Цель. Проведение исследований на математической модели сердечно-сосудистой системы для оценки функционирования аортального клапана в условиях обхода левого желудочка сердца с помощью насоса непрерывного потока. **Материалы и методы.** Решение поставленной задачи подразумевает разработку алгоритма, позволяющего производить оценку состояния аортального клапана (открыт/закрыт) по характеристикам кривой расхода насоса непрерывного потока. Для этого использована разработанная ранее математическая модель взаимодействия сердечно-сосудистой системы и насоса непрерывного потока, а также использованы данные, полученные в экспериментах на животных и на гидродинамическом стенде, имитирующем большой круг кровообращения. **Результаты.** Создан метод математического анализа кривой расхода крови через насос непрерывного потока. Выходные данные позволяют определить состояние аортального клапана во время механической поддержки кровообращения с уровнем достоверности >90%. **Заключение.** Предложенный метод математической оценки работы аортального клапана позволяет идентифицировать режимы, связанные с аномальным функционированием аортального клапана, которые могут привести к тромбозу и срастанию его створок. Предложенный алгоритм может быть внесен в систему индикации критических режимов в аппарате вспомогательного кровообращения на базе насоса непрерывного потока.

Ключевые слова: аортальный клапан, система вспомогательного кровообращения, устройство левожелудочкового обхода (УЛЖО), пульсация, тромбообразование.

THE MATHEMATICAL MODELING ESTIMATION OF THE AORTIC VALVE STATE DURING MECHANICAL CIRCULATORY SUPPORT

Bykov I.V., Itkin G.P.

Laboratory of Biotechnical Systems, V.I.Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

Aim. This work is to research the aortic valve functioning during left ventricle bypass with non-pulsatile pump. **Materials and methods.** The main part of the research is author's algorithm to estimate aortic valve state (open/closed). The research includes mathematical modeling, mock loop experiments and animal experiments. **Results.** The author develops the algorithm of rotary blood pump flowrate processing to estimate (with reliability of more than 90%) the state of aortic valve during heart mechanical support. **Conclusion.** The proposed algorithm of estimating the aortic valve state allows identifying abnormal mode of cardiac support that can cause thrombosis and aortic valve commissural fusion. This algorithm can be incorporated into non-pulsatile LVAD.

Key words: aortic valve, circulatory support system, left ventricular assist device (LVAD), pulsation, thrombogenesis.

Для корреспонденции: Быков Илья Викторович. Адрес: 123182, г. Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. 8 (926) 810-33-63. E-mail: bykov-iv@mail.ru.

For correspondence: Bykov Ilya Viktorovich. Address: 1, Shchukinskaya st., Moscow, 123182, Russian Federation. Tel. 8 (926) 810-33-63. E-mail: bykov-iv@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Использование системы вспомогательного кровообращения (СВК) в качестве стандартной терапии при хронической сердечной недостаточности во всем мире набирает все большие масштабы [1–5], ввиду наличия большого количества плюсов их использования. В ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава России в настоящее время ведутся экспериментальные исследования отечественного аппарата вспомогательного кровообращения АВК-Н [6], а также исследования, направленные на решение нескольких основных проблем использования подобных систем, а именно:

- 1) разработка косвенных методов оценки параметров гемодинамики;
- 2) реализация биологической обратной связи (БОС), которая может позволить ввести адаптивные алгоритмы управления расходом насоса.

Решение второй задачи является более актуальным, однако не может быть произведено раньше первой. Как было описано ранее [7], реализация БОС преследует следующие основные цели:

- реакции насоса при изменении физической активности пациента;

- отсутствие таких критических режимов, как «присасывание» в области входной канюли и обратный сброс крови из аорты в желудочек при снижении расхода насоса.

Присасывание в области входной канюли является наиболее вероятным и опасным режимом вследствие вероятности повреждения эндокардиальной поверхности левого желудочка и снижения кровотока через насос. Данная проблема частично решается оптимизацией конструкции входной канюли и методами установки ее в полости левого желудочка (ЛЖ), однако при высоких частотах вращения ротора насоса для получения заданной величины расхода насоса непрерывного потока (ННП) может привести к опасной ситуации и закрытию аортального клапана (АК) во время систолы ЛЖ. Это опасно прежде всего тем, что значительно повышается риск тромбообразования за АК. Кроме того, в данном режиме длительное нефункционирование АК может привести к срастанию его створок. Следовательно, необходимо разрабатывать методы и средства индикации данного состояния АК при работе ННП [8] и информировать об этом пациента.

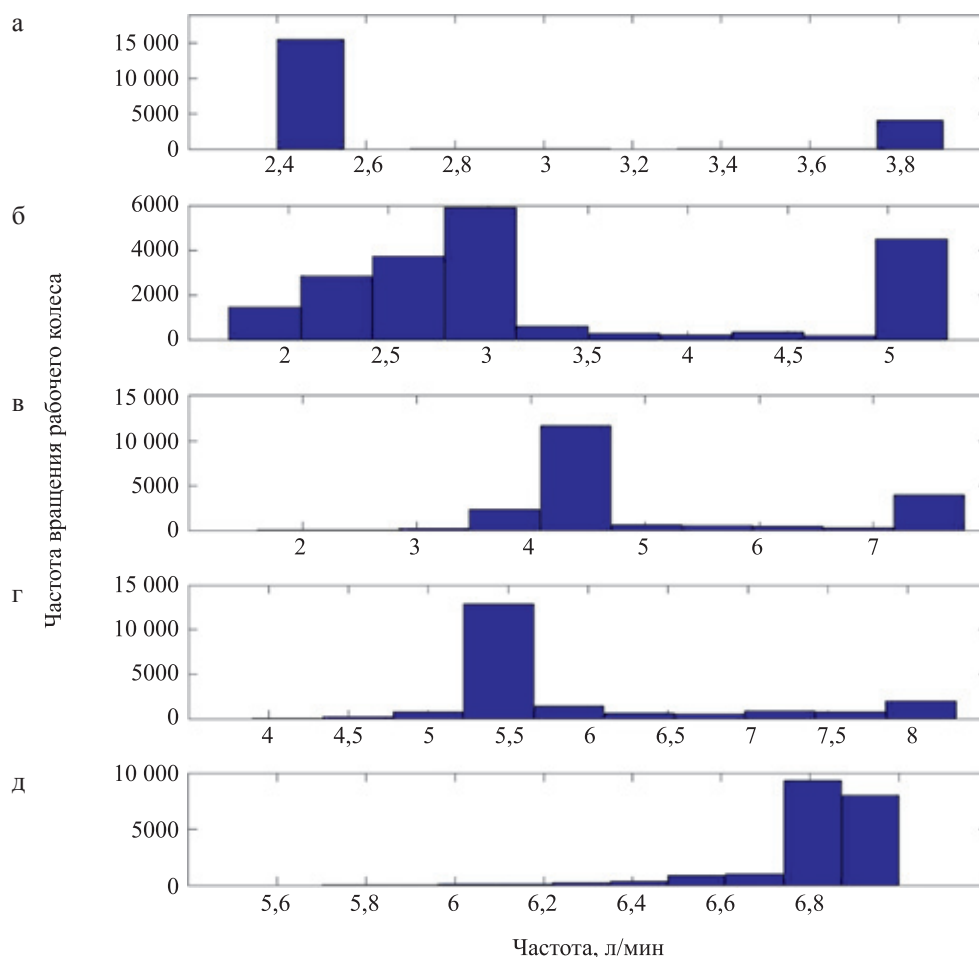


Рис. 1. Гистограммы распределения потока крови через ННП при различной заданной скорости вращения рабочего колеса: а) 5000 об./мин; б) 7000 об./мин; в) 8500 об./мин; г) 9500 об./мин; д) 10 500 об./мин

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В рамках разработки математической модели взаимодействия сердечно-сосудистой системы (ССС) с ННП были проведены исследования по алгоритмическому решению данной проблемы. Для обеспечения высокого качества жизни пациента с установленной системой длительной механической поддержки кровообращения (МПК), снижения риска инфекции и тромбообразования имплантация контактных датчиков давления и расхода крови крайне нежелательна ввиду отсутствия в настоящее время простых и надежных систем. Решением данной проблемы является разработка методов косвенного измерения параметров давления и расхода ННП с получением данных непосредственно по оценке параметров самого насоса (кривые потребляемой мощности, тока и частоты вращения ротора) [7].

В рамках экспериментальных исследований СВК на крупных животных с выживаемостью более 120 суток [9] нами были проанализированы данные с ультразвукового измерителя расхода при различных предустановленных скоростях вращения рабочего колеса (РК) насоса, связанных с его производительностью. На основании этих данных был проведен статистический анализ, результаты которого приведены на рис. 1. Эти данные были использованы в построенной математической модели взаимодействия ССС и ННП [6].

В условиях изменении частоты вращения ротора, обеспечивающего различную степень разгрузки ЛЖ и суммарного кровотока, кривая расхода в систолу имеет форму «полок» различной длины (рис. 2, а). Это может свидетельствовать о том, что АК функционирует, так как открыт и перепад давления на насосе минимальный [10, 11]. При повышенной частоте вращения ротора и максимальной разгрузке ЛЖ форма кривой расхода изменяется и приближается к синусоидальной (рис. 2, б). При этом статистическая характеристика кривой расхода (рис. 1, г, д), имеющая в норме 2 характерных экстремума, видоизменяется, и систолический и диастолический расход крови через насос практически выравниваются.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследования, проведенные на математической модели, при сопоставлении с экспериментальными данными доказывают, что превышение критического значения расхода насоса приводит к превышению давления в аорте над давлением в ЛЖ (рис. 3, г, д). Соответственно, в этом случае открытие АК может иметь вероятностный характер, зависящий от положения тела, текущей физической нагрузки, когда производительность насоса превы-

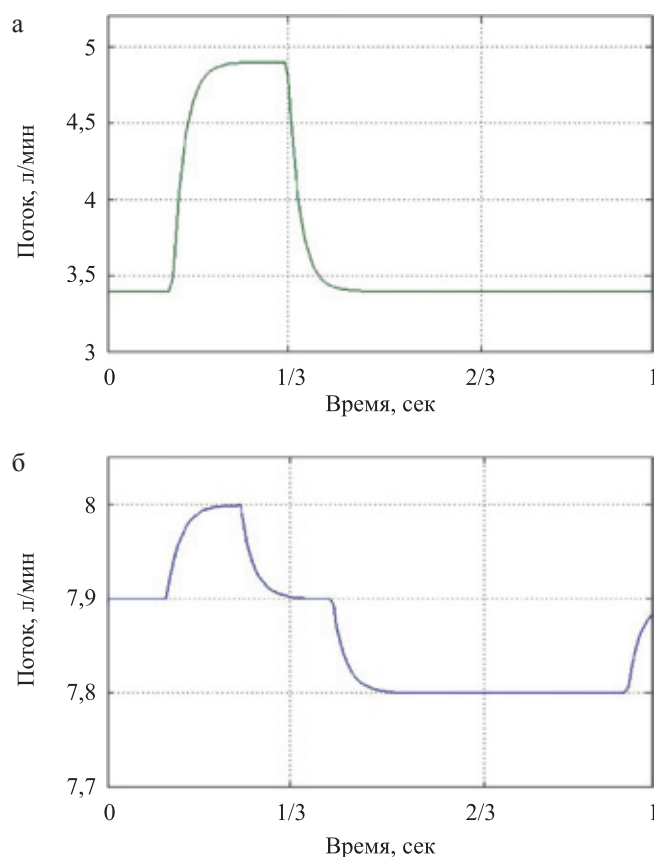


Рис. 2. Кривые расхода через ННП: а) с открытием аортального клапана во время систолы – в фазу изгнания поток через насос практически постоянен во времени; б) при постоянно закрытом АК кривая потока приобретает форму искаженной синусоиды

шена незначительно (рис. 3, г). При значительном превышении расхода насоса АК полностью закрывается (рис. 3, д). Поэтому алгоритм управления насосом должен обеспечить снижение расхода насоса до значения, когда систолическое давление в аорте соответствует давлению в ЛЖ и АК периодически открывается (рис. 3, а–в), при минимальном снижении общего кровотока.

Данные режимы могут быть смоделированы на математической модели и верифицированы с использованием ультразвуковых исследований. Для этого параметры гемодинамики пациента (такие как давление, ударный объем, минутный объем кровообращения) вводятся в математическую модель, и затем на модели проводится оценка функционирования АК. Предложенный нами метод математического анализа кривой расхода позволяет с высокой достоверностью (выше 90%) определять состояние АК (открыт/закрыт). На рис. 4 представлены результаты обработки данных моделирования. Для оценки скорости изменения расхода через насос при его взаимодействии с ССС кривая расхода дифференцируется и фильтруется. Затем методами статистического анализа полученные данные обрабатываются, и строятся графики типа «квантиль-квантиль», по

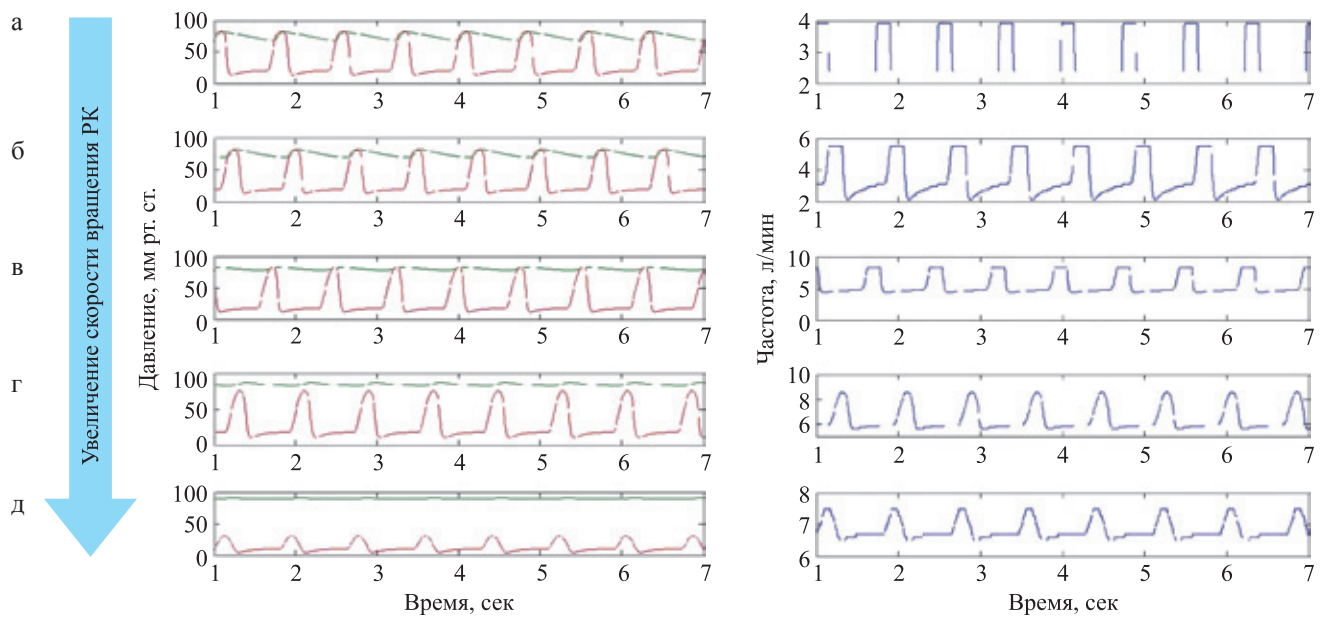


Рис. 3. Давление в ЛЖ (красный) и в аорте (зеленый) во время МПК и соответствующая производительность насоса (графики справа) с ростом скорости вращения рабочего колеса ННП (сверху вниз)

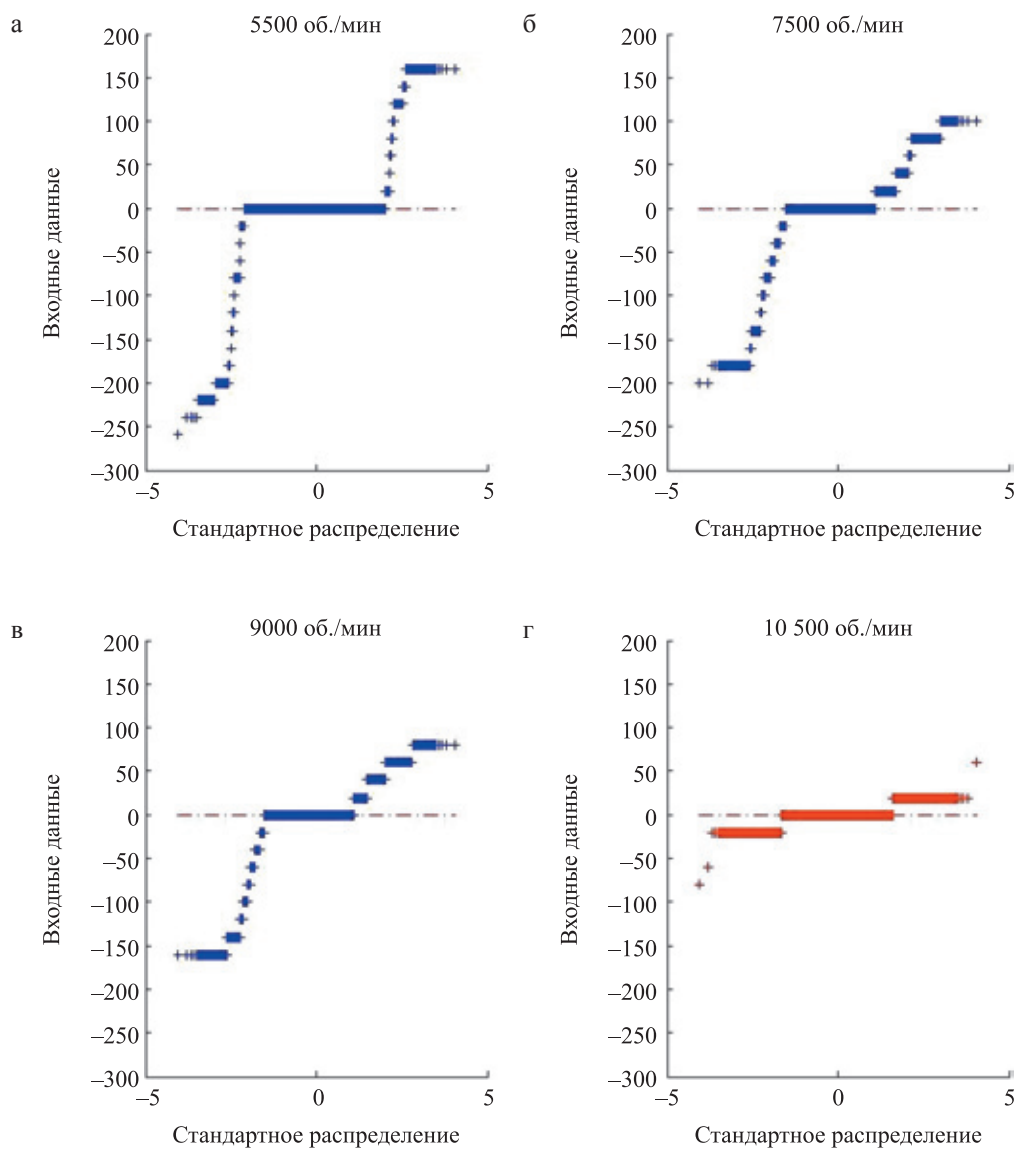


Рис. 4. Результаты обработки данных о расходе насоса

которым можно оценивать вероятностный характер распределения величины изменения расхода крови через насос. При нормальном функционировании АК (рис. 4, а–в) диапазон интервалов, в которые попадают значения скорости изменения расхода через насос (вертикальная ось), достаточно широкий и составляет от –250 до 200. В случае закрытого АК распределение значений скорости изменения расхода через насос ограничивается тремя интервалами (рис. 4, г), по абсолютному значению не превышающими ± 25 . Данный способ математического анализа не требует трудоемких математических вычислений и может достаточно просто быть применен в системе управления ННП, однако требует в качестве входных данных параметры давления на входе и выходе насоса, по которым, исходя из расходно-напорной характеристики, снятой предварительно на гидродинамическом стенде, могут быть вычислены значения мгновенного расхода.

В некоторых системах МПК получение данных параметров по сигналам с насоса достаточно успешно реализовано (HeartMate III, Thoratec Corporation). Несмотря на достаточно высокую погрешность вычисления значений параметров косвенными методами (порядка 10–20%), предложенный способ математического анализа исключает влияние амплитудных значений расхода и направлен на получение важной информации о функционировании АК при совместной работе ЛЖ и ННП на основе анализа характера кривой расхода крови через насос.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время появляется все больше систем МПК, основанных на ННП, подключаемых по схеме «левый желудочек – аорта». Отсутствие кардиосинхронизации насосов и жесткость расходно-напорных характеристик (небольшой наклон характеристик расхода при заданном перепаде давления ЛЖ–аорта) значительно повышает надежность данных систем, так как управление осуществляется за счет стабилизации лишь одного параметра – скорости вращения РК насоса. Кроме того, в отличие от пульсирующих насосов, ННП имеют значительно меньшие массогабаритные показатели, что облегчает процедуру имплантации пациенту и уменьшает вероятность инфекции. Несмотря на это, до сих пор остаются вопросы, связанные с критическими режимами во время функционирования ННП. Предложенный метод математической оценки работы АК является одним из решений поставленной задачи и позволяет, в частности, идентифицировать один из таких режимов, связанных с прогностически аномальным функционированием АК, который может привести к тромбозу и срастанию его створок.

В дальнейшем предполагается ввести предложенный алгоритм в систему индикации критических режимов в аппарате вспомогательного кровообращения на базе ННП.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. World health statistics. World Health Organisation. 2012.
2. Westaby S. Destination therapy: time for real progress. *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med.* 2008; 5: 477–483.
3. Slaughter MS, Rogers JG, Milano CA, Russel SD, Conte JV, Feldman D et al. Advanced heart failure treated with continuous-flow left ventricular assist device. *N. Engl. J. Med.* 2009; 361: 2241–2251.
4. Kirklin JK, Naftel DC, Kormos RL, Stevenson LW, Pagani FD, Miller MA et al. The Fourth INTERMACS Annual Report: 4,000 implants and counting. *J Heart and Lung Transplantation.* 2012; 31 (2): 117–126.
5. McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD, Auricchio A, Boehm M, Dickstein K et al. ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: the Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur. J. Heart. Fail.* 2012; 14: 803–869.
6. Готье СВ, Иткин ГП, Шемакин СЮ, Саитгареев РШ, Попцов ВН, Захаревич ВМ и др. Первый опыт клинического применения отечественного аппарата вспомогательного кровообращения на базе имплантируемого осевого насоса для двухэтапной трансплантации сердца. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2013; 15 (3): 92–101. Gautier SV, Itkin GP, Shemakin SJu, Saitgareev RSh, Popcov VN, Zaharevich VM. The first experience in clinical application of domestic circulatory support device on basis of implantable axial pump for two stage heart transplantation. *Vestnik transplantologii i iskusstvennyh organov.* 2013; 15 (3): 92–101. [In Russ]
7. Быков ИВ, Иткин ГП. Принципы построения математической модели для исследования взаимодействия насосов непрерывного потока и сердечно-сосудистой системы. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2013; 15 (3): 59–65. Bykov IV, Itkin GP. Principles of development mathematical model for researching of nonpulsatile flow pump and cardiac system. *Vestnik transplantologii i iskusstvennyh organov.* 2013; 15 (3): 59–65. [In Russ]
8. Robinson D. Quantitative analysis of the control of cardiac output in the isolated left ventricle. *Circulation Research.* 1965; 17: 207–221.
9. Иткин ГП, Шемакин СЮ, Шохина ЕГ, Бурцев ВИ, Аврамов ПВ, Волкова ЕА и др. Результаты экспериментальных исследований на телятах первого отечественного имплантируемого осевого насоса. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2013; 15 (3): 49–58. Itkin GP, Shemakin SJu, Shohina EG, Burcev VI, Avramov PV, Volkova EA et al. The first domestic implantable axial flow pump: results of experimental studies in calves. *Vestnik transplan-*

- tologii i iskusstvennyh organov*. 2013; 15 (3): 49–58. [In Russ]
9. *Valsecchi S, Perego GB, Censi F, Schreuder JJ*. Estimation of Cardiac Output from Left Ventricular Pressure by a Modified Modelflow Method. *Computers in Cardiology*. 2006; 33: 873–876.
 10. *Вашуркин ДВ*. Разработка методологии проектирования и создания осевого насоса имплантируемой системы вспомогательного кровообращения [Диссертация]. М., 2007: 159. *Vashurkin DV*. *Razrabotka metodologii proektirovanija i sozdanija oseвого nasosa implantiruemoj sistemy vspomogatel'nogo krovoobrashhenija* [Dissertation]. Moscow, 2007: 159.
- Статья поступила в редакцию 10.04.2014 г.*

DOI: 10.15825/1995-1191-2014-4-68-71

КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВЫСОКОДОЗНОЙ ИММУНОСУПРЕССИВНОЙ ТЕРАПИИ С ТРАНСПЛАНТАЦИЕЙ КРОВЕТВОРНЫХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ РАССЕЯННОМ СКЛЕРОЗЕ

Федоренко Д.А.¹, Мельниченко В.Я.¹, Ионова Т.И.¹, Ярошенко Е.Б.²

¹ ФГБУ «Национальный медико-хирургический центр им. Н.И. Пирогова» Минздрава РФ, Москва, Российская Федерация

² ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Минздрава РФ, Москва, Российская Федерация

Рассеянный склероз (РС) – хроническое прогрессирующее заболевание центральной нервной системы (ЦНС), которое сопровождается не только физическими нарушениями, но и отклонениями в психоэмоциональной, духовной и социальной сферах. Высокодозная иммуносупрессивная терапия с трансплантацией кроветворных стволовых клеток (ВИСТ + ТКСК) – новый эффективный метод лечения РС. В данной публикации представлены результаты оценки клинической эффективности у больных с прогрессирующим (ПРС) и ремиттирующим вариантами РС (РРС) в разные сроки после ВИСТ + ТКСК. В исследование включено 93 пациента в возрасте от 18 до 50 лет с верифицированным диагнозом РС. Медиана длительности наблюдения составила 47,2 мес. Для оценки клинической эффективности использовались индекс EDSS и данные МРТ. Проведенный анализ переносимости и побочных эффектов ВИСТ + ТКСК показал, что процедура трансплантации хорошо переносилась больными. Не было отмечено летальных исходов и тяжелых осложнений в посттрансплантационном периоде. Суммарно положительный эффект ВИСТ + ТКСК (стабилизация и улучшение) в отдаленные сроки после трансплантации достигнут у 95% больных с РРС и у 77,5% – с ПРС. Таким образом, результаты исследования доказывают высокую эффективность ВИСТ + ТКСК при РС.

Ключевые слова: аутологичная трансплантация кроветворных стволовых клеток, рассеянный склероз.

CLINICAL EFFECTIVENESS OF HIGH-DOSE IMMUNOSUPPRESSIVE THERAPY WITH AUTOLOGOUS HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION IN MULTIPLE SCLEROSIS PATIENTS

Fedorenko D.A.¹, Melnichenko V.Ya.¹, Ionova T.I.¹, Yaroshenko E.B.²

¹ N.I. Pirogov National Medical Surgical Center of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

² V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

Multiple sclerosis (MS) is a major inflammatory and demyelinating disease of the central nervous system (CNS), associated with a broad spectrum of physical, psychological, and social impairments. High-dose immunosuppressive therapy (HDIT) with autologous hematopoietic stem cell transplantation (AHSCT) is a new and promising approach to MS treatment. In this paper we present the clinical monitoring results of 93 patients with different MS types after AHSCT. The mobilization and transplantation procedures were well tolerated. At long-term follow-up (mean 47,2 months), the overall clinical response in terms of disease improvement or stabilization was 95% in patients with relapsing-remitting MS and 77,5% in patients with progressive MS. The results of our study support the feasibility of AHSCT in MS patients.

Key words: autologous hematopoietic stem cell transplantation, multiple sclerosis.

Для корреспонденции: Ярошенко Екатерина Борисовна. Адрес: 123182, г. Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. 8 (495) 190-35-62. E-mail: livertranspl@mail.ru.

For correspondence: Yaroshenko Ekaterina Borisovna. Address: 1, Shchukinskaya st., Moscow, 123182, Russian Federation. Tel. 8 (495) 190-35-62. E-mail: livertranspl@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Рассеянный склероз (РС) – хроническое прогрессирующее заболевание центральной нервной системы (ЦНС), которое сопровождается не только физическими нарушениями, но и отклонениями в психоэмоциональной, духовной и социальной сферах [1].

Высокодозная иммуносупрессивная терапия с трансплантацией кроветворных стволовых клеток (ВИСТ + ТКСК) – новый эффективный метод лечения РС, позволяющий влиять на иммунопатогенез заболевания на клеточном уровне [1–4]. Сообщение о первой успешной ТКСК при РС в Европе появилось в 1997 г. [5, 6]. В России первая ТКСК при РС проведена под руководством проф. А.А. Новика в Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова в 1999 г. [1, 2]. В настоящее время в мире проведено около 1000 ТКСК при РС. В регистре Европейской группы трансплантации костного мозга (EBMTG) на март 2013 г. содержится информация о 537 ТКСК при РС. В большинстве случаев оценку эффективности трансплантации проводили при помощи традиционного неврологического обследования (индекс EDSS) и магнитно-резонансной томографии (МРТ).

Цель данного исследования – оценить эффективность ВИСТ + ТКСК у больных с прогрессирующим (ППС) и ремиттирующим (РРС) вариантами течения РС с использованием традиционных клинических критериев.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 93 пациента в возрасте от 18 до 50 лет с верифицированным диагнозом РС, которым проведена ВИСТ + ТКСК в клинике гематологии и клеточной терапии им. А.А. Максимова ФГБУ «Национальный медико-хирургический центр им. Н.И. Пирогова». Критериями включения также были: уровень инвалидизации по шкале EDSS от 1,5 до 8,0, отсутствие когнитивных нарушений, отсутствие тяжелых сопутствующих забо-

леваний. Медиана длительности наблюдения составила 47,2 мес.

Основные данные о включенных в исследование больных представлены в таблице.

Клинический ответ на лечение определяли на основании изучения динамики неврологического статуса по шкале инвалидизации EDSS.

Оценку статистической значимости различий показателей в сравниваемых группах проводили с использованием критериев сравнения для двух выборок (*t*-критерий Стьюдента/ранговый критерий Манна–Уитни). Оценивание бессобытийной выживаемости (без рецидива/прогрессирования заболевания) проводили методом Каплана–Мейера. Сравнение выживаемости в двух группах проводили с помощью лог-рангового критерия.

Все тесты были двусторонними, различия между сравниваемыми группами признаны статистически значимыми при уровне $p < 0,05$. Статистическая мощность критериев не менее 0,80.

Статистический анализ проведен с использованием программного обеспечения: Statistica 6.0, Stadia 7.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенный анализ переносимости и побочных эффектов ВИСТ + ТКСК показал, что процедура трансплантации хорошо переносилась больными. Не было отмечено летальных исходов и тяжелых осложнений в посттрансплантационном периоде.

При анализе клинического ответа по индексу EDSS через 3 и 6 мес. после ТКСК клинический ответ зарегистрирован в 100% случаев. Через 3 мес. после ВИСТ + ТКСК улучшение отмечено у 41% пациентов, стабилизация – у 59% в группе РРС и 57 и 43% соответственно в группе ПРС; через 6 мес. улучшение – у 45%, стабилизация – у 55% больных в группе РРС и у 66 и 34% соответственно в группе ПРС. Через 1 год после ТКСК прогрессирование зафиксировано только у 1 пациента (2,2%) с ПРС, у остальных больных сохранялось либо улуч-

Таблица

Демографическая и клиническая характеристика больных

Показатель	Пациенты с ПРС	Пациенты с РРС	Всего
Количество пациентов	44	49	93
Средний возраст (ст. откл.), диапазон, лет	33 (19–50)	29 (18–48)	30 (18–50)
М/ж	21/23	18/31	39/54
Медиана длительности заболевания, лет	6	3	4
Медиана EDSS, диапазон	5,0 (1,5–8,0)	1,5 (1,5–5,0)	3,0 (1,5–8,0)
Наличие гадолиниевой активности по данным МРТ (Gd + /–)	14/29	26/22	40/51
Медиана длительности наблюдения, диапазон, мес.	47,8 (13,0–88,4)	47,1 (17,2–75,5)	47,2 (13,0–88,4)

шение, либо стабилизация состояния (47 и 53% в группе РРС и 70,5 и 27,3% в группе ПРС). Анализ клинической эффективности в отдаленном периоде (медиана длительности наблюдения – 47,2 мес.) проведен у 85 пациентов. Рецидив или прогрессирование заболевания зарегистрированы у 9 (22,5%) пациентов с ПРС и 2 (5%) пациентов с РРС. При этом улучшение и стабилизация сохранялись у 42 и 53% соответственно в группе РРС и у 60 и 17,5% – в группе ПРС. У пациентов со стабилизацией и улучшением не было выявлено новых и увеличения размеров старых очагов по данным МРТ в течение всего периода наблюдения.

На рис. 1 представлены кривые выживаемости без нежелательных событий у больных РС после ВИСТ + ТКСК в зависимости от варианта течения заболевания. Как видно из рисунка, кривые выживаемости у больных с прогрессирующим и ремиттирующим течением заболевания различались.

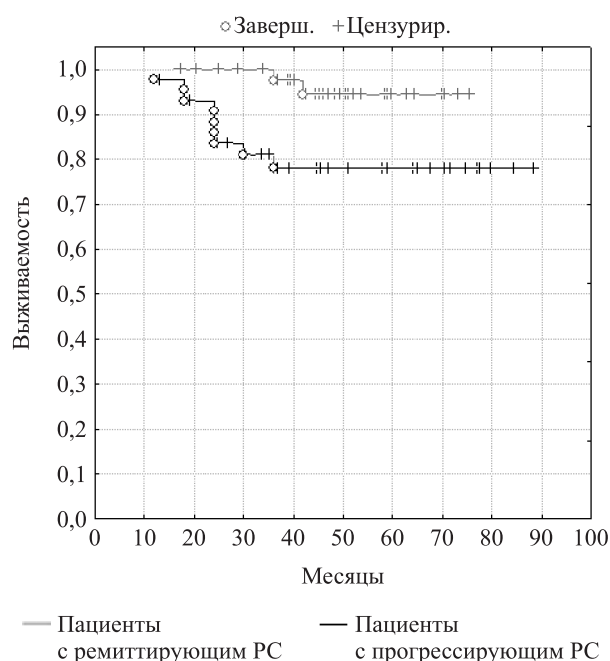


Рис. 1. Кривые выживаемости без нежелательных событий у больных РС после ВИСТ + ТКСК в зависимости от варианта течения заболевания

Пятилетняя выживаемость без нежелательных событий у пациентов с РРС составила 95% (95% ДИ 83,5–99,6%); у пациентов с ПРС – 78% (95% ДИ 62–88%). Различие между группами статистически значимо (лог-ранговый тест, $p = 0,01$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время ВИСТ + ТКСК при РС применяется в ряде стран Европы, Северной и Южной Америки, Азии. Имеющиеся данные позволяют утверждать о высокой эффективности трансплан-

тации, даже при злокачественных и резистентных к стандартной терапии вариантах РС [4, 7–11]. Предположительно эффективность трансплантации аутологичных клеток связана с продукцией биологически активных молекул [12, 13]. В России этот метод лечения РС применяется с 1999 года [1, 2, 14].

В результате проведенного исследования продемонстрирована безопасность и эффективность ВИСТ + ТКСК у больных с различными вариантами течения РС. Процедура трансплантации хорошо переносилась больными; не было отмечено летальных исходов и тяжелых неконтролируемых осложнений в посттрансплантационном периоде. Эти результаты соответствуют данным зарубежных исследований последних лет, согласно которым при применении немиелоаблативных режимов кондиционирования не было зарегистрировано летальных исходов [7–11]. Заслуживает внимания тот факт, что клинический ответ на терапию через 6 и 12 мес. после трансплантации был отмечен у подавляющего большинства пациентов. Суммарно положительный эффект ВИСТ + ТКСК (стабилизация и улучшение) в отдаленные сроки после трансплантации достигнут у 95% больных с РРС и у 77,5% больных с ПРС. Пациенты с ремиттирующим вариантом РС имели статистически значимо более высокую пятилетнюю выживаемость без нежелательных событий (без рецидива/прогрессирования заболевания) ($p = 0,01$).

Таким образом, результаты исследования доказывают высокую эффективность и безопасность ВИСТ + ТКСК у больных с различными вариантами РС.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Новик АА, Богданов АН. Принципы трансплантации костного мозга и стволовых клеток периферической крови. СПб.: ВМА, 2001. Novik AA, Bogdanov AN. Printsipy transplantatsii kostnogo mozga i stvolovykh kletok perifericheskoy krovi. SPb.: VMA, 2001.
2. Шевченко ЮЛ, Новик АА, Кузнецов АН и др. Аутологичная трансплантация кроветворных стволовых клеток при рассеянном склерозе: результаты исследования Российской кооперативной группы клеточной терапии. Неврол. журн. 2008; 2: 11–18. Shevchenko YuL, Novik AA, Kuznetsov AN i dr. Autologichnaya transplantatsiya krovetvornykh stvolovykh kletok pri rasseyannom skleroze: rezul'taty issledovaniya Rossiyskoy kooperativnoy gruppy kletochnoy terapii. Nevrol. zhurn. 2008; 2: 11–18.
3. Burt RK, Cohen B, Rose J et al. Hematopoietic stem cell transplantation for multiple sclerosis. Arch Neurol. 2005; 62: 860–864.
4. Chen B, Zhou M, Ouyang J et al. Long-term efficacy of autologous haematopoietic stem cell transplantation in

- multiple sclerosis at a single institution in China. *Neurol. Sci.* 2012; 33 (4): 881–886.
5. Comi G et al. Guidelines for autologous blood and marrow stem cell transplantation in multiple sclerosis: a consensus report written on behalf of the European Group for Blood and Marrow Transplantation and the European Charcot Foundation. *J. Neurol.* 2000; 247: 376–382.
 6. Fassas A, Passweg JR, Anagnostopoulos A et al. Hematopoietic stem cell transplantation for multiple sclerosis. A retrospective multicenter study. *J. Neurol.* 2002; 249: 1088–1097.
 7. Hamerschlak N, Rodrigues M, Moraes DA et al. Brazilian experience with two conditioning regimens in patients with multiple sclerosis: BEAM/horse ATG and CY/rabbit ATG. *Bone Marrow Transplant.* 2010; 45: 239–248.
 8. Krasulova E, Trneny M, Kozak T et al. High-dose immunoablation with autologous haematopoietic stem cell transplantation in aggressive multiple sclerosis: a single centre 10-year experience. *Mult. Scler.* 2010; 16: 685–693.
 9. Marmont AM. Will hematopoietic stem cell transplantation cure human autoimmune diseases? *J. Autoimmunity.* 2008; 30: 145–150.
 10. Rogojan C, Frederiksen JL. Hematopoietic stem cell transplantation in multiple sclerosis. *Acta Neurol. Scand.* 2009; 120: 371–382.
 11. Saccardi R, Kozak T, Bocelli-Tyndall C et al. Autoimmune Diseases Working Party of EBMT. Autologous stem cell transplantation for progressive multiple sclerosis: update of the European Group for Blood and Marrow Transplantation autoimmune diseases working party database. *Mult. Scler.* 2006; 12 (6): 814–823.
 12. Шумаков ВИ, Шевченко ОП, Онищенко НА. Трансплантация аутологичных клеток костного мозга больным с сердечной недостаточностью: молекулярные механизмы и маркеры эффективности лечения. *Молекулярная медицина.* 2006; 2: 48–54. Shumakov VI, Shevchenko OP, Onishhenko NA. Transplantacija autologichnyh kletok kostnogo mozga bol'nyim s serdechnoj nedostatochnost'ju: molekulyarnye mehanizmy i markery jeffektivnosti lechenija. *Molekuljarnaja medicina.* 2006; 2: 48–54.
 13. Курабекова РМ, Луговская СА, Наумова ЕВ, Цирульникова ОМ, Цирульникова ИЕ, Гичкун ОЕ и др. Анализ связи количества гемопоэтических стволовых клеток крови с лабораторными показателями состояния гепатобилиарной системы у детей с врожденными и наследственными заболеваниями печени. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2012; 7: 28–31. Kurabekova RM, Lugovskaja SA, Naumova EV, Cirul'nikova OM, Cirul'nikova IE, Gichkun OE i dr. Analiz svjazi kolichestva gemopojeticheskikh stvolovyh kletok krovi s laboratornymi pokazateljami sostojanija gepatobiliarnoj sistemy u detej s vrozhdennymi i nasledstvennymi zabolevanijami pecheni. *Klinicheskaja laboratornaja diagnostika.* 2012; 7: 28–31.
 14. Shevchenko YL, Novik AA, Afanasiev BV et al. High-dose immunosuppressive therapy with autologous hematopoietic stem cell transplantation as a treatment option in multiple sclerosis. *Exp. Hemat.* 2008; 36 (8): 922–928.

Работы выполняются в рамках мероприятия по созданию высокотехнологичных производств, утвержденных постановлением Правительства Российской Федерации от 9 апреля 2010 г. № 218

Статья поступила в редакцию 29.10.2014 г.

DOI: 10.15825/1995-1191-2014-4-72-77

ЭФФЕКТ НИТРОГЛИЦЕРИНА НА ПРОЛИФЕРАТИВНЫЙ И МИГРАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

Бондаренко Н.А.^{1, 2}, Лыков А.П.^{1, 2}, Ким И.И.^{1, 2}, Повещенко О.В.^{1, 2}, Повещенко А.Ф.^{1, 2}, Покушалов Е.А.², Романов А.Б.², Коненков В.И.^{1, 2}, Караськов А.М.²

¹ Лаборатория клеточных технологий ФГБУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии» СО РАМН, Новосибирск, Российская Федерация

² Центр новых технологий, лаборатория клеточных технологий ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения им. Е.Н. Мешалкина» МЗ РФ, Новосибирск, Российская Федерация

Цель. Изучить эффекты влияния нитроглицерина на пролиферативную и миграционную активность моноклеарных клеток и эндотелиальных прогениторных клеток у пациентов с хронической сердечной недостаточностью. **Материалы и методы.** Пролиферативный потенциал моноклеарных клеток периферической крови у доноров и пациентов изучали в МТТ-тесте в присутствии 50 и 100 мкг/мл нитроглицерина, пролиферацию и миграцию эндотелиальных прогениторных клеток пациентов оценивали по изменению клеточного импеданса в режиме реального времени в присутствии различных доз нитроглицерина. **Результаты.** Показано, что нитроглицерин снижает пролиферативную активность *in vitro* моноклеарных клеток пациентов с хронической сердечной недостаточностью, как спонтанную, так и стимулированную Конканавалин А. Моноклеарные клетки периферической крови пациентов с хронической сердечной недостаточностью, полученные после процедуры мобилизации гранулоцитарным колониестимулирующим фактором, отвечают увеличением пролиферативной активности на нитроглицерин в дозе 50 мкг/мл, а при дозе 100 мкг/мл – подавлением пролиферативной активности. Моноклеары условно здоровых доноров в ответ на стимуляцию нитроглицерином отвечают активацией пролиферативного потенциала. Показан стимулирующий эффект нитроглицерина на пролиферативный и миграционный потенциал эндотелиальных прогениторных клеток. **Заключение.** Установлен разнонаправленный и дозозависимый эффект нитроглицерина на различные типы клеток человека *in vitro*.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, нитроглицерин, моноклеарные клетки, эндотелиальные прогениторные клетки.

THE EFFECTS OF NITROGLYCERIN ON THE PROLIFERATIVE AND MIGRATORY POTENTIAL OF PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELLS

Bondarenko N.A.^{1, 2}, Lykov A.P.^{1, 2}, Kim I.I.^{1, 2}, Poveschenko O.V.^{1, 2}, Poveschenko A.F.^{1, 2}, Pokushalov E.A.², Romanov A.B.², Konenkov V.I.^{1, 2}, Karaskov A.M.²

¹ Laboratory of Cell Technologies, FSBI «Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology», Novosibirsk, Russian Federation

² Center of new technologies, laboratory of the cellular technologies, FSBI «E.N. Meshalkin Research Institute of Circulation Pathology», Novosibirsk, Russian Federation

Aim. To study the effects of nitroglycerin on proliferative and migratory activity of mononuclear cells and endothelial progenitor cells in patients with chronic heart failure. **Materials and methods.** Proliferative potential of peripheral blood mononuclear cells in donors and patients were studied in MTT-test in the presence of 50 and 100 mg/ml nitroglycerin. Proliferation and migration of endothelial progenitor cells in patients were evaluated

Для корреспонденции: Бондаренко Наталья Анатольевна. Адрес: 630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2. Тел. 8 (906) 193-87-88. E-mail: bond802888@yandex.ru.

For correspondence: Bondarenko Natalia Anatolievna. Address: 630117, Novosibirsk, Timakova st., 2. Tel. 8 (906) 193-87-88. E-mail: bond802888@yandex.ru.

by changes in the cell impedance in real-time in the presence of various doses of nitroglycerin. **Results.** It is shown that nitroglycerin reduces *in vitro* both spontaneous and Concanavalin A stimulated proliferative activity of mononuclear cells in patients with chronic heart failure. Peripheral blood mononuclear cells in patients with chronic heart failure, obtained after procedure of mobilization by granulocyte colony-stimulating factor respond to nitroglycerin dose of 50 mg/ml with the increased proliferative activity, and with the suppressed proliferative activity to nitroglycerin dose of 100 mg/ml. Mononuclear cells of healthy donors respond to 50 mg/ml of nitroglycerin with the activation of proliferative capacity, but at a dose of 100 mg/ml spontaneous proliferative activity of mononuclear cells inhibit. It is also shown that the presence of nitroglycerin in medium dose in stimulating test leads to the inhibition of mononuclear cells proliferation from healthy donors. It is shown the stimulating effect of nitroglycerin on proliferative and migration potential of endothelial progenitor cells. **Conclusion.** Multidirectional and dose-dependent effects of nitroglycerin to the various types of human cells *in vitro* were observed.

Key words: coronary heart disease, nitroglycerin, mononuclear cells, endothelial progenitor cells.

ВВЕДЕНИЕ

Нитраты, в том числе и нитроглицерин, широко используются в терапии ишемической болезни сердца (ИБС), острого инфаркта миокарда и хронической сердечной недостаточности (ХСН) [1]. Терапевтическая эффективность нитратов обусловлена их дилатационным действием на периферические вены и артерии, обусловленным высвобождением оксида азота, расслабляющего гладкомышечный слой стенки сосудов, что в конечном итоге приводит к возрастанию притока крови к ишемизированному миокарду. Кроме этого, оксид азота через уменьшение адгезии нейтрофилов к эндотелиальной выстилке сосудов, ингибирование экспрессии молекул адгезии и агрегации тромбоцитов способствует снижению риска развития атеросклеротических поражений сосудов [1]. Несмотря на улучшение гемодинамики и антиатерогенные эффекты нитроглицерина, клиническая эффективность его применения по-прежнему неоднозначна, в силу наличия влияния и на другие клетки организма [2]. Так, препараты, содержащие нитраты, способны вызывать толерантность после длительного, непрерывного применения или высокой дозы, что приводит к отмене клинического ответа, а затем развитию дисфункции эндотелия, как следствие активации генерации и продукции активных форм кислорода [3, 4]. В то же время помимо воздействия на эндотелий сосудов оксид азота влияет на функциональную активность различных клеток организма, таких как лимфоциты и моноциты периферической крови, эндотелиальные прогениторные клетки (ЭПК), фибробласты [5, 6].

В настоящее время для получения прогениторных клеток, в том числе и ЭПК, из периферической крови для клеточной терапии сердечно-сосудистых заболеваний применяют гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ), который приводит к выходу стволовых/прогениторных клеток (СПК) из костного мозга в периферическую кровь [7]. При этом эффекты действия нитроглице-

рина на функциональную активность мононуклеарных клеток (МНК) периферической крови и ЭПК, полученных в ходе мобилизации Г-КСФ, исследованы недостаточно.

В связи с этим **целью** данного исследования стало изучение эффекта влияния нитроглицерина на пролиферативную и миграционную активность МНК и ЭПК у пациентов с ХСН.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на МНК от условно здоровых доноров ($n = 10$) и пациентов с ИБС с III–IV функциональным классом сердечной недостаточности по Нью-Йоркской классификации ($n = 10$), давших письменное информированное согласие согласно протоколам, одобренным локальными этическими комитетами и утвержденным учеными советами обоих учреждений соисполнителей. Средний возраст пациентов – $57,0 \pm 7,7$ года, длительность заболевания ИБС – $7,2 \pm 5,4$ года, количество перенесенных инфарктов миокарда – $1,5 \pm 0,8$, фракция выброса левого желудочка – $<35\%$, давность перенесенного инфаркта – не менее 12 мес.

СПК костного мозга, в том числе и ЭПК, от пациентов с ХСН мобилизовали введением рекомбинантного человеческого Г-КСФ (Грасальва, Израиль, 3,0–5,0 мкг/кг; курс терапии 5 дней) для последующего интрамиокардиального введения.

МНК выделяли на градиенте плотности фикола-верографина ($\rho = 1,078$ г/л (Биолот, СПб.).

Пролиферацию клеток исследовали через 72 часа инкубации в круглодонных 96-луночных планшетах в среде RPMI-1640 с 10% FCS (фетальная телячья сыворотка; Биолот, Россия) дополненной 0,3 мг/мл L-глутамина (Биолот, СПб) при 37°C в CO_2 -инкубаторе. Уровень пролиферативной активности МНК периферической крови здоровых доноров и пациентов с ХСН определяли в МТТ-тесте в триплетах (2×105 клеток/лунку) в спонтанном и стимулированном тестах в присутствии 15 мкг/мл Конканавалина А

(Кон А, Sigma, США), 50 и 100 мкг/мл нитроглицерина (Нитро, Финляндия) по включению клетками 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолиум бромид (Sigma, США) и преобразования его в формазан митохондриальными дегидрогеназами на спектрофотометре (Stat Fax 2100, США), которые выражали в условных единицах оптической плотности (ед. опт. пл.).

Эффект Кон А и нитроглицерина на пролиферативный потенциал мононуклеаров вычисляли по формуле: % стимуляции = $(1 - \text{оптическая плотность продукта реакции в опыте} / \text{оптическая плотность продукта реакции в контроле}) \times 100\%$.

Культуру ЭПК получали из МНК, мобилизованных введением Г-КСФ, от пациентов с ХСН. Г-КСФ, мобилизованные МНК в концентрации 10^6 /мл культивировали в эндотелиальной среде (EBM-2, Lonza, Switzerland) с добавлением 10% FCS, 80 мкг/мл гентамицина сульфата (Дальхимфарм, Россия), 2 ммоль L-глутамин (ICN, США) при 37 °C во влажной атмосфере с 5% содержания CO₂.

Пролиферативную и миграционную активность ЭПК изучали по изменению клеточного импеданса на аппарате xCELLigence System (Roche, США). В условиях исследования задается общее время сканирования и интервал сканирования, далее все измерения производятся в автоматическом режиме без вмешательства экспериментатора [8].

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием программы Statistica 6.0 for Windows (StatSoft, США). Полученные данные проверяли на нормальность распределения согласно критериям Колмогорова–Смирнова, меры центральной тенденции и рассеяния описаны медианой (Me), нижним (LQ) и верхним (Hq) квартилями. Достоверность различий оценивали по критерию Манна–Уитни, различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Интенсивность спонтанной пролиферации МНК условно здоровых доноров не превышала 0,3 ед. опт. пл. Как видно из табл. 1, в ответ на Кон А стимул МНК условно здоровых доноров отвечали увеличением интенсивности пролиферации ($p < 0,05$). Наличие в питательной среде нитроглицерина в дозе 50 мкг/мл также стимулировало уровень спонтанной пролиферации МНК ($p < 0,05$), в то время как при дозе 100 мкг/мл нитроглицерин не вызывал статистически значимого увеличения пролиферативного потенциала.

Необходимо отметить, что добавление нитроглицерина к митогенному стимулу (Кон А) статистически значимо подавляло интенсивность пролиферации МНК условно здоровых доноров ($p < 0,05$).

Как видно из табл. 2, анализ пролиферации МНК у больных с ХСН до проведения процедуры мобилизации СПК в периферическую кровь выявил, что нитроглицерин как в дозе 50 мкг/мл, так и в дозе 100 мкг/мл статистически значимо подавлял уровень спонтанной пролиферации ($p < 0,05$).

Необходимо отметить, что МНК пациентов с ХСН в ответ на Кон А не отвечали приростом интенсивности пролиферации, однако добавление к МНК нитроглицерина в дозе 50 или 100 мкг/мл приводило к статистически значимому подавлению пролиферативного потенциала МНК у пациентов с ХСН ($p < 0,05$).

Следует указать на то, что проведение процедуры мобилизации СПК введением Г-КСФ у пациентов с ХСН приводило к увеличению уровня спонтанной пролиферации МНК по сравнению с исходным уровнем пролиферации МНК и по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). Кроме этого, после введения Г-КСФ у пациентов с ХСН отмечается

Таблица 1

Эффект нитроглицерина на пролиферацию МНК условно здоровых доноров

Параметры	Показатель стимуляции пролиферации (в %)
Кон А	64; $p = 0,02$
Нитроглицерин 50 мкг/мл	22; $p = 0,01$
Нитроглицерин 100 мкг/мл	2; $p = 0,72$
Нитроглицерин 50 мкг/мл + Кон А	–68; $p = 0,002$
Нитроглицерин 100 мкг/мл + Кон А	–50; $p = 0,003$

Примечание. p – достоверность различий по сравнению со спонтанной пролиферативной активностью.

Таблица 2

Показатели пролиферативной активности МНК пациентов с ХСН по данным МТТ-теста (Me; Lq-Hq)

Тип продукции	Уровень пролиферации (в ед. опт. пл.)	
	До мобилизации	После мобилизации
Спонтанная	0,29 (0,28–0,3)	0,49 (0,47–0,52)
Кон А	0,29 (0,25–0,36) $p = 0,13$	0,93 (0,9–0,11) $p = 0,01$
Нитроглицерин 50 мкг/мл	0,07 (0,06–0,08) $p = 0,01$	0,51 (0,46–0,52) $p = 0,4$
Нитроглицерин 100 мкг/мл	0,21 (0,12–0,21) $p = 0,01$	0,4 (0,33–0,48) $p = 0,02$
Нитроглицерин 50 мкг/мл + Кон А	0,03 (0,03–0,06) $p = 0,02$	0,54 (0,38–0,58) $p = 0,02$
Нитроглицерин 100 мкг/мл + Кон А	0,07 (0,03–0,08) $p = 0,01$	0,42 (0,36–0,42) $p = 0,02$

Примечание. p – достоверность различий по сравнению со спонтанной пролиферативной активностью.

также статистически значимое увеличение уровня пролиферативного ответа МНК на митогенный стимул по сравнению со спонтанным уровнем пролиферации, а также по сравнению с уровнем пролиферативного ответа МНК доноров и пациентов с ХСН до процедуры мобилизации ($p < 0,05$).

Наличие нитроглицерина в питательной среде в дозе 50 мкг/мл статистически значимо не изменяло уровень спонтанной пролиферации МНК у пациентов с ХСН после процедуры мобилизации СПК в периферическую кровь. Однако в дозе 100 мкг/мл нитроглицерин статистически значимо снижал интенсивность спонтанной пролиферации МНК, обогащенных СПК ($p < 0,05$). В то же время добавление нитроглицерина в дозе 50 или 100 мкг/мл в стимулирующем тесте приводило к статистически значимому подавлению уровней пролиферации МНК, обогащенных СПК у пациентов с ХСН, хотя даже на таком уровне интенсивность пролиферации была

выше, чем до проведения процедуры мобилизации ($p < 0,05$).

Дополнительно нами проведено исследование пролиферативной активности ЭПК пациентов с ХСН в режиме реального времени по изменению клеточного импеданса (рис. 1). Показано достижение пика пролиферативной активности ЭПК к 4-му часу эксперимента и сохранность ее на таком уровне до 24 часов наблюдения, которое сменяется в дальнейшем ее снижением. В то же время нитроглицерин (50 мкг/мл) статистически значимо замедляет процесс подавления пролиферации ЭПК по сравнению с уровнем пролиферации ЭПК без нитроглицерина ($p < 0,05$).

Также была изучена миграционная активность ЭПК пациентов с ХСН в режиме реального времени по изменению клеточного импеданса (рис. 2). Отмечено, что ЭПК пациентов с ХСН к 4-му часу эксперимента быстрее мигрируют по направле-

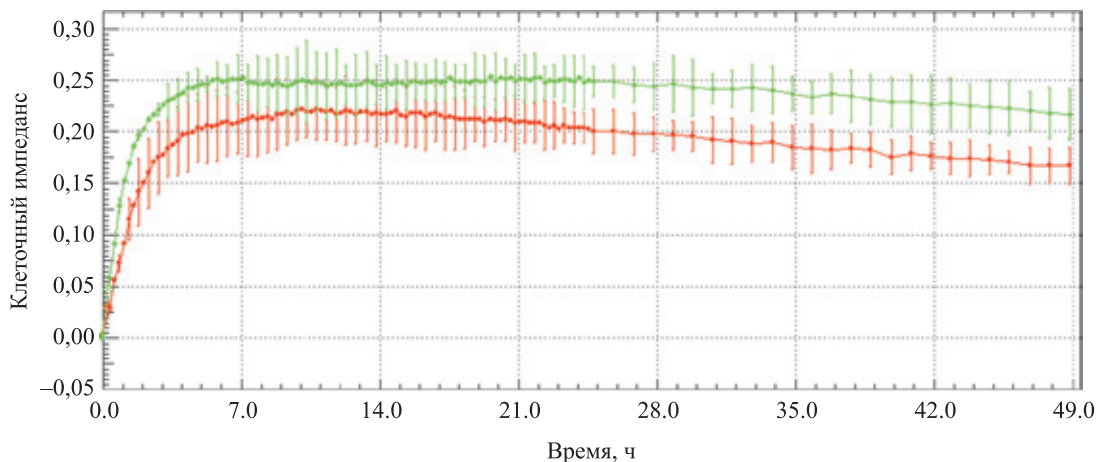


Рис. 1. Показатели пролиферативной активности культуры ЭПК мобилизованных Г-КСФ от пациентов с ХСН по данным изменения клеточного импеданса: красная линия – спонтанная пролиферация; зеленая линия – пролиферация в присутствии нитроглицерина

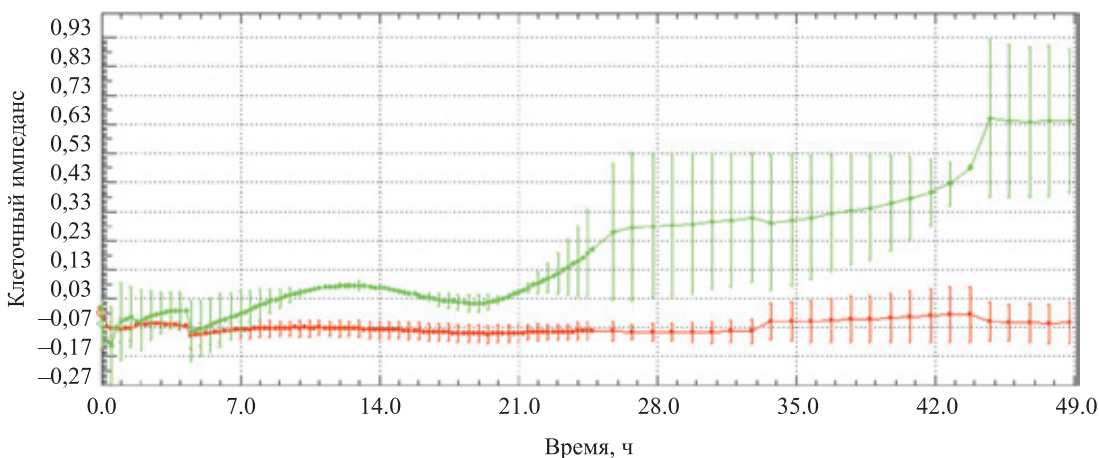


Рис. 2. Показатели миграционного потенциала ЭПК мобилизованных Г-КСФ от пациентов с ХСН по данным изменения клеточного импеданса: красная линия – спонтанная пролиферация; зеленая линия – пролиферация в присутствии нитроглицерина

нию к градиенту концентрации нитроглицерина по сравнению с контрольным уровнем миграции ЭПК. В более поздние сроки эксперимента отмечено статистически значимое увеличение миграционного потенциала ЭПК в направлении градиента концентрации нитроглицерина по сравнению с контрольными лунками ($p < 0,05$).

Оксид азота регулирует функциональное состояние органов дыхания, желудочно-кишечного тракта, мочеполовой и сердечно-сосудистой систем. Кроме этого, оксид азота проявляет цитостатическую активность против микроорганизмов и злокачественных клеток и принимает участие в апоптозе. Известно, что нитроглицерин *in vitro* способен снижать пролиферативный потенциал мононуклеаров периферической крови, в основе которого лежит инактивация железосерных ферментов, отвечающих за синтез АТФ и репликацию ДНК [9]. Показано, что нитроглицерин угнетает функциональную активность и дифференцировку МНК в ЭПК через активацию апоптоза [5]. С учетом накопленных фактов о роли оксида азота в патогенезе заболеваний сердечно-сосудистой системы, а также в силу распространенного использования нитроглицерина как донатора оксида азота в терапии ишемической болезни сердца представлялось важным изучить эффект оксида азота на функциональную активность мононуклеаров периферической крови у пациентов с ХСН [2, 9].

Полученные нами данные об ингибировании, как спонтанной, так и митоген-стимулированной пролиферации МНК условно здоровых доноров и пациентов с ХСН не противоречат имеющимся литературным данным [5].

Учитывая тот факт, что МНК пациентов с ХСН находятся под постоянным влиянием гипоксии, что само по себе ведет к изменению функциональной активности клеток, дополнительное влияние нитроглицерина в различных дозах также приводило к снижению пролиферативного потенциала, как в спонтанном, так и Кон А стимулированном тесте. Полученные результаты исследований согласуются с литературными данными, отмечающими также подавление пролиферации МНК, индуцированной Т- и В-митогенами [10]. Полагают, что в основе антипролиферативного действия оксида азота лежит нарушение процессов репликации ДНК [11].

Известно, что Г-КСФ является эффективным мобилизующим фактором, способствующим выходу СПК из костного мозга в периферическую кровь, что приводит к обогащению МНК прогениторными клетками [7]. Ранее мы показали, что пролиферативная активность МНК от пациентов с ХСН увеличивается после проведения процедуры мобилизации Г-КСФ, как в спонтанных, так и стимулированных митогенами и цитокинами услови-

ях [12]. Учитывая, что обогащенная СПК фракция МНК используется для клеточной терапии у пациентов с ХСН, изучение эффекта нитроглицерина на функциональные свойства данных клеток явилось следующим этапом данного исследования.

Показано, что нитроглицерин в дозе 100 мкг/мл статистически значимо стимулирует спонтанный пролиферативный потенциал обогащенной СПК фракции МНК от пациентов с ХСН, а в дозе 50 мкг/мл статистически значимо стимулировал пролиферацию МНК в ответ на Кон А, что, скорее всего, обусловлено высоким содержанием СПК в популяции МНК у пациентов с ХСН после завершения процедуры мобилизации Г-КСФ, что согласуется с результатами недавних исследований, в которых показано стимулирующее влияние нитроглицерина на прогениторные клетки путем активации в них синтеза оксида азота [6].

Показано, что нитраты стимулируют пролиферативную активность СПК костного мозга [6]. Нами проведено исследование влияния нитроглицерина не только на функциональную активность МНК, но и на функциональную активность ЭПК от пациентов с ХСН, полученных при культивировании *in vitro*. Известно, что такие свойства эндотелиальных клеток, как пролиферация и миграция, обеспечивают процесс ангиогенеза. Причем функциональная активность как зрелых эндотелиальных клеток, так и ЭПК зависит от цитокинов и ростовых факторов [13]. Ранее нами была показана способность МНК, мобилизованных Г-КСФ от пациентов с ХСН, дифференцироваться в ЭПК [14]. Исследование пролиферативной и миграционной активности ЭПК показало, что нитроглицерин стимулирует как пролиферацию, так и миграцию клеток – предшественников эндотелия сосудов. Полученные нами данные согласуются с результатами исследования пролиферативной активности МНК при культивировании с нитроглицерином после мобилизации, подтверждая тезис о вкладе в пролиферацию МНК прогениторных клеток, мобилизованных из костного мозга [6].

Таким образом, установлено, что нитроглицерин проявляет разнонаправленное действие, как на малодифференцированные, так и на дифференцированные клетки пациентов с ХСН и доноров. С одной стороны, нитроглицерин обладает ингибирующим действием на пролиферацию МНК пациентов с ХСН, что связано с развитием толерантности к данному препарату. При этом у здоровых доноров, не принимающих нитраты, нитроглицерин способствует пролиферации МНК.

С другой стороны, в ходе мобилизации СПК введением Г-КСФ в популяции МНК возрастает их количество, и это ведет к возрастанию пролиферативного потенциала МНК у пациентов с ХСН, что позволяет нивелировать негативный эффект нитро-

глицерина на пролиферацию. Более того, отмечается позитивный эффект нитроглицерина на пролиферативный и миграционный потенциал ЭПК, что может свидетельствовать о сохранности высокой функциональной активности клеточного трансплантата при их интрамиокардиальном введении, даже при проведении пациентам терапии нитроглицерином.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, действие нитроглицерина носит разнонаправленный характер с учетом сроков получения мононуклеаров периферической крови. А именно до проведения процедуры мобилизации Г-КСФ у пациентов с ХСН отмечается ингибирующее влияние нитроглицерина на пролиферативный потенциал МНК, а после – активирование пролиферации, как спонтанной, так и митоген-стимулированной.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Meunzel T. Does nitroglycerin therapy hit the endothelium? *Journal of the American College of Cardiology*. 2001; 38: 1102–1105.
2. Mayer B, Beretta M. The enigma of nitroglycerin bioactivation and nitrate tolerance: news, views and troubles. *Br. J. Pharmacol.* 2008; 155: 170–184.
3. Gori T, Parker JD. Nitrate tolerance: a unifying hypothesis. *Circulation*. 2002; 106: 2510–2513.
4. Munzel T, Daiber A, Gori T. Nitrate Therapy: New Aspects Concerning Molecular Action and Tolerance. *Circulation*. 2011; 123: 2132–2144.
5. DiFabio JM, Thomas GR, Zucco L et al. Nitroglycerin attenuates human endothelial progenitor cell differentiation, function, and survival. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2006; 318: 117–123.
6. Huang L, Qiu N, Zhang C et al. Nitroglycerin enhances proliferation and osteoblastic differentiation in human mesenchymal stem cells via nitric oxide pathway. *Acta Pharmacol. Sin.* 2008; 29: 580–586.
7. Aicher A, Zeiher AM, Dimmeler S. Mobilizing endothelial progenitor cells. *Hypertension*. 2005; 45: 321–325.
8. Лыков АП, Повещенко ОВ, Бондаренко НА, Повещенко АФ, Ким ИИ, Миллер ТВ и др. Оценка эффекта проангиогенных факторов на пролиферативную и миграционную активность клеток эндотелиальной линии EA.Hy926. *Бюллетень СО РАМН*. 2013; 4: 23–29.
9. Lykov AP, Poveshhenko OV, Bondarenko NA, Poveshhenko AF, Kim II, Miller TV et al. Estimation of the effect of proangiogenic factors on the proliferative and migration activities of the endothelial cells of line EA.Hy926. *Bulleten' SO RAMN*. 2013; 4: 23–29.
10. Kaesemeyer W, Ogonowski A, Jin L et al. Endothelial nitric oxide synthase is a site of superoxide synthesis in endothelial cells treated with glyceryl trinitrate. *Br. J. Pharmacol.* 2000; 131: 1019–1023.
11. Roland CR, Mangino MJ, Flye MW. Lanthanide «blockade» of antigen-presenting cells suppresses lymphocyte proliferation by inducing nitric oxide synthesis. *J. Surg. Res.* 1993; 54: 401–410.
12. Bamberger T, Masson I, Mathieu J et al. Nitric oxide mediates the depression of lymphoproliferative responses following burn injury in rats. *Biomed. Pharmacother.* 1992; 46: 495–500.
13. Ким ИИ, Повещенко ОВ, Коненков ВИ, Покушалов ЕА, Романов АБ, Бондаренко НА и др. Эффективность мобилизации CD34+ прогениторных клеток препаратом G-CSF в зависимости от ишемического анамнеза и возраста больных с хронической сердечной недостаточностью. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2012; 1: 75–78.
14. Kim II, Poveshhenko OV, Konenkov VI, Pokushalov EA, Romanov AB, Bondarenko NA et al. Efficacy of the mobilization of CD34 + progenitor cells by G-CSF administrations depends at the ischemic anamnesis and age of patients with chronic heart failure. *Patologija krovoobrashhenija i kardiohirurgija*. 2012; 1: 75–78.
15. Старикова ЭА, Амчиславский ЕИ, Соколов ДИ, Фрейдлин ИС, Полосухина ЕР, Барышников АЮ. Изменение поверхностного фенотипа эндотелиальных клеток под влиянием провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. *Медицинская иммунология*. 2003; 1–2: 39–48.
16. Starikova JeA, Amchislavskij EI, Sokolov DI, Frejdlin IS, Polosuhina ER, Baryshnikov AJu. Deviations of endothelial cells surface phenotype under the influence of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines. *Medicinskaja immunologija*. 2003; 1–2: 39–48.
17. Бондаренко НА. Морфофункциональная характеристика эндотелиальных прогениторных клеток при хронической сердечной недостаточности: дис. ... канд. биол. наук. Н., 2013: 17.
18. Bondarenko NA. Morphofunctional characterization of endothelial progenitor cells in patients with chronic heart failure: dis. ... kand. biol. nauk. N., 2013: 17.

Статья поступила в редакцию 10.04.2014 г.

DOI: 10.15825/1995-1191-2014-4-78-88

РЕЗУЛЬТАТЫ ОПТИМИЗАЦИИ ПРОЦЕССОВ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ И ВИСОЧНО-НИЖНЕЧЕЛЮСТНОГО СУСТАВА МАТРИКСАМИ ИЗ НИКЕЛИДА ТИТАНА (Экспериментальное исследование)

Дюрягин Н.М.¹, Степанов С.С.¹, Семченко В.В.², Гюнтер В.Э.³, Дюрягина Е.Н.¹

¹ Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Омская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Омск, Российская Федерация

² Институт ветеринарной медицины и биотехнологий Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина», Омск, Российская Федерация

³ Научно-исследовательский институт медицинских материалов и имплантатов с памятью формы Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Томск, Российская Федерация

Цель. В эксперименте на животных изучались процессы репаративной регенерации и остеогистогенеза фрагментов нижней челюсти в пострезекционном периоде с применением различных вариантов их оптимизации искусственными матриксами из материалов никелида титана. **Материалы и методы.** На двух группах кроликов производили однотипные резекции фрагментов правой ветви нижней челюсти с экзартикуляцией суставной головки. В I группе (n = 10) по отношению к очагам регенерации использовали вариант внеочагового размещения матричных конструкций (сагиттальная дислокация), а во II группе (n = 10) использовали вариант внутриочагового размещения матричных конструкций костной ткани и надкостницы из никелида титана. **Результаты.** В I группе получены реконструктивные результаты в виде органоподобных остеогенных регенератов, полностью заместивших дефекты нижней челюсти через 12 месяцев. Во II группе получены реконструктивные результаты в виде тканеинженерных композитов, полностью заместивших дефекты нижней челюсти через 3 месяца. Оценка производилась с помощью биологических, биометрических, рентгенологических, гистологических, иммуногистохимических, морфометрических, статистических методов исследования. **Заключение.** Процессы репаративной регенерации и остеогистогенеза при внеочаговом распределении искусственных матричных структур способны самостоятельно реконструировать фрагменты нижней челюсти за счет естественной регенерации. Процессы репаративной регенерации и остеогистогенеза при внутриочаговом распределении искусственных матричных структур способны самостоятельно реконструировать фрагменты нижней челюсти за счет формирования тканеинженерных композитов костной ткани и надкостницы. Четырехкратное преимущество динамики реконструкции нижней челюсти тканеинженерными композитами при равной функциональной эффективности с результатами естественной регенерации свидетельствует о их перспективности для разработки к применению в клинической практике.

Ключевые слова: оптимизация репаративной регенерации и остеогистогенеза, матричные конструкции из никелида титана, тканеинженерные композиты.

Для корреспонденции: Дюрягин Николай Михайлович. Адрес: 644043, Омск, ул. Ленина, 12. Тел. 8 (913) 973-70-71. E-mail: dyuryagin1953@mail.ru.

For correspondence: Dyuryagin Nikolay Mihaylovich. Address: 644043, Omsk, Lenin St., 12. Tel. 8 (913) 973-70-71. E-mail: dyuryagin1953@mail.ru.

OPTIMIZATION RESULTS OF TEMPOROMANDIBULAR REPARATIVE REGENERATION BY NITINOL MATRICES (Experimental study)

Dyuryagin N.M.¹, Stepanov S.S.¹, Semchenko V.V.², Gunter V.E.³, Dyuryagina E.N.¹

¹ Federal Budgetary Educational Facility of Higher Occupational Education «Omsk State Medical Academy» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Omsk, Russian Federation

² Veterinary Medicine and Biotechnology Institute of Federal Budgetary Educational Facility of Higher Occupational Education «P.A. Stolypin Omsk State Agrarian University», Omsk, Russian Federation

³ Research Institute of Medical Shape Memory Materials and Implants of Federal Budgetary Educational Facility of Higher Occupational Education «Siberian State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Tomsk, Russian Federation

Aim. Through the experiments on animals, mandibular fragments reparative regeneration and osteohistogenesis in the post-resection period using different ways of their optimization by artificial nitinol matrices were investigated. **Materials and methods.** Rabbits (two groups) were subjected to similar resections of mandibular right branch fragments with articular head exarticulation. In the first group (n = 10) extrafocal matrix structures placement option towards regeneration foci (sagittal dislocation) was used, in the second one (n = 10) intrafocal matrix bone and periosteum nitinol constructions placement option was used. **Results.** In the first group, the following reconstructive results were received: organ-like osteogenic regenerates fully displaced mandibular defects in 12 months. In the second group reconstructive results were the following: tissue-engineered composites fully displaced mandibular defects in 3 months. Biological, biometric, radiological, histological, immunohistochemical, morphometric, statistical methods were used to evaluate the results. **Conclusion.** Reparative regeneration and osteohistogenesis at extrafocal placement of artificial matrix structures are able to reconstruct independently mandibular fragments due to natural regeneration. Reparative regeneration and osteohistogenesis at intrafocal placement of artificial matrix structures are able to reconstruct independently mandibular fragments due to bone and periosteum tissue-engineered composites forming. Four-fold advantage of mandibular reconstruction dynamics by tissue-engineered composites being equal in functional efficiency with natural regeneration results testifies to their availability for usage in clinical practice.

Key words: reparative regeneration and osteohistogenesis optimization, nitinol matrix constructions, tissue-engineering composites.

ВВЕДЕНИЕ

В челюстно-лицевой хирургии актуальная проблема замещения пострезекционных дефектов нижней челюсти и височно-нижнечелюстного сустава требует поиска новых оптимальных решений.

Известны традиционные способы реконструкции. Методы остеопластики основаны на принципах регенерации аутогенных костных трансплантатов, перемещенных в область дефекта из различных участков скелета. Они являются наиболее популярными и эффективными, включают применение некротоснабжаемых, васкуляризированных и реваскуляризированных трансплантатов. Оказывают стабильный долговременный реконструктивный эффект, однако перспектива роста их результативности практически достигла максимума. Имеются технологические сложности, ограничение показаний, которые определяют степень риска неудачного исхода лечения [2, 6, 8]. Способы аллотрансплантации костной ткани, комбинированной аутоаллопластики обладают определенной реконструктивной эффективностью, но не исключают проблемы

тканевой несовместимости или рассасывания аллогенных трансплантатов, повторного возникновения дефектов и соответствующих осложнений [1].

Методы эндопротезирования основаны на принципах механического замещения костных дефектов технологическими конструкциями. Имеют большой ряд модификаций, являются распространенными, но способны оказывать только временный заместительный эффект. Известны исследования, направленные на поиск путей оптимизации биомеханического взаимодействия эндопротезов с окружающими тканями: нанесение многофункциональных биоактивных наноструктурированных покрытий, применение твердого проницаемого пористого никелида титана, керамических, полиэтиленовых материалов, другие методы [1, 3, 11].

Известны инновационные тканеинженерные реконструктивные технологии.

Они основываются на принципах регенерации тканевых и клеточных структур в различных условиях оптимизации с выходом на результат формирования новых реконструктивных матери-

алов – тканеинженерных композитов. Одно из направлений – создание эквивалентов костной ткани с использованием искусственных матриц и экзогенных клеточных структур [4, 5, 7]. Другое – создание тканеинженерных композитов с использованием искусственных матриц и аутогенных клеточных структур, которые исключают проблемы тканевой несовместимости или резорбции донорских структур, случаи повторного возникновения дефектов и соответствующих осложнений [10, 11]. При этом имеется необходимость в углубленном изучении и раскрытии особенностей процессов репаративного остеогенеза нижней челюсти в пострезекционном периоде, разработке новых реконструктивных схем, новых технологий создания и построения искусственных матричных структур, чему и посвящено данное исследование.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

В эксперименте на животных изучить процессы репаративной регенерации и остеогенеза фрагментов нижней челюсти в пострезекционном периоде с применением различных вариантов их оптимизации искусственными матриксами из материалов никелида титана.

ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. В эксперименте на кроликах создать однотипные дефекты нижней челюсти и использовать различные варианты оптимизации процессов их регенерации с применением матричных конструкций костной ткани и надкостницы из никелида титана.
2. Изучить в динамике полученные качественные и реконструктивные показатели моделей нижней челюсти с помощью биологических, биометрических, рентгенологических, гистологических,

морфометрических, иммуногистохимических и статистических методов исследования.

3. Оценить результаты эксперимента, определить оптимальные реконструктивные варианты и предложить для разработки к применению в клинической практике.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводились на двух группах кроликов ($n = 10$ и $n = 10$) в возрасте 6 месяцев, массой 4,8–5,0 кг. Животные содержались в условиях вивария, регламентируемых приказом МЗ СССР № 1179 от 10.10.1983 г. Опыты проводили в условиях, соответствующих приказам МЗ СССР № 755 от 12.08.77 и № 701 от 27.07.78 об обеспечении принципов гуманного обращения с животными [9].

I. Модели пострезекционных дефектов правой ветви нижней челюсти с суставной головкой формировались путем хирургической резекции (рис. 1) [9, 10].

В результате этого появлялись следующие биомеханические дефекты: 1 – подвижного костного синовиального сочленения; 2 – надкостницы; 3 – костного фрагмента; 4 – неподвижного костного сочленения (рис. 1, б).

II. Модели межклеточных матриц создавались в соответствии с принципами биомеханического разделения структур опорно-двигательного аппарата на пассивные и активные [11, 12] (рис. 2).

III. Схемы размещения матричных конструкций на фрагментах челюстей до операции разрабатывали на скелетных прототипах (рис. 3, 4). Оперативная техника и динамика послеоперационного периода подробно отражены в работах [9, 12].

IV. Группа экспериментальных животных № 1 ($n = 10$).

Размещение матричных конструкций выполняли с формированием деформации конфигурации

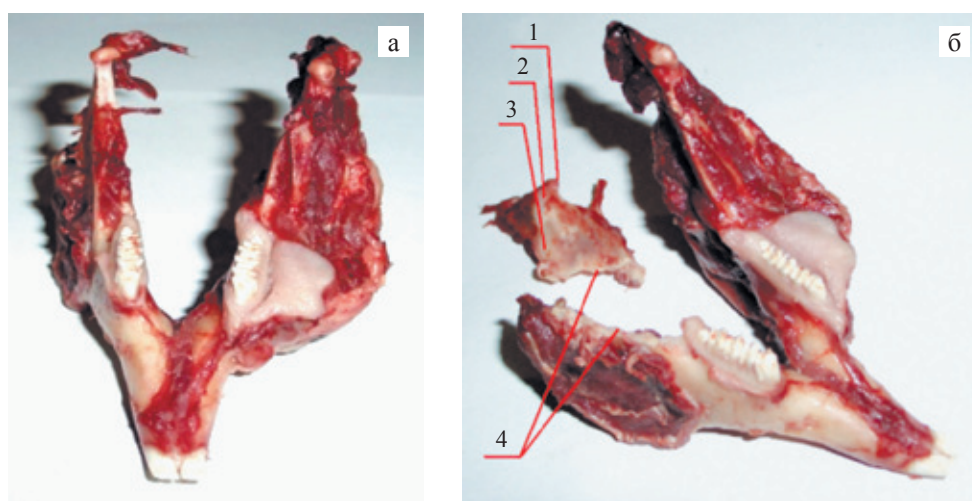


Рис. 1. Экспериментальная модель дефекта нижней челюсти кролика: а – макропрепарат с фрагментами мышц до резекции; б – дефект и фрагмент правой ветви нижней челюсти после резекции

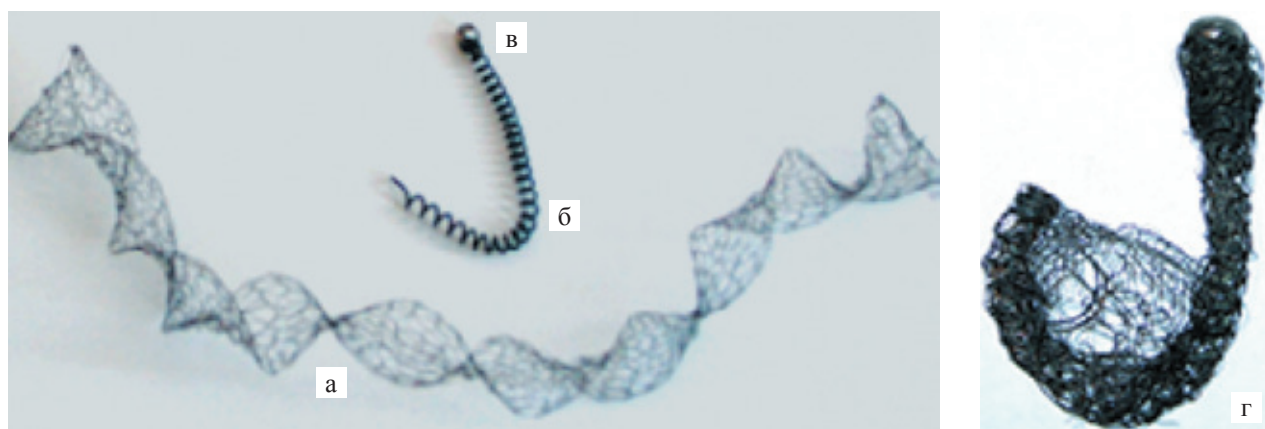


Рис. 2. Компоненты композитных матричных структур: а – сетчатое полотно: материал матрикса надкостницы; б – проволоочная спираль: материал матрикса кортикальной костной структуры; в – твердый пронцаемый пористый никелид титана: материал матрикса губчатой костной структуры. При их механическом объединении формировались трехмерные матричные композитные конструкции (г)

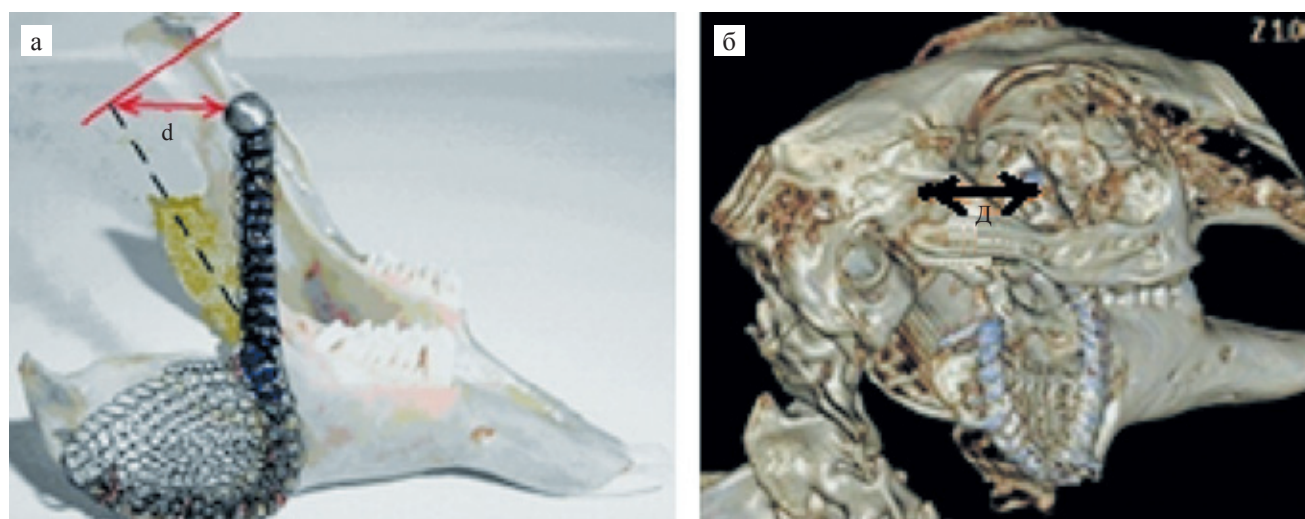


Рис. 3. Размещение матричных конструкций в позиции передней сагитальной дислокации (I группа): а – схема установки матричной структуры на прототипе; б – 3D-изображение головы кролика I группы через 1 год

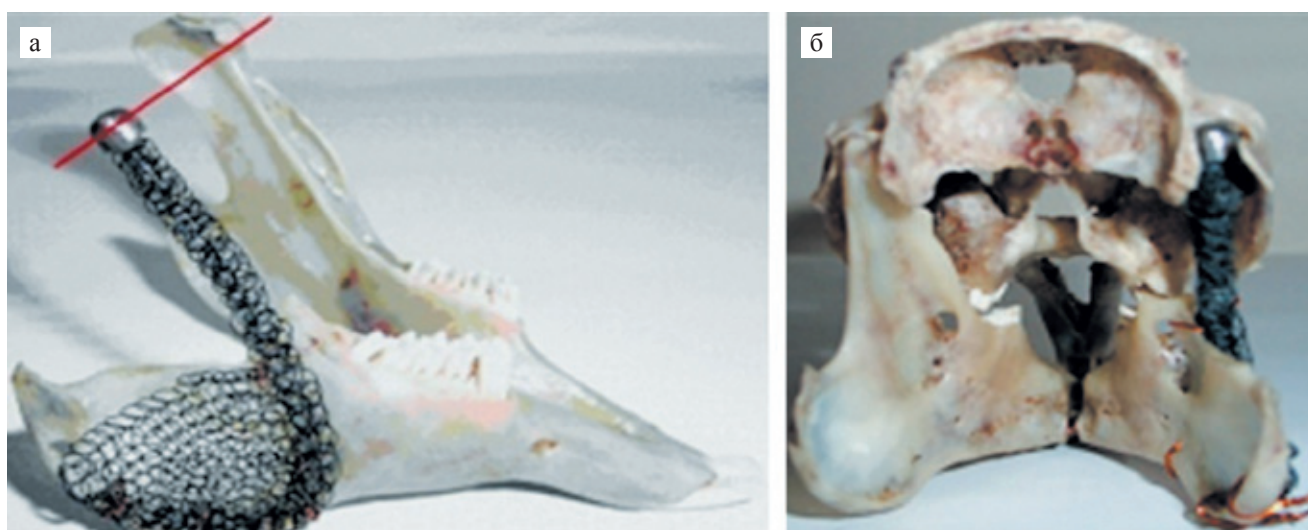


Рис. 4. Размещение матричных конструкций, II группа: а – схема установки матричной структуры на прототипе; б – матрикс головки челюсти в суставной ямке

челюсти в виде передней сагиттальной дислокации правой ветви. Они устанавливались вне зоны репаративной регенерации, а матрикс головки мышечка располагали вне суставной ямки (рис. 3) [12].

V. Группа 2 ($n = 10$), размещение матричных конструкций выполнялось с точным соблюдением биометрической конфигурации челюстей в областях дефектов резецированных фрагментов. При этом матрикс суставной головки челюсти располагался в суставной ямке (рис. 4).

VI. Биологические методы исследования. Прижизненная оценка объективного состояния и динамики изменений прикуса и состояния зубов, конфигурации челюстей и скелета головы проводилась в течение первых 6 месяцев наблюдений еженедельно, а в дальнейшем периоде – до 5 лет – ежемесячно.

Биометрические методы исследования проводились на макропрепаратах животных по выходе их из эксперимента через 62–65 мес. биологической жизни.

VII. Рентгенологические методы исследования. В течение последующих 1, 2, 3, 4 и 5 лет наблюдений животным обеих групп однократно проводилась мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ). Рентгенологические исследования выполняли на установке Philips Brilliance CT 6-Slice с построением 3D-изображений и использованием программы eFilmWorkstation 2.1 для верификации рентгенологической плотности участков костной ткани в единицах Хаунсфилда (HU) [13].

По данным МСКТ определяли:

- 1) топометрические показатели моделей нижней челюсти в обеих группах;
- 2) в группе 1 – показатели и динамику изменения плотности остеогенных регенератов;
- 3) в группе 1 – показатели и динамику изменения плотности тканевых регенератов в структурах дислоцированных матриксов;
- 4) в группе 2 – показатели и динамику изменения плотности остеогенных регенератов, заполнивших матричные структуры;
- 5) показатели плотности и динамику их изменений костных тканей интактных фрагментов челюстей в обеих группах;
- 6) показатели состояния зубов и прикуса в обеих группах.

Показатели плотности костных структур получали по 4 из одного точечного тканевого региона в каждой из 4 плоскостей: MPR0, MPR1, MPR2, MPR3, что для каждого исследования составляло 16 значений [10, 18].

VIII. Гистологические методы исследования. Материал для гистологического исследования у животных I группы забирали после выхода из эксперимента (через 62–65 месяцев).

Материал для гистологического исследования у животных II группы получали прижизненно в

течение первого года наблюдений с помощью биопсии фрагментов ($2 \times 2 \times 2$ мм) через 30, 130, 250 и 365 суток после установки матричных структур и по выходу из эксперимента [14].

Материал фиксировали в 10% нейтральном растворе формалина на фосфатном буфере фирмы ООО «Биовитрум» (Санкт-Петербург), проводили декальцинацию. Затем извлекали фрагменты нитей никелида титана (I группа), а блоки заливали в парафин [15]. На ротационном микротоме LaboCut 4055 (фирма Slee, Германия) готовили срезы толщиной 5 мкм. Часть срезов окрашивали гематоксилином-эозином и по Ван-Гизону, заключали в канадский бальзам [15].

IX. Иммуногистохимические методы исследования. На другой части этих же препаратов с помощью меченых моноклональных антител выявляли следующие белки: 1) CD-68 (макрофаги); 2) CD-34 (эндотелиальные клетки сосудов); 3) Col-4 (базальная мембрана эпителия) и 4) Ki-67 (маркер ядер активно пролиферирующих клеток). Постановку иммуногистохимического окрашивания осуществляли согласно рекомендациям фирмы-производителя. Визуализацию результатов проводили с использованием системы детекции Ultra Vision ONE DetectionSystem HRP Polymer. Инкубировали с хромогеном – DAV Plus Substrate System. Срезы докрашивали гематоксилином Майера и заключали в БиоМаунт-среду. Для оценки качества реакции использовали стекла с позитивным контролем для каждого из антигенов (фирма Labvision, США). Характер иммуногистохимических реакций оценивали визуально в баллах с учетом интенсивности окраски и процента окрашенных клеток.

Микрофотосъемку полученных препаратов проводили на микроскопе AxioScope 40 (CarlZeiss) и AxioStar (CarlZeiss) со встроенным TV-адаптером и цифровой видеокамерой Carl Zeiss Imager.

X. Морфометрический анализ регенератов выполняли с использованием компьютерной программы ImageJ 1.41 [16].

XI. Проверку статистических гипотез при анализе количественных данных осуществляли с помощью компьютерной программы Statistica 8.0. Использовали однофакторный (ANOVA) ранговый дисперсионный анализ Фридмана (для зависимых выборок) и Краскела–Уоллиса (для независимых выборок), а также парный сравнительный анализ для зависимых и независимых выборок (критерии Вилкоксона и Манна–Уитни). Материал представлен как медиана (верхний и нижний квартили), нулевая гипотеза отвергалась при $p < 0,05$ [17].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данные биологических методов исследования: в течение первых 6 мес. наблюдений за животными I группы резких изменений общего состояния жи-

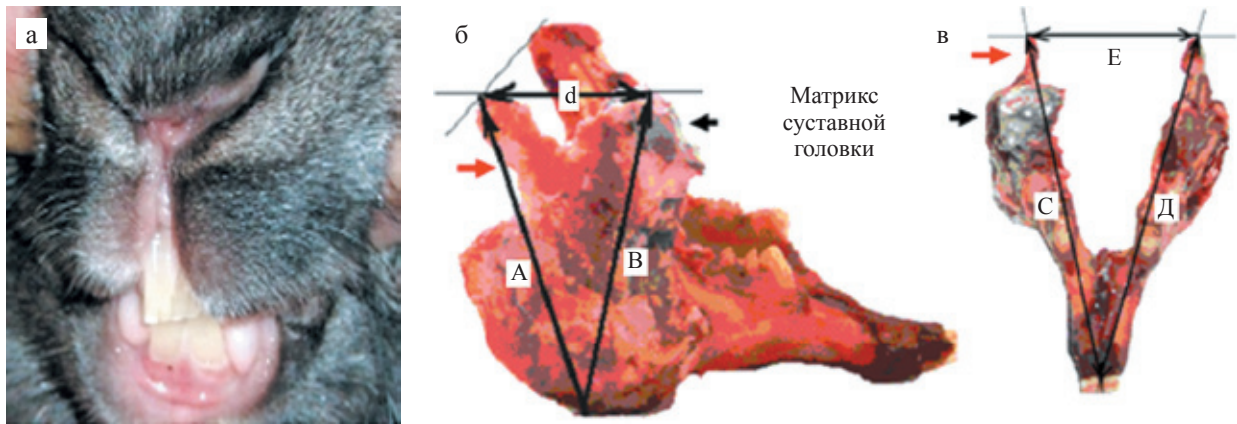


Рис. 5. Результаты реконструкции нижней челюсти у животных I группы: а – искривление линии прикуса резцов; б, в – аутоканевые регенераты костной ткани и надкостницы в виде новых ветвей с суставной головкой

вотных не было. Отмечалось искривление линии прикуса резцов от 1,5 до 3,5 мм, при этом общая функция зубочелюстной системы была удовлетворительной (рис. 5, а).

Биометрические данные. После биологической смерти животных создавали макропрепараты нижней челюсти (рис. 5, б). В результате их изучения получали данные о том, что дислоцированные композитные матричные структуры из никелида титана не препятствовали процессам регенерации, а оптимизировали их условия за счет стабилизации положения высоты ветвей челюсти и частичного обеспечения артикуляционных движений. Поэтому до окончательного созревания и формирования регенератов костной ткани определялись временные изменения прикуса (первые 6 месяцев, рис. 1, а), а через 12 месяцев они приходили к норме и оставались стабильными до конца эксперимента.

Структуры дислоцированных матриксов были заполнены преимущественно мягкими тканями и не объединялись с мышцами (рис. 5, б, в).

У животных II группы, как в течение первых 6 месяцев наблюдений, так и в последующий период изменений общего состояния не отмечалось. Функция зубочелюстной системы была стабильно удовлетворительной уже через 3 месяца после операции, дислокации челюстей, изменений прикуса не отмечалось (рис. 6).

После биометрического изучения макропрепаратов получены данные о том, что матричные структуры не препятствовали процессам регенерации, несмотря на то что располагались непосредственно в их областях [19]. Оптимизация осуществлялась за счет сохранения подлинной конфигурации челюстей и обеспечения достаточного объема артикуляционных движений. Костные дефекты были замещены полноценными остеогенными регенератами, во внутренней части которых располагались конструкции из никелида титана. При этом определялись восстановленные височные, латеральные крыловидные, жевательные мышцы, которые были объединены с регенерировавшими костными фрагментами в типичных



Рис. 6. Результаты реконструкции нижней челюсти у животных II группы

местах, что свидетельствовало о реконструкции периоста [18].

Рентгенологические данные. У животных I группы по данным прижизненных МСКТ-исследований в областях истинных дефектов челюстей через 1 год после операции на MPR (рис. 7, а) и 3D-изображениях (рис. 7, б) четко определялись структуры регенерировавших костных композитов, точно повторяющих контуры резецированных фрагментов.

Они имели показатели рентгенологической плотности зрелой костной ткани, которые в дальнейшем

периоде наблюдений статистически значимо не изменялись (табл. 1). Показатели плотности тканей, регенерировавших и заполнивших дислоцированные матричные структуры, имели пониженные значения и в динамике убывали, вероятно, за счет их расположения вне зоны активной остеогенной регенерации.

У животных II группы через 1 год после операции в областях формирования остеогенных регенератов на MPR (рис. 8, а) и 3D-изображениях (рис. 8, б) четко определялись признаки их совме-

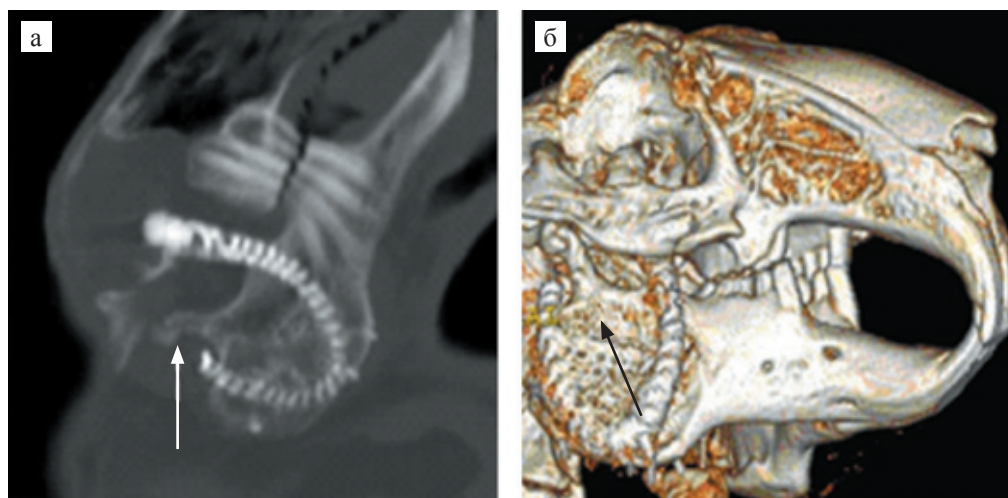


Рис. 7. Регенерировавшие костные структуры (указаны стрелками)

Таблица 1

Показатели плотности тканей самостоятельных остеогенных регенератов, регенератов в составе аутоклеточных композитов и интактной кости в единицах Хаунсфилда (НУ), Ме (Ql; Qh)

Период тестирования	Зоны измерений			ANOVA Краскела–Уоллиса
	Интактная ветвь (контроль)	Самостоятельный остеогенный регенерат	Регенерат в составе аутоклеточного композита	
1 год	823,0 (584,5; 1111,5)	510,0 (365,0; 789,5) p = 0,001*	418,5 (273,0; 530,5) p = 0,0000* p = 0,051^	Критерий Н (N = 96, df = 2) = 28,0, p = 0,0000#
2 года	866,5 (529,5; 1204,0)	610,0 (379,0; 943,5) p = 0,047*	409,5 (254,0; 627,0) p = 0,0000* p = 0,013^	Критерий Н (N = 96, df = 2) = 18,2, p = 0,0001#
3 года	900,0 (526,5; 1004,0)	792,5 (532,0; 1064,5) p = 0,89*	500,5 (400,5; 676,5) p = 0,0003* p = 0,0003^	Критерий Н (N = 96, df = 2) = 17,6, p = 0,0001#
4 года	786,0 (529,5; 1007,0)	651,0 (427,5; 1041,0) p = 0,036*	487,0 (366,5; 585,5) p = 0,64* p = 0,018^	Критерий Н (N = 96, df = 2) = 6,8, p = 0,033#
5 лет	975,0 (472,5; 1168,0)	696,0 (397,0; 762,5) p = 0,011*	328,0 (253,0; 726,5) p = 0,0000* p = 0,026^	Критерий Н (N = 96, df = 2) = 19,2, p = 0,0001#
ANOVA Фридмана	Критерий χ^2 (n = 32, df = 4) = 4,03; p = 0,40	Критерий χ^2 (n = 32, df = 4) = 9,4; p = 0,052	Критерий χ^2 (n = 32, df = 4) = 3,37; p = 0,50	–

Примечание. * – сравнение с контролем (критерий Манна–Уитни для независимых выборок, различия статистически значимы при $p < 0,05$); ^ – сравнение с самостоятельным остеогенным регенератом (критерий Манна–Уитни для независимых выборок, различия статистически значимы при $p < 0,05$); # – статистически значимые различия между зонами измерения плотности ткани (ANOVA Краскела–Уоллиса, $p < 0,05$); Ме – медиана, Ql – нижний квартиль, Qh – верхний квартиль. Статистически значимых изменений показателя плотности ткани в динамике наблюдения (1 год – 5 лет) в каждой конкретной зоне не выявлено (ANOVA Фридмана, $\chi^2 < 9,4$; $p > 0,052$).

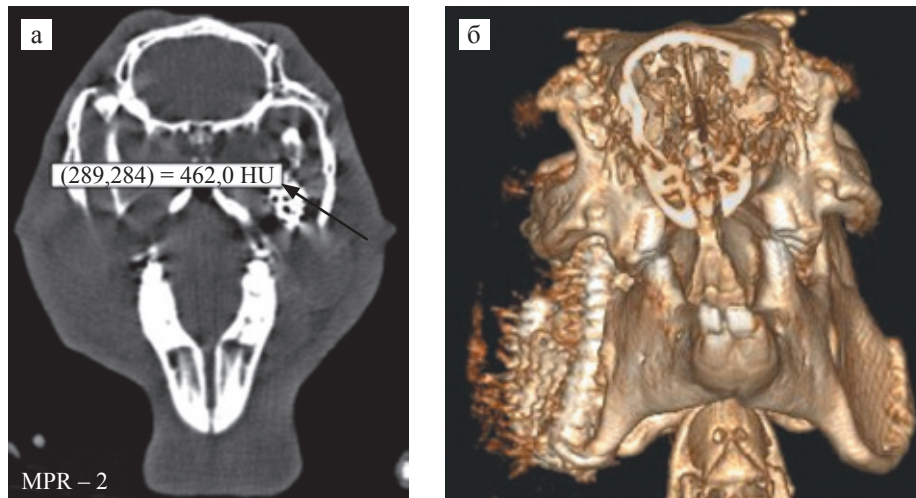


Рис. 8. Совмещение остеогенного аутоканевого композита с матричными структурами через 1 год после операции. Точечный показатель плотности костной ткани (а – 462,0 HU)

щения с искусственными матричными структурами с формированием аутоканеинженерных композитов (рис. 8, а, стрелка).

Показатели плотности регенерировавших костных структур после 1 года стабилизировались и в дальнейшем периоде наблюдений статистически значимо не изменялись (табл. 1).

Показатели динамики изменений плотности костной ткани интактных фрагментов челюстей оставались стабильными.

Рентгенологические показатели функциональной состоятельности зубов и прикуса, кроме временных изменений в I группе (6 мес.) оставались стабильными.

Данные гистологического исследования. Во II группе установлено, что через 30–32 суток после операции в областях регенерации костных композитов компоненты матричных структур были окружены рыхлой волокнистой соединительной

тканью (рис. 9) и большим количеством вновь образованных микрососудов (маркер CD-34). При этом отмечался высокий уровень пролиферативной активности этих клеток (маркер Ki-67) провизорного субстрата (рис. 10).

Моноцитарно-гистиоцитарный дифферон был представлен небольшим количеством макрофагов. В условиях раневого гистогенеза вокруг сетчатых элементов матрикса формировались ретикуло-фиброзная костная ткань и гиалиновая хрящевая ткань – провизорный субстрат регенерирующей кости (рис. 11).

По данным морфометрического анализа, через 30–32 суток после операции превалировали клетки фибробластического дифферона (табл. 2).

В последующем динамика морфометрических изменений сводилась к прогрессивному снижению содержания фибробластов и хондробластов при увеличении содержания остеобластов и количес-

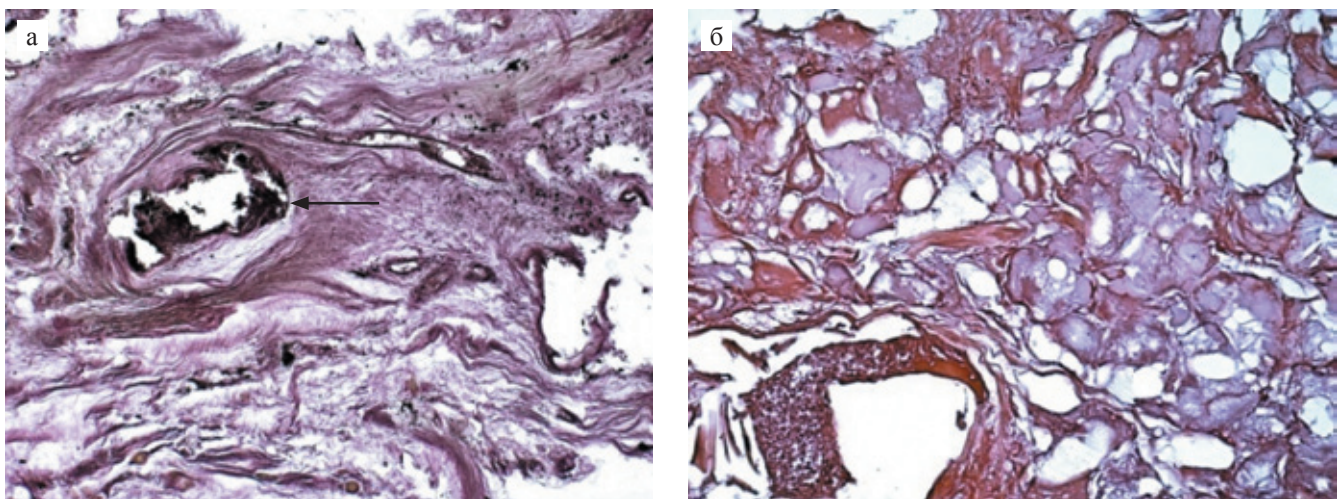


Рис. 9. Волокнистая соединительная ткань (а) и фрагменты гиалиновой хрящевой ткани (б) провизорного субстрата вокруг сетчатых элементов эндопротеза (стрелка) через 32 суток после его имплантации. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 100$

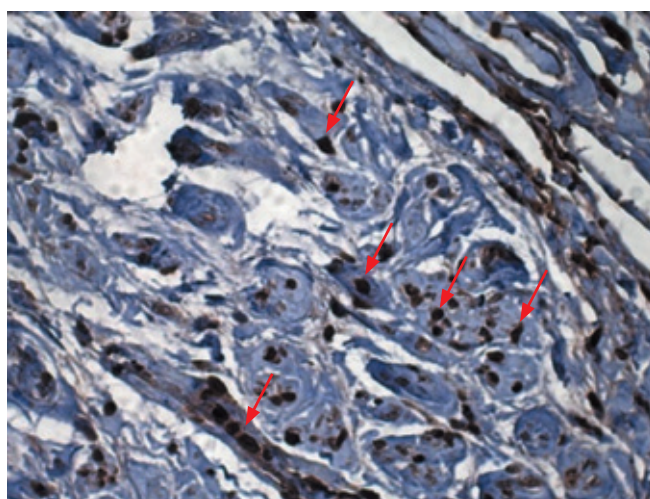


Рис. 10. Иммуногистохимическая характеристика провизорного субстрата костной ткани в зоне композитного эндопротеза, 30 сут: большое количество CD-34-позитивных клеток; высокий уровень экспрессии белка пролиферации Ki-67 в ядрах клеток. Иммуногистохимическая окраска. Докраска гематоксилином Майера. $\times 400$

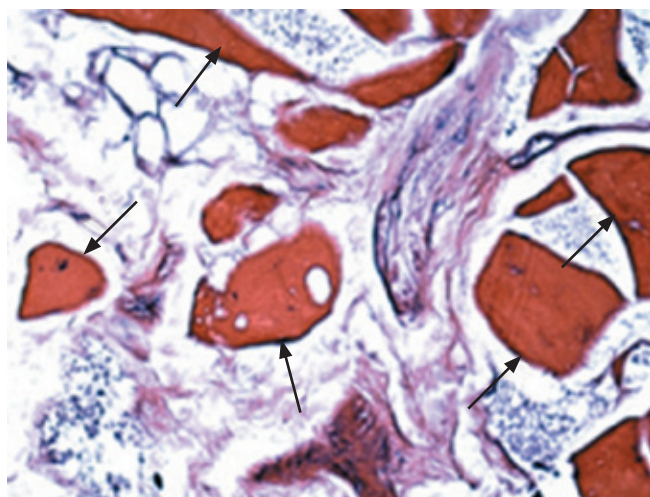


Рис. 11. Очаги остеогенеза (стрелки), окруженные волокнистой соединительной тканью провизорного субстрата, 130 суток. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 400$

тва очагов остеогенеза. У животных второй группы полная реорганизация провизорного субстрата в дефинитивную костную ткань и ее интеграция с искусственным матриксом завершалась через 275–365 суток [14, 16].

Морфометрические и гистологические показатели динамики формирования костных компонентов аутотканеинженерных композитов свидетельствовали об оптимальном качестве репаративного остеогенеза.

ОБСУЖДЕНИЕ

Композитные модели искусственных матриксов из материалов никелида титана объединяют костные и периостальные структуры в соответствии с принципами биомеханического разделения опорно-двигательного аппарата на пассивные и активные части.

В I группе животных в условиях внеочаговой оптимизации искусственными матриксами процессов репаративной регенерации получены результаты самореконструкции резецированных фрагментов и устранены биомеханические дефекты нижней челюсти за 12 месяцев.

Во II группе животных в условиях внутриочаговой оптимизации искусственными матриксами процессов репаративной регенерации получены результаты тканеинженерной реконструкции резецированных фрагментов и устранены биомеханические дефекты нижней челюсти за 3 месяца.

Показатели рентгенологической плотности костных структур естественных тканевых композитов, регенерировавших в течение первого года в I группе, аналогичны показателям плотности естественных тканевых композитов костных структур, регенерировавших в составе тканеинженерных композитов во II группе, за тот же период, и аналогичны плотности интактных костных фрагментов.

Гистологическая характеристика качества и динамики процессов репаративного остеогенеза,

Таблица 2

Численная плотность клеток (на 1 мм² плоскости среза) основных дифферонов провизорной костной ткани в зоне аутотканеинженерных композитов биологических моделей нижней челюсти животных группы I в различные периоды посттравматического репаративного остеогенеза, Ме (Q_L ; Q_H)

Показатели	Время после травмы, сут				ANOVA Фридмана (df = 3)
	30–32	130–140	213–275	365	
Фибробласты	9,8 (7,5; 10,2)	6,3 (4,2; 7,0)**	4,1 (3,4; 4,8)^^	2,8 (1,7; 3,2)****	$\chi^2 = 15,5$; p = 0,001#
Хондробласты	2,7 (2,3; 3,1)	2,2 (1,7; 2,3)*	1,4(1,1; 1,6)***	1,1 (0,8; 1,2)^^	$\chi^2 = 9,9$; p = 0,01#
Остеобласты	1,8 (1,5; 1,9)	4,7 (3,9; 5,1)***	4,9 (4,5; 6,6)^^	2,5 (2,2; 4,1)****	$\chi^2 = 12,3$; p = 0,001#

Примечание. * – различия статистически значимы в сравнении с предыдущим сроком при p < 0,05; ** – при p < 0,01 и *** – при p < 0,001; ^^ – различия статистически значимы в сравнении с 30–32 сут при p < 0,01 и ^^ – при p < 0,001 (критерий Вилкоксона для зависимых выборок); # – статистически значимые изменения показателя в течение 365 суток наблюдения (ANOVA Фридмана для зависимых выборок); Ме – медиана; Q_L – нижний и Q_H – верхний квартили

наблюдаемого во II группе животных, в условиях прямой внутриочаговой оптимизации искусственными матриксами процессов репаративной регенерации, представлена стабильными оптимальными показателями.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Процессы репаративной регенерации и остеогистогенеза при внеочаговом распределении искусственных матричных структур способны самостоятельно реконструировать фрагменты нижней челюсти за счет естественной регенерации.

Процессы репаративной регенерации и остеогистогенеза при внутриочаговом распределении искусственных матричных структур способны самостоятельно реконструировать фрагменты нижней челюсти за счет формирования тканеинженерных композитов костной ткани и надкостницы.

Четырехкратное преимущество динамики реконструкции нижней челюсти тканеинженерными композитами при равной функциональной эффективности с результатами естественной регенерации свидетельствует о их перспективности для разработки к применению в клинической практике.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- Брусова ЛА. Эндопротезирование лица. Хирургическая стоматология и челюстно-лицевая хирургия: Национальное руководство. Под ред. Кулакова АА, Робустовой ТГ, Неробеева АИ. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010: 834–836. Brusova LA. Endoprotezirovanie litsa. *Khirurgicheskaya stomatologiya i chelyustno-litsevaya khirurgiya: Natsional'noe rukovodstvo*. Pod red. Kulakova AA, Robustovoy TG, Nerobeeva AI. M.: GEOTAR-Media, 2010: 834–836.
- Неробеев АИ. Принципы устранения дефектов тканей лица. Хирургическая стоматология и челюстно-лицевая хирургия: Национальное руководство. Под ред. Кулакова АА, Робустовой ТГ, Неробеева АИ. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010: 636–657. Nerobeev AI. Printsipy ustraneniya defektov tkaney litsa. *Khirurgicheskaya stomatologiya i chelyustno-litsevaya khirurgiya: Natsional'noe rukovodstvo*. Pod red. Kulakova AA, Robustovoy TG, Nerobeeva AI. M.: GEOTAR-Media, 2010: 636–657.
- Решетов ИВ, Штанский ДВ, Левашов ЕА, Филышин ММ. Проведение экспериментальных испытаний титановых имплантатов с многофункциональными биоактивными наноструктурированными покрытиями для реконструктивной черепно-челюстно-лицевой хирургии и онкологии. *Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии*. 2010; 3: 63–71. Reshetov IV, Shtanskiy DV, Levashov EA, Filyushin MM. Provedenie eksperimental'nykh ispytaniy titanovykh implantatov s mnogofunktsional'nymi bioaktivnymi nanostrukturirovannymi pokrytiyami dlya rekonstruktivnoy cherepno-chelyustno-litsevoy khirurgii i onkologii. *Annaly plasticheskoy, rekonstruktivnoy i esteticheskoy khirurgii*. 2010; 3: 63–71.
- Шушацкая ЕИ. Клеточные матриксы из резорбируемых полигидроксиалканоатов. *Клеточные технологии и тканевая инженерия*. 2007; 2 (2): 68–76. Shishatskaya EI. Kletochnye matriksy iz rezorbiruemykh poligidroksialkanoatov. *Kletochnye tekhnologii i tkanevaya inzheneriya*. 2007; 2 (2): 68–76.
- Grayson W, Chao PH, Marolt D, Kaplan DL, Vunjak-Novakovic G. Engineering, custom-designetosteocondral tissue grafts. *Trends Biotechnol*. 2008; 26 (4): 181–189.
- Grayson W, Fröhlich M, Yeager K, Bhumiratana S, Chan ME, Cannizzaro C. et al. Engineering anatomically shaped human bone grafts. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010; 107 (8): 3299–3304.
- Кулаков АА, Гольдштейн ДВ, Алексеева ИС, Волков АВ. Клиническое исследование применения комбинированного клеточного трансплантата у пациентов с выраженным дефицитом костной ткани. Тезисы докладов Всероссийской и международной научной конференции «Стволовые клетки и перспектива их использования в здравоохранении». М., 30–31 мая 2007. <http://www.cmbt.su/rus/science/science282.html>. Kulakov AA, Gol'dshteyn DV, Alekseeva IS, Volkov AV. Klinicheskoe issledovanie primeneniya kombinirovannogo kletochnogo transplantata u patsientov s vyrazhennym defitsitom kostnoy tkani. *Tezisy докладов Vserossiyskoy i mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii «Stvolovye kletki i perspektiva ikh ispol'zovaniya v zdравоохранении»*. M., 30–31 maya 2007. <http://www.cmbt.su/rus/science/science282.html>.
- Bhumiratana S, Vunjak-Novakovic G. Concise review: personalized human bone grafts for reconstructing head and face. *Stem Cells Transl Med*. 2012; 1 (1): 64–69.
- Дюрягин НМ, Сысолятин ПГ, Тазин ИД. Биометрические и технологические аспекты экспериментальных технологий эндопротезирования нижней челюсти композитными эндопротезами из никелида титана. *Бюллетень сибирской медицины*. 2011; 1: 18–24. Dyuryagin NM, Sysolyatin PG, Tazin ID. Biometricheskie i tekhnologicheskie aspekty eksperimental'nykh tekhnologiy endoprotezirovaniya nizhney chelyusti kompozitnymi endoprotezami iz nikelida titana. *Byulleten' sibirskoy meditsiny*. 2011; 1: 18–24.
- Дюрягин НМ. Создание биологических моделей гистерезисных живых систем костной ткани и надкостницы. *Биофизика*. 2012; 57 (2): 377–382. Dyuryagin NM. Sozdanie biologicheskikh modeley gisterezisnykh zhivyykh sistem kostnoy tkani i nadkostnitsy. *Biofizika*. 2012; 57 (2): 377–382.
- Гюнтер ВЭ, редактор. Медицинские материалы и имплантаты с памятью формы. В 14 т. Т. 1. Медицинские материалы и имплантаты с памятью формы. Томск: МИЦ, 2011: 540. Gyunter VE, редактор. Meditsinskie materialy i implantaty s pamyat'yu formy. V 14 t. T. 1. Meditsinskie materialy i implantaty s pamyat'yu formy. Tomsk: MITs, 2011: 540.
- Дюрягин НМ. Новая методология и технологии реконструкции нижней челюсти и височно-нижне-

- челюстного сустава эндопротезами из материалов никелида титана. *Омский научный вестник. Серия «Ресурсы Земли. Человек»*. 2011; 1: 45–49. Dyuryagin NM. Novaya metodologiya i tekhnologii rekonstruktsii nizhney chelyusti i visochno-nizhnechelyustnogo sustava endoprotezami iz materialov nikelida titana. *Omskiy nauchnyy vestnik. Seriya «Resursy Zemli. Che-lovek»*. 2011; 1: 45–49.
13. Хоффер М. Компьютерная томография. Базовое руководство. М.: Медицинская литература, 2008: 224. Khofer M. Komp'yuternaya tomografiya. Bazovoe rukovodstvo. M.: Meditsinskaya literatura, 2008: 224.
14. Дюрягин НМ, Степанов СС, Гюнтер ВЭ, Семченко ВВ, Сысолятин ПГ, Дюрягина ЕН. Морфо-функциональная характеристика гистерезисных имплантационно-тканевых композитов биологических моделей нижней челюсти, формирующихся в сопоставимых и несопоставимых биометрических условиях. *Вестник новых медицинских технологий*. 2012; 19 (2): 334–338. Dyuryagin NM, Stepanov SS, Gyunter VE, Semchenko VV, Sysolyatin PG, Dyuryagina EN. Morfo-funktsional'naya kharakteristika gisterezisnykh implantatsionno-tkanevykh kompozitov biologicheskikh modeley nizhney chelyusti, formiruyushchikhsya v sopostavimyykh i nesopostavimyykh biometricheskikh usloviyakh. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy*. 2012; 19 (2): 334–338.
15. Саркисов ДС, Перов ЮЛ. Микроскопическая техника. М.: Медицина, 1996: 548. Sarkisov DS, Perov YuL. Mikroskopicheskaya tekhnika. M.: Meditsina, 1996: 548.
16. Семченко ВВ, Дюрягин НМ, Степанов СС, Гюнтер ВЭ, Сысолятин ПГ, Дюрягина ЕН. Репаративный гистогенез костной ткани нижней челюсти при использовании гистерезисных имплантационно-тканевых композитов в составе сопоставимых биометрических условий эксперимента. *Морфологические ведомости*. 2012; 1: 55–59. Semchenko VV, Dyuryagin NM, Stepanov SS, Gyunter VE, Sysolyatin PG, Dyuryagina EN. Reparativnyy gistogenez kostnoy tkani nizhney chelyusti pri ispol'zovanii gisterezisnykh implantatsionno-tkanevykh kompozitov v sostave sopostavimyykh biometricheskikh usloviy eksperimenta. *Morfologicheskie vedomosti*. 2012; 1: 55–59.
17. Реброва ОЮ. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: МедиаСфера, 2002: 305. Rebrova OYu. Statisticheskiy analiz meditsinskikh dannykh. Primenenie paketa prikladnykh programm STATISTICA. M.: MediaSfera, 2002: 305.
18. Dyuryagin NM. Effect of reparative organogenesis of mandible branch in conditions. *International conference on European Science and technology, materials of the IV Internationals research and Practice conference*. Munich, Germany, 2013; 2: 450–456.
19. Dyuryagin NM. Creation principles of experimental hysteresis in mandibular bone tissue and periosteum living systems. *International conference on European Science and technology, materials of the IV Internationals research and Practice conference*. Munich, Germany, 2013; 2: 457–464.

Статья поступила в редакцию 24.02.2014 г

DOI: 10.15825/1995-1191-2014-4-89-95

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ ТРАНСДЕРМАЛЬНОЙ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ МЕСТНОГО АНЕСТЕТИКА БРОМОКАИНА

Рыжикова В.А.¹, Кузнецова Е.Г.¹, Белов В.Ю.², Саломатина Л.А.¹, Севастьянов В.И.¹

¹ Лаборатория тканевой инженерии и систем доставки отдела биомедицинских технологий и тканевой инженерии ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Минздрава РФ, Москва, Российская Федерация

² Испытательная лаборатория доклинических исследований «БИОМИР» АНО «Институт медикобиологических исследований и технологий», Москва, Российская Федерация

Цель: исследовать стабильность трансдермальных терапевтических систем (ТТС) бромокаина на основе биосовместимой микроэмульсионной композиции для подтверждения первоначально установленных сроков хранения, а также выявить наиболее приемлемый с точки зрения хранения состав ТТС. **Материалы и методы.** Проведены испытания стабильности методом «ускоренного старения» на образцах ТТС с содержанием бромокаина 50 и 100 мг. Контроль физико-химических свойств ТТС осуществляли в конце 1-го, 2-го, 3-го и 6-го месяцев хранения. На каждом этапе исследования оценивали: внешний вид лекарственной формы (ЛФ), содержание бромокаина в ТТС и высвобождение лекарственного вещества (ЛВ) из препарата. Содержание бромокаина в пробах регистрировали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). В качестве контроля в каждом методе использовались образцы ТТС на момент выпуска серии. **Результаты.** В отличие от образцов с содержанием бромокаина 50 мг, на 6-м месяце хранения выявлено изменение внешнего вида ТТС со 100 мг анестетика и ухудшение функциональных свойств ЛФ. Количественное содержание ЛВ на всех этапах эксперимента в ТТС с 50 и 100 мг бромокаина соответствует нормативной документации (НД) и находится в пределах $50,0 \pm 5,0$ мг и $100,0 \pm 10,0$ мг соответственно. Профиль высвобождения ТТС с 50 мг бромокаина в процессе хранения сохранился и соответствует значениям НД. Для ТТС со 100 мг бромокаина с 3-го месяца хранения отмечено отклонение профиля высвобождения от стандартов, указанных в НД. **Заключение.** Предварительно установленный нами срок хранения 2 года при $t = 25^\circ\text{C}$ для образцов ТТС с 50 мг бромокаина подтвержден. Образцы ТТС, содержащие 100 мг бромокаина, по итогу испытаний признаны нестабильными и непригодными при выбранных условиях хранения.

Ключевые слова: стабильность лекарственных средств, срок годности лекарственного средства, высокоэффективная жидкостная хроматография, трансдермальная терапевтическая система, бромокаин.

DETERMINATION OF THE STABILITY OF A LOCAL ANESTHETIC BROMOKAIN TRANSDERMAL THERAPEUTIC SYSTEM

Ryzhikova V.A.¹, Kuznetsova E.G.¹, Belov V.Yu.², Salomatina L.A.¹, Sevastianov V.I.¹

¹ Laboratory of tissue engineering and delivery systems of department of biomedical technologies and tissue engineering, V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

² Testing laboratory of preclinical research «BIOMIR», ANO «Institute of Biomedical Research and Technology», Moscow, Russian Federation

Aim. To study the stability of biocompatible microemulsion composition-based bromokain transdermal therapeutic systems (TTS) in order to confirm the original shelf life and to identify the most appropriate TTS composition for storage. **Materials and methods.** The stability test using accelerated aging method was performed

Для корреспонденции: Рыжикова Варвара Андреевна. Адрес: 123182, г. Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. 8 (499) 193-86-62. E-mail: gavrjuchenkova@rambler.ru.

For correspondence: Ryzhikova Varvara Andreevna. Address: 1, Shchukinskaya st., Moscow, 123182, Russian Federation. Tel. 8 (499) 193-86-62. E-mail: gavrjuchenkova@rambler.ru.

on the samples of TTS containing 50 and 100 mg of bromokain. Physicochemical properties of TTS were analyzed at the end of the 1st, 2nd, 3rd, and 6th month of storage. The physical configuration of the dosage form, the content of bromokain in TTS, and drug release were evaluated at each stage of the study. The content of bromokain in the samples was recorded using high performance liquid chromatography (HPLC). As a control for each method, the newly manufactured TTS forms were used. **Results.** Unlike the samples containing 50 mg of bromokain, TTS with 100 mg of the anesthetic demonstrated changes in the physical configuration and deterioration of the functional properties after the 6th month of storage. The quantitative content of the substance in TTS containing 50 and 100 mg of bromokain met the requirements of regulatory documentation (RD) at all phases of the experiment and was within $50,0 \pm 5,0$ mg and $100,0 \pm 10,0$ mg, respectively. The release profile of TTS with 50 mg of bromokain has remained unchanged during storage and complies with the RD. TTS with 100 mg of bromokain after the 3rd month of storage had a deviation from the release profile indicated in the RD. **Conclusion.** The shelf life of 2 years at $t = 25^\circ\text{C}$ preset by us for samples of TTS containing 50 mg of bromokain has been confirmed. According to the test results, samples of TTS with the content of bromokain of 100 mg were declared unstable and unfit for storage under the selected storage conditions.

Key words: drug stability, drug shelf life, high performance liquid chromatography, transdermal therapeutic system, bromocain.

ВВЕДЕНИЕ

Испытания стабильности и определение сроков годности являются обязательным пунктом при разработке новых лекарственных препаратов (ЛП). В ходе данных исследований выявляются качественные и количественные изменения состава ЛФ, возникшие под действием внешних факторов (температура, освещение, влажность), на основании чего формируются требования к условиям и срокам хранения [1].

Требования к установлению сроков годности в России изложены в отраслевом стандарте «Лекарственные средства. Порядок установления сроков годности» (ОСТ 42-2-72) и в XII издании Государственной фармакопеи РФ («Сроки годности лекарственных средств», ОФС 42-0075-07). Согласно указанным НД, первоначальный срок годности изготовитель определяет сам еще на стадиях разработки. Испытания, как правило, начинаются не менее чем за полгода до передачи образцов на клинические исследования и продолжаются уже после регистрации и начала промышленного производства ЛП для подтверждения либо для корректирования установленных сроков годности. Таким образом, на настоящий момент для определения стабильности и сроков годности отечественные НД рекомендуют лишь долгосрочные испытания при условиях хранения, близких к тем, в которых зарегистрированные ЛП будут храниться впоследствии [2, 3].

В мировой практике для изучения стабильности новых ЛВ используют стресс-тесты, а при разработке ЛП – ускоренные испытания стабильности («ускоренное старение») и долгосрочные испытания (испытания в реальном времени) [1, 4] с учетом условий климатической зоны региона предполагаемого рынка сбыта [4, 5].

В свое время в России также применялся метод «ускоренного старения», описанный еще в Инс-

трукции И-42-2-82 [6], который представляет собой хранение ЛП в более жестких условиях на протяжении менее длительного срока. Сущность метода заключается в том, что повышение температуры на каждые 10°C увеличивает скорость химической реакции в 2–4 раза (правило Вант-Гоффа). Испытания допускается проводить согласно вышеупомянутой инструкции И-42-2-82 или при $t = 40 \pm 2^\circ\text{C}$ и влажности $75 \pm 5\%$ в течение 6 месяцев для подтверждения срока годности 2 года при условии хранения при $t = 25^\circ\text{C}$ [7]. «Ускоренное старение» также позволяет сделать вывод об устойчивости препарата при резких кратковременных изменениях условий хранения [1].

Сравнительно недавно нами была разработана трансдермальная терапевтическая система (ТТС) местного анестетика бромокаина на основе биосовместимой микроэмульсионной композиции с различным содержанием бромокаина [8]. Ранее эффективность микроэмульсионных систем доставки была показана нами при создании ТТС инсулина [9] и кофеина [10].

Целью настоящей работы является оценка стабильности ТТС бромокаина в условиях ускоренных испытаний.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования выступают матричные ТТС местного анестетика бромокаина с содержанием активного вещества 50 и 100 мг [8].

Субстанция бромокаина (анилокаина) с молекулярной массой 335,67 г/моль синтезирована в ГБОУ ВПО ПГФА (г. Пермь, ВФС 42-2946-97), представлена белым порошком кристаллической структуры, обладает горьковатым вкусом и характерным запахом аминов, на языке вызывает ощущение онемения. Депо для ЛВ служит биосовместимая микро-

эмульсионная композиция, которая представляет собой обратную эмульсию типа «вода в масле». Водная фаза, в которой растворялось ЛВ, представлена водой очищенной (ФС 42-2620-97, дистиллятор ДЭ-10 и фильтр «MILLIPORE SIMPAKOR®1») с добавлением натрия хлорида фармацевтического (ФС 42-2572-95, ЛСР-007720/09, Тюменский ХФЗ ОАО). В состав масляной фазы входят α -токоферола ацетат, 10% раствор масляный (PN 001153/01, ОАО «Марбиофарм»), липофильный эмульгатор Nikkol Decaglyn PR-20 (полиглицерил-10-полирицинолеат) (CAS № 29894-35-7, ООО ТПК «Туше Флора») и активатор чрескожного переноса докузат натрия соль (CAS № 577-11-7, MCD Chemicals).

К одному из этапов разработки ТТС бромокаина относится выбор наиболее стабильных вариантов композиций микроэмульсий бромокаина, являющихся промежуточным продуктом и различающихся соотношением вспомогательных веществ. При этом каждый образец микроэмульсии содержал различное количество активатора чрескожного переноса и действующего вещества. Вывод о стабильности полученных систем делали на основании результатов испытаний, проводимых согласно методике ГОСТа 29188.3-91 «Изделия косметические. Методы определения стабильности эмульсии» [11]. Таким образом, были выбраны два наиболее термостабильных и коллоидно-устойчивых состава, различающихся содержанием бромокаина.

Композиция микроэмульсии с ЛВ наносилась на нетканый материал прямоугольной формы площадью 10 см² (впитывающий элемент повязки ПАЛВ-01 (ООО «Группа компаний «Пальма», ТУ 9393-005-17168608-2004), расположенный на подложке из эластичного микрогубчатого материала на основе вспененного поливинилхлорида с адгезивом 3М Foam tape 9773 (3М, США). Для закладки на хранение каждая изготовленная форма покрывалась защитным антиадгезивным слоем 3М Scotchpak 1022 Release Liner (3М, США), который перед использованием удаляется. Далее упаковывали ТТС в отдельные саше из многослойного ламината, герметично запаиваемые на роликовом термосварочном аппарате Steriking Rotosealer RS 120.

Для проведения испытания «ускоренное старение» были изготовлены три серии ТТС на основе биосовместимой микроэмульсионной композиции с содержанием бромокаина 50 и 100 мг. Для всех этапов измерений брали по 6 образцов из каждой серии ТТС с дозировкой 50 и 100 мг. Для статистической обработки экспериментальных данных использовали программу Microsoft Excel.

Метод «ускоренного старения»

На основании известных свойств бромокаина, микроэмульсионной композиции и готовой формы

нами был предложен первоначальный срок годности разработанных ТТС бромокаина 2 года при хранении в сухом и темном месте при $t = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

При проведении испытаний стабильности на основании Инструкции И-42-2-82 для определения срока годности нужно руководствоваться следующей формулой:

$$C = K \times C_0,$$

где C – срок годности; C_0 – экспериментальный срок годности; K – коэффициент соответствия, высчитывается по нижеследующей формуле:

$$K = A \frac{T_0 - T_{xp}}{10},$$

где A – температурный коэффициент скорости химической реакции, принятый в И-42-2-82 равным 2; T_0 – температура экспериментального хранения; T_{xp} – температура хранения. В отдельно взятых случаях возможно использование экспериментально определенных значений коэффициента A [6].

Для подтверждения установленного нами срока хранения, составляющего 2 года в сухом и темном месте при $t = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, и выявления ТТС с более стабильным составом использовали ускоренные испытания стабильности при $t = 40 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ и влажности $75 \pm 5\%$. Данные условия создавали и поддерживали с помощью климатической камеры Binder KBF 115 (E5.2), в которую помещали упакованные должным образом формы. Эксперимент длился 6 месяцев с отбором образцов на анализ в конце 1-го, 2-го, 3-го и 6-го месяцев хранения. Анализ проводился по трем показателям: внешний вид лекарственной формы (ЛФ), содержание бромокаина в ТТС и высвобождение лекарственного вещества (ЛВ) из препарата. Контролем были образцы ТТС бромокаина 50 и 100 мг тех же серий на момент выпуска.

Количественное определение бромокаина в ТТС

При исследовании количественного содержания бромокаина в ТТС ($n = 6$ для каждой серии) каждую форму выдерживали в конической колбе с притертой пробкой вместимостью 100 мл на водяной бане при температуре не выше $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ в 50 мл дистиллированной воды на протяжении часа. Предварительно накладку из нетканого материала разрезали на части, ножницы обтирали кусочком фильтровальной бумаги, которую вместе с накладкой помещали в ту же колбу. Водное извлечение переносили в мерную колбу вместимостью 500 и 1000 мл (для форм с содержанием бромокаина 50 и 100 мг соответственно), фильтруя через бумажный фильтр. Извлечение повторяли еще 2 раза, объем воды дистиллированной – 20 мл, время выдерживания – 20 мин. Полученные растворы переносили в те же мерные

колбы. Объем раствора в колбах доводили до метки дистиллированной водой. Количественное определение бромокаина в полученных водных извлечениях проводили согласно специальной методике ВЭЖХ, описанной ниже. Для хроматографирования полученные образцы фильтровали с использованием шприцевых фильтров с размером пор 0,45 мкм и разводили в 10 раз.

Высвобождение бромокаина из ТТС

Исследование высвобождения бромокаина из ТТС проводилось на установке Varian VK 7000/7010 (VARIAN, США), на аппарате типа «лопасть над диском» (USP, 724 «Drug Release»). Образцы ТТС, освобожденные от защитного слоя, закрепляли в сетчатых держателях для трансдермальных пластырей фирмы Agilent активной частью (накладкой) вверх и помещали в круглодонные стаканы прибора.

В качестве среды высвобождения использовали дистиллированную воду. Объем среды для каждого образца составлял 1000 мл. Инкубацию образцов проводили при температуре $(37 \pm 0,2)^\circ\text{C}$ и перемешивании со скоростью (100 ± 5) об./мин. Отбор проб производили через 30, 60 и 180 мин в количестве 1 мл без замещения. Определение количества бромокаина в полученных водных извлечениях проводили согласно специальной методике ВЭЖХ, описанной ниже. Для хроматографирования образцы фильтровали с использованием шприцевых фильтров с размером пор 0,45 мкм и разводили в 5 раз.

Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения бромокаина в водных растворах

Определение содержания бромокаина в водных растворах проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии со спектрофотометрическим детектированием. Работа выполнялась на приборе Agilent 1260 Infinity с насосной системой (модель G1311C) и диодно-матричным детектором (модель G4212B) (Agilent Technologies, США).

Разделение компонентов проб производили на колонке Hypersil BDS-C18 («Элсико», Россия) длиной 150 мм и внутренним диаметром 4,6 мм, зернением 5 мкм. Хроматографическая система также включала в себя заменяемый предколоночный фильтр C18.

Определение бромокаина осуществляли в изократическом режиме элюирования при скорости потока 1 мл/мин. В качестве подвижной фазы использовали ацетонитрил хроматографической чистоты («Merck», Германия) и фосфатный буфер 0,05M KH_2PO_4 (рН 3,0) (20:80). В данных условиях время удерживания для бромокаина составляло $4,8 \pm 0,1$ с.

Спектрофотометрическое детектирование проводили при длине волны 254 нм.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для подтверждения предварительно установленных сроков годности исследуемых препаратов необходимым условием является сохранение стабильности на протяжении всего периода испытания. Для контроля устойчивости образцов для проверки на каждом этапе исследования из НД (фармакопейные статьи, фармакопейные статьи предприятий) выбирают значимые показатели, изменение которых наиболее вероятно приводит к утере препаратом его физико-химических свойств и эффективности, и проводят их анализ [4]. Для ТТС бромокаина с содержанием ЛВ 50 и 100 мг нами был разработан проект ФСП, согласно которому оценивались выбранные для оценки параметры.

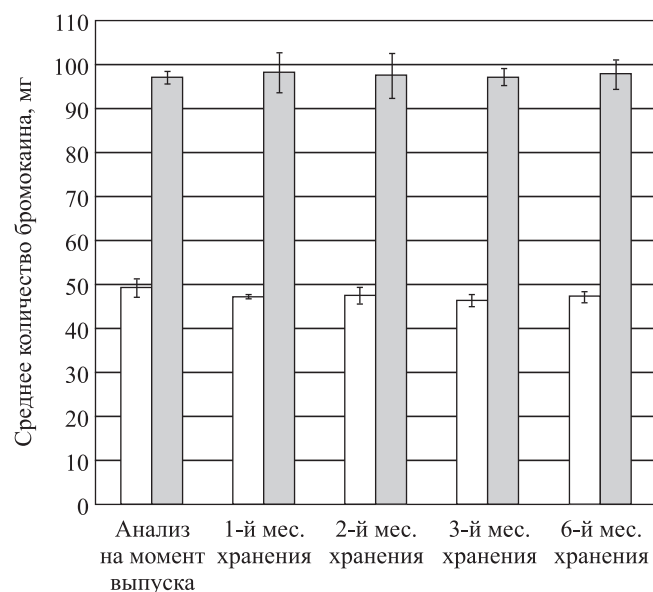
Внешний вид

Для оценки внешнего вида ТТС бромокаина освобождали форму от внешней упаковки и защитного слоя и визуально оценивали плотность прилегания нетканой накладки к адгезивному слою, а также состояние адгезивного слоя на предмет попадания на него композиции с ЛВ в процессе хранения. В контрольных образцах ТТС бромокаина с содержанием вещества 50 и 100 мг отмечалось плотное прилегание накладки и отсутствие следов микроэмульсии с активным веществом на клейком слое. В конце 1-го, 2-го и 3-го месяцев испытания при визуальной оценке исследуемых образцов не было обнаружено никаких отклонений от контрольной группы. При изучении форм в ходе последнего анализа в конце 6-го месяца в группе ТТС с содержанием бромокаина 50 мг также не выявлено никаких ощутимых изменений, а при оценке ТТС с содержанием 100 мг бромокаина установлено отлипание нетканой накладки от подложки и наличие масляных пятен на адгезиве, что свидетельствует о растекании микроэмульсионной композиции в процессе хранения.

Содержание бромокаина в ТТС

На каждом этапе, указанном в методике, проводился анализ содержания бромокаина в испытуемых образцах. Согласно проекту ФСП, в разрабатываемых ТТС регламентируется допустимое отклонение содержания ЛВ не более $\pm 10\%$. Таким образом, для трансдермальных систем с содержанием бромокаина 50 мг установлены пределы от 0,045 до 0,055 г действующего вещества, а для форм с содержанием субстанции 100 мг – от 0,090 до 0,110 г. Для подтверждения первоначально установленного

срока годности необходимо, чтобы на протяжении всего испытания не было выявлено отклонения содержания бромокаина в ТТС, превышающего нормы, прописанные в проекте ФСП. На рисунке представлены результаты количественного определения бромокаина в ТТС с дозировкой 50 и 100 мг. Приведенные данные являются результатом усреднения по 3 сериям ТТС с каждой дозировкой.



□ ТТС, 50 мг бромокаина ■ ТТС, 100 мг бромокаина

Рис. Содержание бромокаина на разных сроках «ускоренного старения» в разработанных ТТС на основе биосовместимой микроэмульсионной композиции с различным содержанием активного вещества

Полученные данные свидетельствуют о том, что при хранении в условиях «ускоренного старения» в исследуемых ЛФ из трех серий каждой дозировки не произошло противоречащего проекту ФСП снижения содержания активного вещества как в ТТС с содержанием бромокаина 50 мг, так и в ТТС со 100 мг бромокаина.

Высвобождение бромокаина из ТТС

При проведении теста «высвобождение» также руководствовались разработанным нами проектом ФСП, согласно которому отбор проб проводится на каждом этапе исследования на 30, 60 и 180 мин анализа. Регламентируется количество бромокаина, перешедшего в среду высвобождения, которое должно составить от 75 до 85% для первого отбора пробы, от 80 до 95% – для второго, и более 95% – для третьего. Результаты данного испытания представлены в табл. 1 и 2 для ТТС с содержанием бромокаина 50 и 100 мг соответственно. В таблицах представлен процентный выход бромокаина из ТТС в среду высвобождения, усредненный для каждой серии.

Таблица 1

Данные по тесту «высвобождение»
для ТТС бромокаина, 50 мг (3 серии, n = 6)

№ серии	Высвобождение бромокаина, %		
	Через 30 мин	Через 60 мин	Через 180 мин
На момент выпуска			
50114	84,0	91,1	96,0
50214	83,6	85,4	96,9
50314	80,7	92,3	97,8
Через 1 мес. хранения			
50114	81,2	93,7	95,0
50214	82,6	87,1	96,2
50314	82,6	92,0	96,6
Через 2 мес. хранения			
50114	78,2	86,0	95,5
50214	77,4	86,9	95,1
50314	84,3	89,4	97,2
Через 3 мес. хранения			
50114	80,3	92,7	99,8
50214	84,3	94,1	97,7
50314	83,6	91,8	96,8
Через 6 мес. хранения			
50114	76,7	85,5	95,0
50214	75,7	84,8	96,1
50314	77,4	89,1	96,9

Таблица 2

Данные по тесту «высвобождение»
для ТТС бромокаина, 100 мг (3 серии, n = 6)

№ серии	Высвобождение бромокаина, %		
	Через 30 мин	Через 60 мин	Через 180 мин
На момент выпуска			
100114	81,2	94,0	98,5
100214	80,7	89,6	97,9
100314	79,8	92,4	97,0
Через 1 мес. хранения			
100114	78,9	98,2	99,8
100214	80,1	94,5	96,9
100314	80,9	94,4	98,3
Через 2 мес. хранения			
100114	82,1	93,7	98,6
100214	84,3	90,9	95,3
100314	82,6	90,8	97,1
Через 3 мес. хранения			
100114	86,2	93,9	99,1
100214	85,8	87,6	96,2
100314	91,3	93,3	97,0
Через 6 мес. хранения			
100114	71,8	74,3	87,8
100214	59,2	72,0	83,9
100314	60,8	74,4	85,3

Из табл. 1 видно, что ТТС с 50 мг бромокаина на протяжении всего эксперимента имели профиль высвобождения, который укладывается в пропи-

санные в проекте ФСП нормы. При анализе ТТС бромokaина с содержанием ЛВ 100 мг на первых этапах «ускоренного старения» были получены профили высвобождения, соответствующие указанным выше нормам, что отображено в табл. 2. Однако на 3-м месяце хранения при первом отборе, соответствовавшем 30-й минуте теста «высвобождение» (см. табл. 2), выход бромokaина был выше, чем это предполагалось в проекте ФСП. Также на последнем этапе при анализе образцов трех серий ТТС со 100 мг бромokaина по окончании 6-го месяца «ускоренного хранения» отмечено расхождение с нормами проекта ФСП: выход субстанции из ТТС с содержанием 100 мг был ниже регламентируемого.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в процессе хранения на протяжении 6 месяцев при $t = 40 \pm 2^\circ\text{C}$ и влажности $75 \pm 5\%$ ТТС бромokaина с содержанием активного вещества 50 мг не утратили своего первоначального внешнего вида. Также отмечается соответствие профиля высвобождения и сохранение количества бромokaина в ТТС согласно проекту ФСП на протяжении всего срока хранения. На основании испытания «ускоренное старение» можно утверждать, что ТТС, содержащая 50 мг бромokaина, достаточно стабильна для хранения в течение первоначально установленного нами срока хранения, составляющего 2 года при $t = 25^\circ\text{C}$.

Также можно сделать вывод, что резкие кратковременные изменения условий окружающей среды при хранении ТТС с содержанием бромokaина 50 мг в дальнейшем не вызовут необратимых изменений.

В ТТС с содержанием бромokaина 100 мг на протяжении всего срока хранения количество действующего вещества не вышло за нормы, установленные в проекте ФСП. Однако ТТС с данной дозировкой к концу испытания «ускоренного старения» все же претерпели определенные изменения, которые могут повлечь за собой изменение функциональных (к примеру, прилипание) и, вероятно, некоторых физико-химических свойств. Среди изменений отмечается нарушение внешнего вида формы с данной дозировкой ЛВ на 6-м месяце хранения при $t = 40 \pm 2^\circ\text{C}$ и влажности $75 \pm 5\%$. Также форма оказалась нестабильна с точки зрения высвобождения ЛВ: при анализе после 3 месяцев хранения в указанном выше режиме установлено превышение выхода бромokaина из образцов при первом отборе проб в тесте «высвобождение», а при анализе по окончании 6-го месяца хранения профиль высвобождения для данных ТТС был значительно ниже пределов, прописанных в НД. На основании полученных результатов ТТС с содержанием бромokaина 100 мг признана нестабильной. Поскольку изменение со-

става ТТС при условии сохранения ее функциональных свойств в данном случае невозможно, то, по-видимому, придется отказаться от создания ТТС бромokaина с содержанием ЛВ 100 мг.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Мешковский АП. Испытания стабильности и установление сроков годности лекарственных препаратов. *Фарматека*. 2000; 2: 25–34. Meshkovskiy AP. Ispytaniya stabil'nosti i ustanovlenie srokov godnosti lekarstvennykh preparatov. *Farmateka*. 2000; 2: 25–34. [In Russ].
2. Государственная фармакопея РФ, XII издание (часть 1). М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2008: 704. Gosudarstvennaya Farmakopeya RF, XII izdanie (chast' 1). M.: Nauchnyy tsentr ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya, 2008: 704.
3. Отраслевой стандарт «Лекарственные средства. Порядок установления сроков годности» ОСТ 42-2-72. Министерство здравоохранения СССР. Министерство медицинской промышленности. 1972. Otrasleyvoy standart «Lekarstvennye sredstva. Poryadok ustanovleniya srokov godnosti». OST 42-2-72. Ministerstvo zdравookhraneniya SSSR. Ministerstvo meditsinskoy promyshlennosti, 1972.
4. Беликов ВГ. Фармацевтическая химия: учебн. пособие в 2 частях / В.Г. Беликов. 3-е изд. М.: МЕДпресс-информ, 2009: 616. Belikov VG. Farmatsevticheskaya khimiya uchebn. posobie v 2 ch. / V.G. Belikov. 3-e izd. M.: MEDpress-inform, 2009: 616.
5. Draft. Stability Testing of Active Pharmaceutical Ingredients and Pharmaceutical Products. WHO Working Document QAS/06.179/Rev.3, 2008.
6. Временная инструкция по проведению работ с целью определения сроков годности лекарственных средств на основе метода «ускоренного старения» при повышенной температуре (И-42-2-82). Министерство здравоохранения СССР. Министерство медицинской промышленности. 1983. Vremennaya instruktsiya po provedeniyu rabot s tsel'yu opredeleniya srokov godnosti lekarstvennykh sredstv na osnove metoda «uskorenno-go stareniya» pri povyshennoy temperature (I-42-2-82). Ministerstvo zdравookhraneniya SSSR. Ministerstvo meditsinskoy promyshlennosti. 1983.
7. Скакаева ИВ, Бунатян НД, Ковалева ЕЛ, Сакарян ЕИ, Митькина ЛИ, Прокопов ИА и др. Основные подходы к изучению стабильности лекарственных средств: отечественный и международный опыт. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2013; 3: 8–11. Skakaeva IV, Bunyatyan ND, Kovaleva EL, Sakaryan EI, Mit'kina LI, Prokopov IA et al. Basic approaches drug stability studies: domestic and international experience. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya*. 2013; 3: 8–11. [In Russ, English abstract].
8. Рыжикова ВА, Тikhobayeva AA, Salomatina LA, Kursakov SV, Kuznetsova EG, Kuryleva OM et al. Effect of

- the Transfer Activator on Functional Properties of the Bromocain Matrix Transdermal Therapeutic Systems. *Inorganic Materials: Applied Research*. 2014; 5 (5): 498–503. DOI: 10.1134/S2075113314050177 (translated from *Perspektivnye Materialy*, 2014; 2: 26–32).
9. Севастьянов ВИ, Саломатина ЛА, Кузнецова ЕГ, Собко ОМ, Шумаков ВИ. Матричные и резервуарные трансдермальные терапевтические системы инсулина на основе нетканых и полимерных материалов. *Перспективные материалы*. 2004; 4: 44–48. Sevast'yanov VI, Salomatina LA, Kuznetsova EG, Sobko OM, Shumakov VI. Matrix and reservoir transdermal therapeutic systems of insulin on nonwoven and polymeric substances base. *Perspektivnye Materialy*. 2004; 4: 44–48. [In Russ, English abstract].
 10. Kuznetsova EG, Kuryleva OM, Salomatina LA, and Sevast'yanov VI. Matrix transdermal systems for caffeine delivery based on polymer and emulsion compounds. *Biomed. Eng.* 2008; 42: 141–144 (translated from *Meditsinskaya Tekhnika*. 2008; 42 (3): 33–35).
 11. ГОСТ 29188.3-91 «Изделия косметические. Методы определения стабильности эмульсии». 1992. GOST 29188.3-91 «Izdeliya kosmeticheskie. Metody opredeleniya stabil'nosti emul'sii». 1992.

Статья поступила в редакцию 29.10.2014 г.

DOI: 10.15825/1995-1191-2014-4-96-100

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ СЕРДЦА У ПАЦИЕНТКИ С ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОЙ АНЕВРИЗМОЙ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ

Гордеев М.Л., Николаев Г.В., Баутин А.Е., Кашерининов И.Ю., Даценко С.В.,
Ташиханов Д.М., Яковлев А.С., Наймушин А.В., Малая Е.Я., Рубинчик В.Е.,
Сухова И.В., Федотов П.А.

ФГБУ «Федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава РФ,
Санкт-Петербург, Российская Федерация

Обязательной процедурой, выполняемой перед включением кандидата на трансплантацию сердца в лист ожидания, является катетеризация правых отделов сердца и легочной артерии (ЛА). У пациентки 64 лет с хронической сердечной недостаточностью III функционального класса по NYHA при выполнении данной манипуляции возникло редкое осложнение – разрыв сегментарной ветви ЛА с развитием легочного кровотечения. На фоне комплексной интенсивной терапии эпизод легочного кровотечения был купирован, не потребовав хирургического лечения. Сформировалась ложная аневризма сегментарной ветви ЛА размерами $2,7 \times 2,8$ см с признаками тромбирования. Спустя пять месяцев пациентка перенесла трансплантацию сердца, периоперационный период протекал без развития тяжелых осложнений, повторных эпизодов легочного кровотечения зафиксировано не было.

Ключевые слова: легочная гипертензия, трансплантация сердца, разрыв легочной артерии, катетер Свана–Ганса.

HEART TRANSPLANTATION IN PATIENT WITH POST-RUPTURE PSEUDOANEURYSM OF SEGMENTAL BRANCH OF PULMONARY ARTERY

Gordeev M.L., Nikolaev G.V., Bautin A.E., Kasherininov I.Yu., Datsenko S.V.,
Tashkhanov D.M., Iakovlev A.S., Naimushin A.V., Malaya E.Ya., Rubinchik V.E.,
Sukhova I.V., Fedotov P.A.

Almazov Federal Medical Research Center of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation,
Saint-Petersburg, Russian Federation

Right heart catheterization (RHC) should be performed on all candidates in preparation for listing for cardiac transplantation. Patient, 64 y. o., with chronic heart failure NYHA III class, had developed a rare complication while performing that procedure – a rupture of segmental branch of pulmonary artery (PA) with pulmonary haemorrhage. The episode of pulmonary bleeding was stopped conservatively without surgical management. There was a pseudoaneurysm formation of segmental branch of PA $2,7 \times 2,8$ cm with signs of thrombosis. After five months the patient underwent heart transplantation without severe complications in perioperative period. No more recurrent episodes of pulmonary haemorrhage were identified.

Key words: pulmonary hypertension, heart transplantation, pulmonary artery rupture, Swan-Ganz catheter.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время наиболее актуальной проблемой раннего послеоперационного периода трансплантации сердца (ТС) является острая пра-

вожелудочковая недостаточность, встречающаяся в 6% случаев и обуславливающая до 19% ранней послеоперационной летальности [1, 2]. Развитие этого осложнения вызвано перегрузкой неподго-

Для корреспонденции: Баутин Андрей Евгеньевич. Адрес: 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2.
Тел. +7 (921) 753-91-10. E-mail: abautin@mail.ru.

For correspondence: Bautin Andrei Evgenyevich. Address: 2, Akkuratova st., Saint-Petersburg, 197341, Russian Federation.
Tel. +7 (921) 753-91-10. E-mail: abautin@mail.ru.

товленного правого желудочка донорского сердца высоким сосудистым сопротивлением малого круга реципиента. Именно поэтому состояние легочного кровотока является критическим фактором при решении вопроса о возможности выполнения ТС [3–5]. В руководстве Международного общества трансплантации сердца и легких (ISHLT) по критериям отбора кандидатов на ТС (2006) [5] и в Российских национальных клинических рекомендациях по трансплантации сердца (2013) [4] катетеризация правых камер сердца и ЛА рекомендуется всем потенциальным реципиентам (класс рекомендаций I C).

Катетеризация ЛА может сопровождаться развитием серьезных осложнений, наиболее опасным из которых считается разрыв ЛА [6, 7]. Эта клиническая ситуация относится к редким и встречается при 0,03–0,2% катетеризаций ЛА [8–11] с летальностью от 50 до 70% [9–11].

Низкая частота возникновения разрывов ЛА и высокая смертность затрудняют выработку стандартов ведения пациентов при данном осложнении. Именно это обстоятельство, повышающее ценность каждого успешного случая лечения разрыва ЛА, послужило поводом для публикации настоящего клинического наблюдения.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Пациентка 64 лет находилась в клинике ФГБУ «ФМИЦ им. В.А. Алмазова» в связи с хронической ревматической болезнью сердца (ХРБС), декомпенсированной ХСН IIБ стадии, III ФК по NYHA. В детстве перенесла несколько эпизодов ревматических атак, в 1976 г. был выявлен митральный порок, с 1995 г. отмечено появление и нарастание явлений ХСН. В 1997 г. выполнено протезирование митрального клапана (МК) по поводу критического митрального стеноза. С 2000 г. отмечается постоянная форма фибрилляции предсердий (ФП) с тахисистолой желудочков. С 2000-го по 2012 г. неоднократно госпитализировалась в стационары города по поводу декомпенсации ХСН. В 2012–2013 гг. при обследовании в клинике ФМИЦ им. В.А. Алмазова выявлены: прогрессирующее снижение фракции выброса (ФВ) вплоть до 15%, кардио-мегалия, легочная гипертензия (ДЛАСис, по данным ЭХОКГ, составляло 55 мм рт. ст.), относительная трикуспидальная недостаточность 3–4-й ст. при низком градиенте на протезе в митральной позиции. Явления ХСН на фоне значительного усиления терапии нестойко компенсировались на уровне III ФК. При выполнении кардиореспираторного теста отмечалось выраженное снижение пикового потребления кислорода: 12 мл/кг/мин (63% от максимального).

Для решения вопроса о включении в лист ожидания ТС пациентке в условиях ОРИТ была выполнена катетеризация правых отделов сердца и ЛА. Исследование проводилось в соответствии с протоколом, утвержденным в ФМИЦ им. В.А. Алмазова. Через правую внутреннюю яремную вену был введен катетер Свана–Ганса, определено ДЛА (43/31/18 мм рт. ст.), после достижения положения заклинивания и измерения давления заклинивания легочных капилляров (ДЗЛК – 14 мм рт. ст.) у пациентки появился прогрессиивно усиливающийся кашель с примесью крови в мокроте, выполнение исследования было прекращено. Диагностировано легочное кровотечение, сопровождавшееся снижением SpO_2 до 70%, артериального давления (АД) до 80/40 мм рт. ст., объем наружной кровопотери составил около 300 мл. В экстренном порядке были выполнены: индукция общей анестезии, оротрахеальная интубация, механическая респираторная поддержка (FiO_2 – 100%, дыхательный объем 9 мл/кг, положительное давление конца выдоха – 9 см вод. ст.). Начата инотропная поддержка дофамином (8 мкг/кг/мин), инфузия изосорбида динитрата (0,9 мкг/кг/мин), медикаментозная седация пропофолом, продленная миорелаксация. Для контроля ДЛА было решено оставить катетер Свана–Ганса в легочной артерии, подтянув его на 5 см от положения заклинивания.

При фибробронхоскопии (ФБС) было удалено большое количество крови из правого и левого легких, обнаружено сдавление правого среднедолевого бронха извне округлым образованием, обтурация сгустком крови левого главного бронха. После выполненной ФБС отмечено значительное улучшение газообмена, позволившее снизить FiO_2 до 50% и поддерживать SpO_2 на уровне 95–100%. Учитывая гипокоагуляцию (МНО составляло 1,8 на фоне предшествующего приема оральных антикоагулянтов), была проведена трансфузия 500 мл свежезамороженной плазмы.

Благодаря проводимой интенсивной терапии был обеспечен устойчивый гемостаз со значительным снижением геморрагического отделяемого при катетерных санациях трахеобронхиального дерева. Учитывая достигнутое стабильное состояние пациентки и отсутствие признаков продолжающегося кровотечения по данным контрольной ФБС, было принято решение отказаться от выполнения неотложного оперативного вмешательства и продолжить консервативную терапию.

Через 9 часов после разрыва ветви ЛА была выполнена мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) органов грудной клетки с контрастированием. Выявлены признаки экстравазации контрастного вещества в средней доле справа вдоль сегментарной ветви A5 легочной

артерии в виде округлого образования $1,5 \times 1,2 \times 1,3$ см (рис. 1), несколько участков ателектазирования. Диагностирован разрыв сегментарной ветви ЛА.

К концу первых суток достигнута стабильная гемодинамика, прекращена инотропная поддержка. Учитывая адекватный газообмен, начат перевод пациентки на самостоятельное дыхание. Экстубация осуществлена через 33 часа респираторной поддержки на фоне ясного сознания, адекватных показателей внешнего дыхания, удовлетворительных лабораторных данных. Пациентка переведена в кардиологическое отделение после 3 суток пребывания в ОРИТ. Показатели гемодинамики при переводе: АД – 110/57 мм рт. ст., СИ – 2,6 л/мин/м², ЦВД – 10 мм рт. ст., ДЛА – 54/37/20 мм рт. ст. Лабораторные данные: РаО₂ – 131 мм рт. ст. на фоне ингаляции кислорода через лицевую маску, РvО₂ – 39 мм рт. ст., Hb – 116 г/л, МНО – 1,52.

Достаточный интерес представляет динамика данных МСКТ. Через неделю после кровотечения были обнаружены признаки увеличения образования до $2,24 \times 1,64$ см, изменения его структуры до более однородной (возможно, тромботические массы). Также отмечалось значительное увеличение пневматизации легочной ткани. Складывалось впечатление об образовании ложной аневризмы сегментарной ветви ЛА и ее тромбировании. При МСКТ, выполненной через три месяца, отмечено увеличение образования в средней доле правого легкого на границе S4 и S5 до размеров $3,65 \times 3,85$ см. Признаков экстравазации контраста выявлено не было. Через пять месяцев размеры тромбированной ложной аневризмы ЛА снизились до $2,7 \times 2,8$ см.

После выписки пациентки из стационара рецидивов легочного кровотечения не отмечалось, однако прогрессировала сердечная недостаточность, что потребовало повторной госпитализации. Стабилизация состояния была достигнута на фоне инотропной поддержки дофамином в дозе 5 мкг/кг/мин. Вновь был поставлен вопрос о включении больной в лист ожидания ТС. Была выполнена повторная катетеризация правых отделов сердца и ЛА. Учитывая перенесенный разрыв сегментарной ветви ЛА, для расчета легочного сосудистого сопротивления (ЛСС) вместо показателя ДЗЛК использовали конечно-диастолическое давление левого желудочка (КДДЛЖ), что потребовало одновременной катетеризации левого желудочка. Была выявлена умеренная легочная гипертензия (ДЛА – 47/39/30 мм рт. ст.), связанная как с левожелудочковой сердечной недостаточностью (КДДЛЖ – 28 мм рт. ст.), так и с повышенным сопротивлением малого круга (ЛСС – 4,4 ед. Вуда). При выполнении теста на обратимость легочной гипертензии (илопрост, 20 мкг ингаляционно) достигнуто снижение ЛСС до 2,8 ед. Вуда и увеличение сердечного индекса (СИ) с 1,5 до 2,6 л/мин/м². Полученные данные позволили включить пациентку в лист ожидания ТС.

Через 152 дня после разрыва ветви ЛА была выполнена ортотопическая ТС по бикавальной методике. Продолжительность операции составила 300 мин, время искусственного кровообращения – 172 мин, время пережатия аорты – 85 мин. Гемодинамический мониторинг в периоперационном периоде включал в себя катетеризацию ЛА и измерение ДЛА, однако баллончик катетера Свана–Ганса не раздувался, и ДЗДК не измерялось. В раннем послеоперационном периоде отмечалась

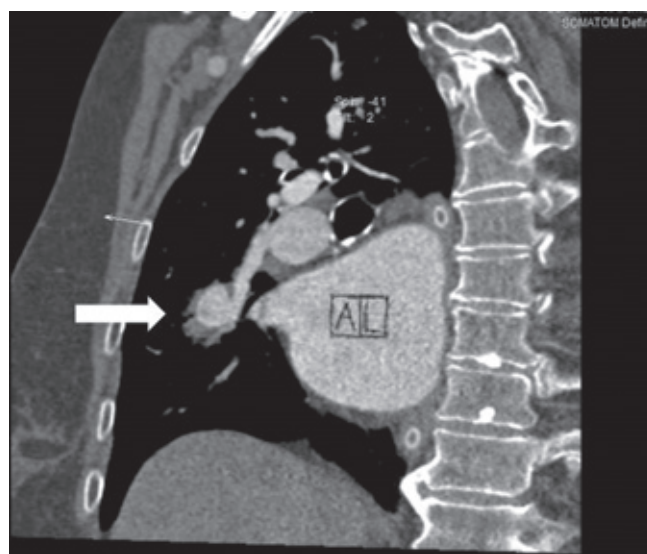
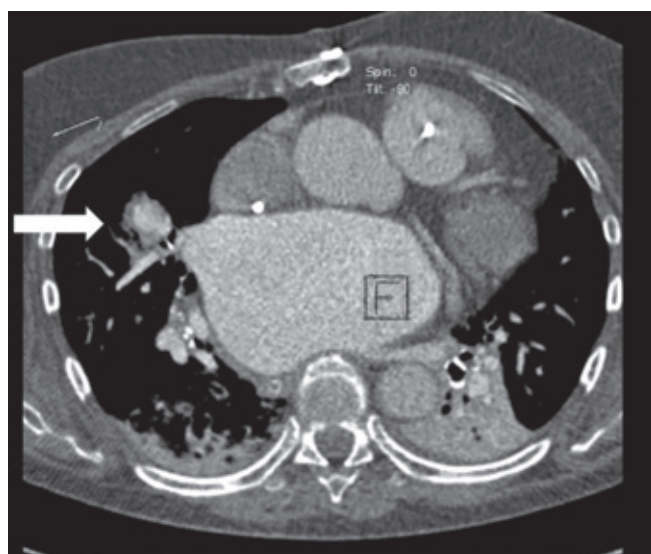


Рис. 1. МСКТ с контрастированием, выполненное через 9 часов после разрыва ЛА. Экставазация контрастного вещества указана стрелкой

умеренно выраженная бивентрикулярная сердечная недостаточность, имели место три пароксизма фибрилляции предсердий. Продолжительность респираторной поддержки составила 31 ч, время пребывания в ОРИТ – 10 сут. За период наблюдения расстройств газообмена, рецидивов легочного кровотечения не наблюдалось. На контрольных рентгенограммах грудной клетки в проекции правого среднедолевого бронха определялось округлое образование, соответствующее расположению тромбированной ложной аневризмы сегментарной ветви ЛА (рис. 2). Пациентка продолжила лечение в кардиологическом отделении ФМИЦ им. В.А. Алмазова.

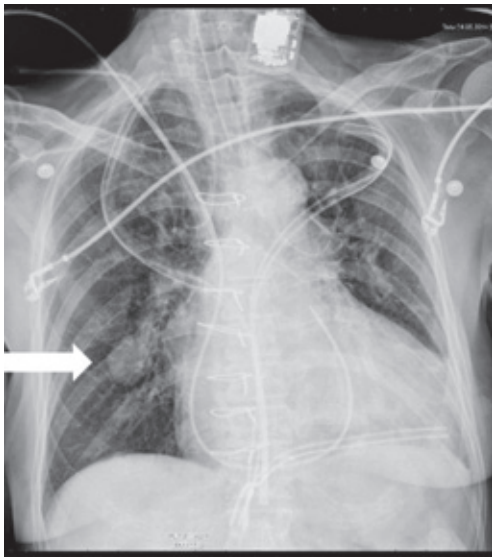


Рис. 2. Рентгенограмма органов грудной клетки, выполненная после ТС. Тромбированная ложная аневризма сегментарной ветви ЛА указана стрелкой

ОБСУЖДЕНИЕ

Наиболее подробное описание катетер-ассоциированных разрывов ЛА приводится в ретроспективном исследовании Т. Kearney и соавт. [11]. После 34 442 катетеризаций ЛА, выполненных за 17-летний период, разрыв ветви ЛА наблюдался в 10 случаях (0,03%), 7 пациентов умерли (госпитальная летальность составила 70%). В этом исследовании было отмечено, что при выполнении катетеризации в условиях самостоятельного дыхания причиной летальных исходов при разрывах ЛА была тяжелая гипоксемия, но не массивная кровопотеря.

В описанном нами клиническом случае эпизод легочного кровотечения был достаточно быстро купирован с помощью своевременной многокомпонентной интенсивной терапии, не потребовал хирургического лечения и завершился формированием ложной аневризмы небольших размеров

с ее последующим тромбированием. Это предопределило благополучный исход у пациентки с тяжелой сердечной недостаточностью и позволило ей в последующем перенести периоперационный период ТС без развития критических осложнений.

Учитывая то, что разрыв ветви ЛА произошел во время достижения катетером Свана–Ганса положения заклинивания, при повторной диагностической процедуре, а также в периоперационном периоде ТС баллончик катетера не раздувался. Настоящее клиническое наблюдение демонстрирует принципиальную возможность выполнения ТС с использованием гемодинамического мониторинга без определения ДЗЛК.

Необходимо отметить, что при анализе доступных литературных источников мы не нашли указаний на случаи выполнения ТС после разрывов ЛА. Возможно, представленное клиническое наблюдение является первым в истории.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Hosenpud J, Bennett L, Keck B, Boucek MM, Novick RJ. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: seventeenth official report-2000. *J Heart Lung Transplant*. 2000; 19: 909–931.
2. Klima U, Ringes-Lichtenberg S, Warnecke G, Lichtenberg A, Strüber M, Haverich A. Severe right heart failure after heart transplantation. A single-center experience. *Transpl Int*. 2005; 18: 326–332.
3. Mehra MR, Kobashigawa J, Starling R, Russell S, Uber PA, Parameshwar J. Listing criteria for heart transplantation: International Society for Heart and Lung Transplantation guidelines for the care of cardiac transplant candidates 2006. *J Heart Lung Transplant*. 2006; 25: 1024–1042.
4. Трансплантация сердца. Национальные клинические рекомендации 2013. http://transpl.ru/images/cms/data/pdf/nacional_nye_klinicheskie_rekomendacii_po_transplantacii_serdca.pdf. Transplantatsiya serdtsa. Natsional'nye klinicheskie rekomendatsii 2013. http://transpl.ru/images/cms/data/pdf/nacional_nye_klinicheskie_rekomendacii_po_transplantacii_serdca.pdf.
5. Costanzo M, Dipchand A, Starling R, Anderson A, Chan M, Desai S. International Society for Heart and Lung Transplantation Guidelines for the Care of Cardiac Transplant Candidates. *J Heart Lung Transplant*. 2010; 29: 914–956.
6. Boyd KD, Thomas SJ, Gold J, Boyd AD. A prospective study of complications of pulmonary artery catheterizations in 500 consecutive patients. *Chest*. 1983; 84: 245–249.
7. Harvey S, Harrison DA, Singer M, Ashcroft J, Jones CM, Elbourne D et al. PAC-Man study collaboration. Assessment of the clinical effectiveness of pulmonary artery catheters in management of patients in intensive care (PAC-Man): a randomised controlled trial. *The Lancet*. 2005; 366: 435–436.

8. Booth KL, Mercer-Smith G, McConkey C, Parissis H. Catheter-induced pulmonary artery rupture: haemodynamic compromise necessitates surgical repair. *Interact CardioVasc Thorac Surg.* 2012; 15: 531–533.
9. Hadian M, Pinsky MR. Evidence-based review of the use of the pulmonary artery catheter: impact data and complications. *Crit Care.* 2006; 10 (Suppl 3): S8.
10. Bussieres JS. Iatrogenic pulmonary artery rupture. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2007; 20: 48–52.
11. Kearney TJ, Shabot MM. Pulmonary artery rupture associated with the Swan-Ganz catheter. *Chest.* 1995; 108: 1349–1352.

Статья поступила в редакцию 17.07.2014 г.

УВАЖАЕМЫЕ ЧИТАТЕЛИ!

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

Подписной индекс нашего издания в каталоге «Газеты и журналы» – **80248**



Ф. СП-1	ВЕСТНИК ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ	80248 (индекс издания) количество комплектов																								
на 2015 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	ДОСТАВочная КАРТОЧКА на журнал 80248 (индекс издания)																								
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20%;">ПВ</td> <td style="width: 20%;">место</td> <td style="width: 20%;">ли-тер</td> </tr> </table>		ПВ	место	ли-тер	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 15%;">стои-мость</td> <td style="width: 15%;">подписки</td> <td style="width: 15%;">руб.</td> <td style="width: 15%;">коп.</td> <td style="width: 15%;">количество комплектов</td> </tr> <tr> <td> </td> <td>пере-адресовки</td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> </table>	стои-мость	подписки	руб.	коп.	количество комплектов		пере-адресовки														
ПВ	место	ли-тер																								
стои-мость	подписки	руб.	коп.	количество комплектов																						
	пере-адресовки																									
на 2015 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)																										

DOI: 10.15825/1995-1191-2014-4-101-105

ЭФФЕКТИВНАЯ МЕДИКАМЕНТОЗНАЯ КОРРЕКЦИЯ ОСТРОЙ ПРАВОЖЕЛУДОЧКОВОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У РЕЦИПИЕНТА С ПОГРАНИЧНОЙ ЛЕГОЧНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ ПОСЛЕ ОРТОТОПИЧЕСКОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА

Чернявский А.М.¹, Доронин Д.В.¹, Фомичев А.В.¹, Дерягин М.Н.²

¹ Центр хирургии аорты, коронарных и периферических артерий ФГБУ «Новосибирский НИИ патологии кровообращения имени акад. Е.Н. Мешалкина» МЗ РФ, Новосибирск, Российская Федерация

² Отделение реанимации и интенсивной терапии взрослых ФГБУ «Новосибирский НИИ патологии кровообращения имени акад. Е.Н. Мешалкина» МЗ РФ, Новосибирск, Российская Федерация

Острая правожелудочковая недостаточность, в ранних сроках после ортотопической трансплантации сердца является грозным осложнением и зачастую может приводить к фатальному исходу. Особенно актуальным это является у пациентов с высоким сопротивлением сосудов малого круга. Препараты для снижения легочного сосудистого сопротивления (ЛСС) показали свою эффективность преимущественно для лечения первичной легочной гипертензии. Больному К. 23 лет с пограничной легочной гипертензией (среднее давление в легочной артерии 60 мм рт. ст., ЛСС – 6 ед. Вуда) выполнена ортотопическая трансплантация сердца. В раннем послеоперационном периоде у пациента развилась острая правожелудочковая недостаточность. Больному проводилась многокомпонентная инотропная поддержка. С целью снижения сопротивления малого круга кровообращения больной получал силденафил (в суточной дозе 50 мг) в сочетании с ингаляциями вентависа (в дозе 5 мкг каждые 3 часа) и приемом траклира (базинтан) (в дозе 125 мг в сутки). На фоне проводимой комплексной терапии отмечалось купирование проявлений правожелудочковой недостаточности, нормализация биохимических показателей. По результатам инвазивного мониторинга давление в легочной артерии снизилось до 30 мм рт. ст., сопротивление малого круга кровообращения к моменту выписки составило 1,1 ед. Вуда. По данным эхокардиографии (ЭхоКГ) выявлено уменьшение конечного диастолического объема правого желудочка КДО ПЖ с 70 до 62 мл и увеличение ФВ ПЖ с 47,7 до 62% через 2 мес. Наше клиническое наблюдение демонстрирует высокую эффективность лечения острой правожелудочковой недостаточности инотропными средствами в сочетании с препаратами, снижающими сопротивление малого круга кровообращения.

Ключевые слова: трансплантация сердца, правожелудочковая недостаточность, вентавис, базинтан, силденафил.

SUCCESSFUL MEDICATION THERAPY OF ACUTE RIGHT VENTRICLE INSUFFICIENCY IN RECIPIENT WITH SIGNIFICANT PULMONARY HYPERTENSION AFTER HEART TRANSPLANTATION

Chernyavskiy A.M.¹, Doronin D.V.¹, Fomichev A.V.¹, Deryagin M.N.²

¹ Centre of aorta and coronary arteries surgery Federal state institution «Novosibirsk Research Institute of Circulation Pathology named by academician Meshalkin, Ministry of Health of the Russian Federation», Russian Federation

² Department of intensive care (in adult patients) Federal state institution «Novosibirsk Research Institute of Circulation Pathology named by academician Meshalkin, Ministry of Health of the Russian Federation», Russian Federation

Acute right ventricular failure in the early period after orthotopic heart transplantation is a severe complication and can often lead to a fatal outcome. This is especially important in patients with high pulmonary arteries

Для корреспонденции: Фомичев Алексей Вячеславович. Адрес: 630055, г. Новосибирск, ул. Речкуновская, 15. Тел. 8 (913) 487-29-65. E-mail: a_fomichev@list.ru.

For correspondence: Fomichev Alexey Vyacheslavovich. Address: 630055, Novosibirsk, Rechkunovskaya st., 15. Tel. 8 (913) 487-29-65. E-mail: a_fomichev@list.ru.

resistance. Drug therapy has shown effectiveness only for the treatment of primary pulmonary hypertension. Patient K., 23 years old with significant pulmonary hypertension (mean pulmonary artery pressure of 60 mm Hg, PVR – 6 Wood units) underwent orthotopic heart transplantation. Acute right ventricular failure occurred at early postoperative period which required multicomponent inotropic support. In order to reduce resistance of the pulmonary circulation the patient received sildenafil (daily dose 50 mg) in combination with inhaled Ventavis (5 mcg a dose every 3 hours) and receipt of Tracleer (bosentan) (at a dose of 125 mg per day). Complex drug therapy resulted in reduction of right ventricular failure, normalization of biochemical parameters. Invasive pulmonary artery pressure decreased to 30 mm Hg and pulmonary vascular resistance was 1.1 Wood units at the moment of discharge. We also revealed right ventricle end-diastolic volume reduction from 70 ml to 62 ml and ejection fraction of the right ventricle (RV EF) increased from 47,7% to 62% in 2 months. Our clinical observation demonstrates the high efficiency of acute right heart failure complex therapy including inotropic agents in combination with drugs that reduce the pulmonary vascular resistance.

Key words: heart transplantation, right ventricular failure, Ventavis, bosentan, sildenafil.

ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация сердца (ТС) – эффективный способ лечения терминальной стадии сердечной недостаточности. В мире ежегодно выполняется более 5000 трансплантаций сердца в более чем 300 странах [25]. Следует отметить значительное улучшение непосредственных и отдаленных результатов трансплантации сердца за последние 2 десятилетия. Острая правожелудочковая недостаточность в ранних сроках после ортотопической трансплантации сердца является грозным осложнением и зачастую может приводить к фатальному исходу. Это осложнение связано как со значительным повышением сопротивления малого круга у реципиента, так и с потерей сократительной способности в донорском сердце [8].

Наиболее эффективный способ борьбы с этим тяжелым осложнением – это подключение устройства для механической поддержки сердца с целью разгрузки правых отделов сердца или обхода правого желудочка. Но имплантация любого устройства для механической поддержки сердца на фоне иммуносупрессивной терапии несет высокую опасность развития септических осложнений [10]. Препараты для снижения легочного сосудистого сопротивления показали свою эффективность для лечения как первичной, так и вторичной легочной гипертензии [1, 6]. Вопрос о возможности применения и эффективности этих медикаментов при тяжелой сердечной недостаточности у кардиохирургических больных, в том числе после трансплантации сердца, до сих пор остается открытым.

Наше клиническое наблюдение демонстрирует высокую эффективность лечения острой правожелудочковой недостаточности инотропными средствами в сочетании с препаратами, снижающими сопротивление малого круга кровообращения.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Больному К. 23 лет выполнена ортотопическая трансплантация сердца. Предоперационный диа-

гноз: «дилатационная кардиомиопатия; относительная митральная и трикуспидальная недостаточность ХСН IIБ ст. III ФК (NYHA)».

Из анамнеза. В 2008 г. во время процедуры радиочастотной абляции дополнительных путей проведения по поводу WPW-синдрома возник ангинозный приступ, зарегистрирован передне-распространенный инфаркт миокарда, осложненный острой левожелудочковой недостаточностью (ФВ ЛЖ – 40%). Впоследствии выполнена коронарография, ангиопластика со стентированием передней нисходящей артерии. На фоне медикаментозного лечения удалось достичь стабилизации состояния, пациент выписан. С января 2009 г. – декомпенсация сердечной недостаточности с развитием правосторонней полисегментарной пневмонии, состояние удалось купировать медикаментозно. Однако в марте 2013 г. – повторное ухудшение состояния, госпитализация в клинику.

При поступлении по результатам эхокардиографии (ЭХО КГ) отмечалась выраженная дилатация левых отделов сердца: конечный диастолический объем левого желудочка (КДО ЛЖ) – 205 мл; конечный систолический объем левого желудочка (КСОЛЖ) – 151 мл; фракция выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) – 26%. При инвазивном мониторинге перед трансплантацией сердца систолическое давление в легочной артерии (СДЛА) составляло 60 мм рт. ст., легочное сосудистое сопротивление (ЛСС) – 6 ед. Вуда, без динамики при пробе с оксидом азота (табл. 1).

Трансплантация сердца выполнялась бикавальным способом [23]. Время искусственного кровообращения составило 170 мин, время ишемии трансплантата – 105 мин. Индукция иммуносупрессии выполнялась введением 20 мг симулекта (базилексимаб) перед операцией и на 4-е сутки после ТС, в сочетании с болюсным введением 1000 мг метилпреднизолона перед снятием зажима с аорты.

В раннем послеоперационном периоде у пациента развилась острая правожелудочковая не-

Таблица 1

Показатели центральной гемодинамики больного К. на момент трансплантации сердца

КДО ЛЖ, мл	КСО ЛЖ, мл	ФВ ЛЖ, %	КДО ПЖ, мл	КСО ПЖ, мл	ФВ ПЖ, %	СДЛА, мм рт. ст.	СВ, л/мин	ЛСС, ед. Вуда
205	151	21	124	96	23	60	2,6	6

достаточность, проявляющаяся в значительной дилатации правых отделов сердца (КДО ПЖ – 75 мл), повышенным давлением в легочной артерии (42/23 мм рт. ст.), гидротораксом, асцитом, выраженными отеками, тяжелыми нарушениями функции печени и поджелудочной железы. Для поддержания адекватного сердечного выброса проводилась продолжительная многокомпонентная кардиотропная стимуляция (адреналин 0,2 мкг/кг/мин, норадреналин 1,5 мкг/кг/мин, допамин 10 мкг/кг/мин, добутамин 5 мкг/кг/мин, мезатон 5 мг в сут) в течение 40 дней. С целью снижения сопротивления малого круга кровообращения больной получал силденафил (в суточной дозе 50 мг) в сочетании с ингаляциями вентависа (ингаляции в дозе 5 мкг каждые 3 часа) с помощью небулайзера и приемом траклира (базинтан) (в дозе 250 мг в сутки). Данная терапия продолжалась в течение 2 мес. В связи с развитием острой почечной недостаточности проводилась постоянная заместительная почечная терапия.

На фоне проводимой комплексной терапии отмечалось постепенное купирование проявлений правожелудочковой недостаточности, нормализация биохимических показателей. Инотропная поддержка полностью прекращена к 25-м сут. По данным ЭХО КГ выявлено уменьшение КДО ПЖ через 3 нед. до 53 мл. По результатам инвазивного мониторинга давление в легочной артерии (ЛА) снизилось с 42 до 30 мм рт. ст. на 11-е сут после операции, в последующем на фоне отмены вентависа и инотропной поддержки отмечено постепенное повышение давления в ЛА до 48 мм рт. ст. (рис.). Сопротивление малого круга кровообращения к моменту выписки составило 1,1 ед. Вуда (табл. 2).

Кроме того, происходило постепенное восстановление мочеиспускательной функции почек. По результатам динамического мониторинга почечного кровотока выявлено постепенное восстановление кровотока, снижение индекса сосудистого сопротивления к 50-м суткам после возникновения острой почечной недостаточности (ОПН) (табл. 2).

По результатам протокольной биопсии на 11-е сут данных за острое отторжение трансплантата не было. Данных за тромбоз легочной артерии и инфаркт миокарда по результатам инструментальных и лабораторных методов также не выявлено.

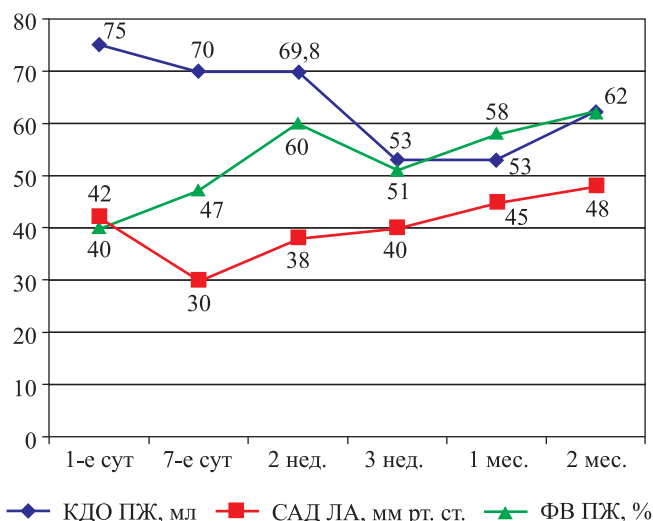


Рис. Динамика показателей функции правого желудочка в послеоперационном периоде

Таблица 2

Динамика показателей центральной гемодинамики у больного К. после трансплантации

Показатели	1 нед.	2 нед.	3 нед.	1 мес.	2 мес.
КДО ЛЖ, мл	40,7	64,1	67,6	71,2	64
ФВ ЛЖ, %	73	65	75	70	66
КДО ПЖ, мл	70	69,8	53,3	53,7	62
ФВ ПЖ, %	47,7	60	51	58	62
ЦВД, мм рт. ст.	26	17	14	12	10
САД ЛА, мм рт. ст.	30	38	40	45	48

ОБСУЖДЕНИЕ

Первичная дисфункция трансплантата является грозным осложнением, которое встречается в раннем послеоперационном периоде после трансплантации сердца. Оно проявляется как тяжелая желудочковая дисфункция донорского трансплантата и приводит к высокой летальности, достигающей 10–20% [12, 21]. Согласно данным Международного регистра трансплантации сердца и легкого (ISHLT), первичная дисфункция трансплантата остается единственной самой частой причиной смерти в течение первого месяца после ТС [24]. По мнению многих авторов, основной причиной развития этого тяжелого осложнения является острая реперфузионная ишемия с оглушением миокарда, возникающая как следствие подготовки, забора, гипотермической транспортировки и тепловой ишемии

трансплантата [20]. Имеются данные, что кардиомиоциты с возрастом теряют способность переносить реперфузионное повреждение [17]. Первичная дисфункция трансплантата может также возникать при обстоятельствах, когда донорское сердце не подвергается значительному реперфузионному повреждению. В этом случае основную роль оказывают неблагоприятные факторы реципиента, главным из которых является высокое сосудистое сопротивление малого круга кровообращения, формирующееся при терминальной хронической сердечной недостаточности [6, 16]. В этих условиях правый желудочек донорского сердца не способен преодолеть постнагрузку, вызванную повышенным легочным сопротивлением, что приводит к его острой перегрузке и тяжелой дисфункции.

Анализ изменений показателей центральной гемодинамики в послеоперационном периоде демонстрирует прогрессирование правожелудочковой недостаточности в течение первого месяца после операции (снижение давления в легочной артерии при высоком центральном венозном давлении (ЦВД)). Начиная с конца первого месяца после операции, функция правого желудочка начинает восстанавливаться, о чем говорит повышение давления в легочной артерии и снижение ЦВД.

Неблагоприятные факторы, как правило, не действуют изолированно, потому всегда необходимо рассматривать и лечить их в комплексе. В нашем случае время ишемии донорского сердца составило 160 мин, что, по мнению большинства авторов, не должно вызывать тяжелые реперфузионные повреждения. Кроме того, у реципиента исходно была высокая легочная гипертензия (СДЛА 60 мм рт. ст.) и значительное повышение сопротивления малого круга кровообращения (6 ед. Вуда) с плохой реакцией во время проведения пробы на резистентность сосудов малого круга кровообращения.

Лечение острой дисфункции трансплантата остается чрезвычайно сложной задачей, несмотря на проводимую интенсивную медикаментозную поддержку и широкое применение в последние годы циркуляторной поддержки (внутриаортальная баллонная контрпульсация, экстракорпоральная мембранная оксигенация (ЭКМО), системы механической поддержки сердца) [13, 15]. В более легких случаях лечение ограничивается большими дозами инотропных препаратов, включая катехоламины, ингибиторы фосфодиэстеразы и левосимендан, применяемые до восстановления сократительной способности трансплантата [3, 23].

При недостаточном эффекте от инотропной стимуляции и в случае высокого легочного сопротивления у реципиента эффективными могут оказаться средства, оказывающие сосудорасширяющее воздействие на малый круг кровообращения. Сосудо-

расширяющие средства, применяемые внутривенно, могут уменьшить легочное сосудистое сопротивление, но также оказывают выраженное воздействие на большой круг кровообращения. В последние годы появились препараты, оказывающие избирательное влияние на малый круг кровообращения. Эти препараты получили широкое распространение преимущественно для лечения первичной и вторичной легочной гипертензии [6]. Проведено несколько масштабных исследований по изучению влияния антагонистов эндотелина (базинтан) на гемодинамику и выживаемость у пациентов с клинически значимой сердечной недостаточностью. Удалось показать положительное влияние этих препаратов на легочную гемодинамику, без значимых отрицательных воздействий [7, 14]. Имеются также сведения относительно влияния ингибитора ФДЭ-5А (силденафил) на легочную гипертензию у больных с сердечной недостаточностью. В этих работах показано благоприятное воздействие силденафила на легочную гемодинамику, толерантность к физической нагрузке, а также качество жизни у больных с выраженной систолической дисфункцией. При этом по результатам исследований не выявлено серьезных побочных эффектов [2, 11]. Кроме того, имеются единичные сведения, демонстрирующие высокую эффективность силденафила в лечении острой дисфункции правого желудочка после трансплантации сердца [5]. Но наибольшую эффективность демонстрирует использование аэрозольного аналога простациклина длительного действия вентавис (илопрост), как для лечения первичной легочной и постэмболической гипертензии [18], так и для коррекции легочной гипертензии при тяжелой сердечной дисфункции [4, 25] и после трансплантации сердца [9, 23]. Эффективность этого препарата обусловлена преимуществами ингаляционного пути назначения. Илопрост воздействует на прекапиллярные резистивные легочные сосуды, окруженные поверхностью альвеол, что обеспечивает селективное действие препарата.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в тяжелых случаях правожелудочковой недостаточности после трансплантации сердца, когда исходная легочная гипертензия не только провоцирует, но и поддерживает правожелудочковую недостаточность, помимо кардиотоников направленного действия (добутрекс, милринон) возможно комбинированное использование препаратов, которые разнонаправленно действуют на сопротивление малого круга кровообращения. Силденафил – ингибитор ФДЭ-5А, траклир (базинтан) – ингибитор эндотелина, вентавис (илопрост) – синтетический аналог простациклина. Использование блокаторов эндотелина в сочетании

с легочными вазодилататорами и избирательными кардиотропными препаратами (добутамин) является высокоэффективным методом лечения острой правожелудочковой недостаточности у больных после трансплантации сердца.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Чернявский АМ, Ломиворотов ВВ, Бобошко ВА, Корнилов ИА, Князькова ЛГ. Сравнительная оценка профилактического использования внутриаортальной баллонной контрпульсации и левосимендана у пациентов с ИБС с низкой фракцией выброса левого желудочка. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2011; 2: 49–54. Chernyavskiy AM, Lomivorotov VV, Boboshko VA, Kornilov IA, Knyaz'kova LG. Sravnitel'naya otsenka profilakticheskogo ispol'zovaniya vnutriaortal'noy ballonnoy kontrpul'satsii i levosimendana u patsientov s IBS s nizkoy fraktsiey vybrosa levogo zheludochka. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardio-khirurgiya*. 2011; 2: 49–54.
2. Behling A, Rohde LE, Colombo FC et al. Effects of 5'-phosphodiesterase four-week long inhibition with sildenafil in patients with chronic heart failure: a double-blind, placebo-controlled clinical trial. *J Card Fail*. 2008; 14 (3): 189–197.
3. Beiras-Fernandez A, Weis FC, Fuchs H et al. Levosimendan treatment after primary organ failure in heart transplantation: a direct way to recovery? *Transplantation*. 2006; 82 (8): 1101–1103.
4. Braun S, Schrotter H, Schmeisser A, Strasser RH. Evaluation of pulmonary vascular response to inhaled iloprost in heart transplant candidates with pulmonary venous hypertension. *Int J Cardiol*. 2007; 115 (1): 67–72.
5. De Santo LS, Mastroianni C, Romano G et al. Role of sildenafil in acute posttransplant right ventricular dysfunction: successful experience in 13 consecutive patients. *Transplant. Proc*. 2008; 40 (6): 2015–2018.
6. Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. The task force for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension of the ECS and ERS, endorsed by the ISHLT. *Eur. Heart J*. 2009; 30: 2493–2537.
7. Kalra PR, Moon JC, Coats AJ. Do results of the ENABLE (Endothelin Antagonist Bosentan for Lowering Cardiac Events in Heart Failure) study spell the end for non-selective endothelin antagonism in heart failure? *Int. J. Cardiol*. 2002; 85 (2–3): 195–197.
8. Kirklin JK, Naftel DC, Kirklin JW et al. Pulmonary vascular resistance and the risk of heart transplantation. *J. Heart Transplant*. 1988; 7: 331–335.
9. Langer F, Wendler O, Wilhelmf W et al. Treatment of a case of acute right heart failure by inhalation of iloprost, a long-acting prostacyclin analogue. *European Journal of Anaesthesiology*. 2001; 18: 770–773.
10. Larry M. Baddour, M.D., Yong-Mei Cha, M.D., and Walter R. Wilson, M.D. Infections of Cardiovascular Implantable Electronic Devices. *N Engl J Med*. 2012; 367: 842–849.
11. Lewis GD, Shah R, Shahzad K et al. Sildenafil improves exercise capacity and quality of life in patients with systolic heart failure and secondary pulmonary hypertension. *Circulation*. 2007; 116 (14): 1555–1562.
12. Lima B, Rajagopal K, Petersen RP et al. Marginal cardiac allografts do not have increased primary graft dysfunction in alternate list transplantation. *Circulation*. 2006; 114 (1): 127–132.
13. Listijono R, Watson A, Pye R et al. Usefulness of extracorporeal membrane oxygenation for early cardiac allograft dysfunction. *Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2011; 30 (7): 783–789.
14. Luscher TF, Enseleit F, Pacher R et al. Hemodynamic and neurohumoral effects of selective endothelin A (ET(A)) receptor blockade in chronic heart failure: the Heart Failure ET(A) Receptor Blockade Trial (HEAT). *Circulation*. 2002; 106 (21): 2666–2672.
15. Marasco SF, Vale M, Pellegrino V et al. Extracorporeal membrane oxygenation in primary graft failure after heart transplantation. *Annals of Thoracic Surgery*. 2010; 90 (5): 1541–1546.
16. Murali S, Kormos RL, Uretsky BF et al. Preoperative pulmonary hemodynamics and early mortality after orthotopic cardiac transplantation: the Pittsburgh experience. *American Heart Journal*. 1993; 126 (4): 896–904.
17. O'Brien JD, Ferguson JH, Howlett SE. Effects of ischemia and reperfusion on isolated ventricular myocytes from young adult and aged Fischer 344 rat hearts. *American Journal of Physiology*. 2008; 294 (5): H2174–H2183.
18. Olschewski H, Hoeper MM, Behr J et al. Long-term therapy with inhaled iloprost in patients with pulmonary hypertension. *Respir. Med*. 2010; 104: 731–740.
19. Oto T, Excell L, Griffiths AP et al. Association between primary graft dysfunction among lung, kidney and heart recipients from the same multiorgan donor. *American Journal of Transplantation*. 2008; 8 (10): 2132–2139.
20. Russo MJ, Iribarne A, Hong KN et al. Factors associated with primary graft failure after heart transplantation. *Transplantation*. 2010; 90 (4): 444–450.
21. Sarsam MA, Campbell CS, Yonan NA et al. An alternative technique in orthotopic cardiac transplantation. *J. Card. Surg*. 1993; 8: 344–349.
22. Scheiermann P, Beiras-Fernandez A, Mutlak H, Weis F. The protective effects of levosimendan on ischemia/reperfusion injury and apoptosis. *Recent Patents on Cardiovascular Drug Discovery*. 2011; 6 (1): 20–26.
23. Schroeder RA, Wood GL, Plotkin JS, Kuo PC. Intraoperative use of inhaled PGI₂ for acute pulmonary hypertension and right ventricular failure. *Anesth. Analg*. 2000; 91: 291–295.
24. Stehlik J, Edwards LB, Kucheryavaya AY et al. The registry of the international society for heart and lung transplantation: twenty-seventh official adult heart transplant report 2010. *Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2010; 29 (10): 1089–1103.
25. Torres Macho J, Delgado Jimenez JF, Sanz Salvo J et al. Effect of different pharmacologic agents to reverse severe pulmonary hypertension among end-stage heart failure patients. *Transplant. Proc*. 2009; 41 (6): 2477–2479.

Статья поступила в редакцию 18.09.2014 г.

DOI: 10.15825/1995-1191-2014-4-106-110

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ЛЕВОЙ ДОЛИ ПЕЧЕНИ ОТ АВ0-НЕСОВМЕСТИМОГО РОДСТВЕННОГО ДОНОРА С ТРАНСПОЗИЦИЕЙ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ (SITUS INVERSUS)

Готье С.В., Цирульникова О.М., Ахаладзе Д.Г., Монахов А.Р., Хизроев Х.М.,
Цирульникова И.Е., Мещеряков С.В., Джанбеков Т.А., Саранов Г.А., Абрамова Н.Н.

ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава РФ, Москва, Российская Федерация

Транспозиция внутренних органов (situs viscerum inversus) является редкой аномалией, встречающейся приблизительно у 0,005% новорожденных. Традиционно это состояние рассматривается как противопоказание к донорству фрагментов печени, прежде всего ввиду особенностей сосудистой анатомии и сложностей при расположении трансплантата в брюшной полости реципиента. Данные мировой литературы свидетельствуют лишь о пяти случаях использования трансплантата печени от посмертного донора с транспозицией внутренних органов взрослым реципиентам и только об одном случае прижизненного донорства инвертированной правой доли печени 53-летнему мужчине. Таким образом, в педиатрической практике трансплантация инвертированной левой доли выполнена впервые. В статье представлен успешный опыт трансплантации печени ребенку, страдающему тирозинемией 1-го типа от АВ0-несовместимого родственного донора с транспозицией внутренних органов.

Ключевые слова: родственный донор, транспозиция внутренних органов, трансплантация левой доли печени.

LEFT LOBE LIVER TRANSPLANTATION FROM AB0-INCOMPATIBLE LIVING DONOR WITH SITUS INVERSUS

Gautier S.V., Tsirolnikova O.M., Akhaladze D.G., Monakhov A.R., Khizroev Kh.M.,
Tsirolnikova I.E., Meshcheryakov S.V., Dzhanbekov T.A., Saranov G.A., Abramova N.N.

V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

Situs inversus is a rare congenital abnormality that affects approximately 0.005% of all live births. Traditionally, this condition is considered as a contraindication for liver donation, primarily due to the peculiarities of the vascular anatomy and the difficulties in graft placement in the abdominal cavity. Review of the world literature testifies to five cases of use of the whole liver from deceased donor with situs inversus in adult recipients, and to just one case of inverted right lobe transplantation from living donor to 53-year-old man. Thus, transplantation of an inverted left liver lobe from a living related donor in pediatric patients was performed for the first time. The article presents a successful experience of liver transplantation in child with tyrosinemia type 1 from AB0-incompatible living donor with situs inversus.

Key words: living donor, situs inversus, left lobe liver transplantation.

Транспозиция внутренних органов (ТВО) – крайне редкое врожденное состояние, характеризующееся обратным (зеркальным) расположением внутренних органов. Впервые подобная аномалия была описана Фабрициусом в 1600 г. Частота ее встречаемости варьирует, по данным разных источ-

ников, от 1 : 20 000 до 1 : 10 000. Чаше ТВО обнаруживается случайно при выполнении каких-либо диагностических исследований. Кроме того, ТВО может быть ассоциирована с такими наследственными болезнями, как синдром Картегенера, а также с различными аномалиями строения сердца и

Для корреспонденции: Ахаладзе Дмитрий Гурамович. Адрес: 123182, г. Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. +7 (963) 644-96-27. E-mail: blissout_surg@yahoo.com.

For correspondence: Akhaladze Dmitrii Guramovich. Address: 1, Shchukinskaya st., Moscow, 123182, Russian Federation. Tel. +7 (963) 644-96-27. E-mail: blissout_surg@yahoo.com.

мальротацией кишечника. Однако при отсутствии наследственных заболеваний, которые могут быть ассоциированы с ТВО, это состояние не приводит к каким-либо функциональным нарушениям.

На сегодняшний день в мировой клинической практике описаны 5 случаев трансплантации печени от посмертного донора с ТВО. Впервые в 1995 г. Asfaretal сообщил о трансплантации печени от донора с ТВО, однако реципиент скончался от послеоперационных внепеченочных осложнений. Основные хирургические сложности имплантации донорского органа заключаются в выполнении кавальной реконструкции. В 2 случаях анастомоз с сохраненной нижней поллой веной реципиента сформирован по методике piggyback, в 2 случаях использована классическая методика с ротацией трансплантата вокруг оси нижней поллой вены против часовой стрелки (в одном случае 90 градусов, в другом 180), и в одном случае использована классическая методика без ротации трансплантата.

О выполнении трансплантации фрагмента печени от живого родственного донора существует лишь сообщение Jae Min Chunetal (Сеул, Корея), который в 2007 г. выполнил трансплантацию инвертированной правой доли взрослому реципиенту, при этом трансплантат был расположен в правом поддиафрагмальном пространстве, а раневая поверхность была обращена к заднему своду диафрагмы.

Представленное описание клинического случая касается периоперационного периода и хирургической техники имплантации инвертированной левой доли печени от АВ0-несовместимого донора с ТВО ребенку в возрасте 4 лет 4 месяцев, страдающему циррозом печени в исходе тирозинемии Ib типа.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Анамнез. Ребенок от 1-й беременности, протекавшей на фоне хронической внутриутробной гипоксии плода. Роды первые, через естественные родовые пути. Масса тела при рождении составила 2940 г, рост 50 см. С первого года жизни появилась тенденция к деформации голеней. В 1 год 11 месяцев при спиральной компьютерной томографии органов брюшной полости выявлены признаки диффузной жировой дистрофии печени, спленомегалия. В декабре 2013 г. пациентка госпитализирована в педиатрический стационар, где выявлены мутации гена *FAN*, которые могут приводить к развитию тирозинемии 1-го типа. В ходе обследования верифицирована наследственная тирозинемия Ib типа на основании высокого уровня сукцинилацетона (25 ммоль/л). Диагноз подтвержден молекулярно-генетическим методом. Отмечались гипоальбуминемия и нарастание асцита. Проводилась симптоматическая терапия, достигнута умеренная

положительная динамика, и ребенок направлен на обследование для решения вопроса о наличии показаний к трансплантации печени. В августе 2014 г. ребенок поступил в хирургическое отделение № 2.

При поступлении: вес 16 кг, рост 92 см, группа крови 0(I), резус-фактор положительный. Состояние ребенка тяжелое по основному заболеванию. Тяжесть состояния обусловлена гепатодепрессивным, холестатическим синдромами. Не лихорадила. Кожные покровы обычной окраски, чистые от островоспалительных элементов. Аускультативно: в легких дыхание пуэрильное, проводилось равномерно во все отделы, хрипы не выслушивались. Тоны сердца звучные, ритмичные, частота сердечных сокращений – 110 уд./мин, АД – 100/75 мм рт. ст. Живот несколько увеличен в размерах, мягкий, безболезненный во всех отделах, без перитонеальных знаков. Стул был регулярным, окрашенным. Дизурии не отмечалось.

По данным лабораторных исследований, имело место повышение уровня ферментов холестаза (щелочная фосфатаза – 870 ед./л, гамма-глутаминтранспептидаза – 124 ед./л), синтетическая функция печени снижена (общий белок 55 г/л, альбумин 29,2 г/л, протромбиновый индекс 64%); в клиническом анализе крови лейкоциты $6,2 \times 10^9$ /л, лейкоцитарная формула – без особенностей, тромбоциты – 198 тыс., гемоглобин – 116 г/л. α -фетопrotein 4000 ед./л.

При эзофагогастродуоденоскопии выявлена язва луковицы двенадцатиперстной кишки. При повторном исследовании, выполненном после проведения курса противоязвенной терапии, изменений слизистой оболочки верхних отделов желудочно-кишечного тракта не обнаружено.

Ультразвуковое исследование органов брюшной полости. Печень уменьшена в размере. Контуры неровные. Левая доля 4,6 см, правая доля 6,8 × 9,81 см. Паренхима диффузно неоднородная, за счет округлых гипоехогенных образований с четкими контурами, разного диаметра, сосудистый рисунок обеднен. Желчные протоки без особенностей. Внутривенные протоки не расширены, динамические характеристики кровотоков печени в пределах допустимых величин. Селезенка 9,1 × 2,9 см, площадь 27,06 см² – умеренная спленомегалия для данного возраста.

Спиральная компьютерная томография органов брюшной полости. Обнаружены диффузные изменения паренхимы печени, вариант артериальной анатомии печени. Правая доля печени кровоснабжается ветвью из бассейна верхней брыжеечной артерии. Косвенные признаки портальной гипертензии (наличие коллатералей между левой ветвью воротной вены и передней брюшной стенкой, реканализация пупочной вены), в том числе спленомегалия.

При исследовании других органов и систем патологических изменений не выявлено.

В качестве потенциальных родственных доноров обследовались совместимые по группе крови тетка и отец пациентки, у которых были выявлены противопоказания к донорству. В качестве единственного возможного донора выступила AB0-несовместимая мать ребенка (группа крови B (III) Rh положительный). При обследовании этого донора была выявлена транспозиция внутренних органов (*situs inversus totalis*), подтвержденная данными спиральной компьютерной томографии органов грудной клетки и брюшной полости. В связи с наличием ТВО обследование донора назначалось также с целью выявления сосудистых факторов риска врожденного характера, например аневризмы сосудов головного мозга. По результатам комплексного обследования донора нарушений здоровья не выявлено. Перекрестная лимфоцитотоксическая проба с реципиентом была отрицательной, при трех несовпадениях по системе HLA. При КТ-волюметрии объем всей печени потенциального донора составил 895 мл. Объем правой доли печени, которая в норме соответствовала левой доле, составил 392 мл, что позволяло использовать ее в качестве трансплантата. Отношение массы трансплантата к весу реципиента при этом составляло 1,95%.

У ребенка определялись антигрупповые антитела, титр естественных антигрупповых антител 1 : 128, иммунных 1 : 32. Десенсибилизирующая терапия включала в себя инфузию ритуксимаба и 10 сеансов плазмафереза, а также трансфузии свежесзамороженной плазмы AB(IV). На фоне проводимой терапии титр естественных антител снизился до 1 : 4, иммунных – до 1 : 2.

Операция. При ревизии брюшной полости у донора подтверждено зеркальное расположение органов (рис. 1).

Гемигепатэктомия справа выполнена с использованием стандартной техники. Получен трансплантат левой доли, имеющий раздельные устья печеночных вен, ветвь воротной вены, долевую печеночную артерию и долевой желчный проток. После завершения холодовой перфузии трансплантата консервирующим раствором на отдельном столике медиальные стенки срединной и левой печеночной вены объединены для получения единого венозного устья (рис. 2).

После гепатэктомии с сохранением нижней полой вены у реципиента (вид печени ребенка представлен на рис. 3) трансплантат помещен в правое поддиафрагмальное пространство, а раневая поверхность его была обращена медиально (рис. 4). Сформирован гепатико-кавальный анастомоз между общим устьем печеночных вен трансплантата и общим устьем объединенных трех пече-

ночных вен реципиента. Далее последовательно осуществлена портальная и артериальная реваскуляризация трансплантата. Билиарная реконструкция осуществлена путем гепатикоеюностомии с выключенной по Ру петлей тощей кишки.

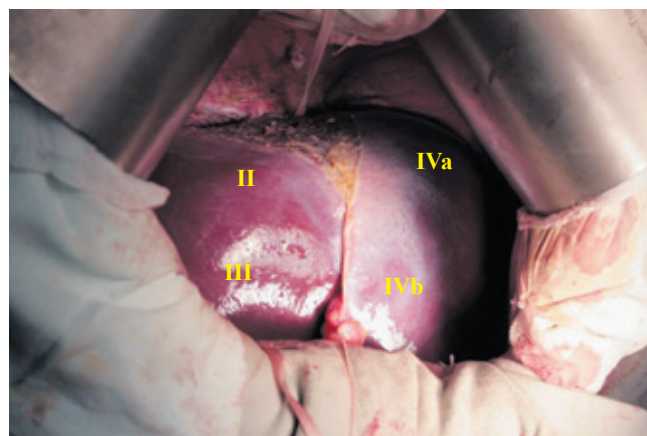


Рис. 1. Интраоперационная фотография печени донора с ТВО (указаны II, III, IVa и IVb сегменты печени)

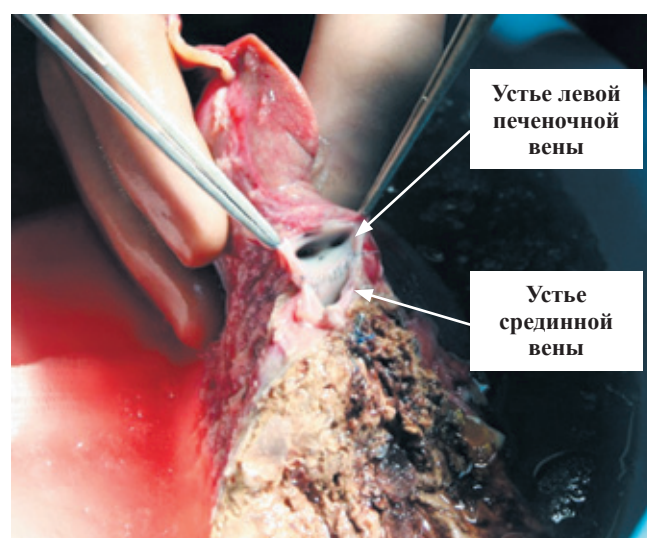


Рис. 2. Объединенные устья левой и срединной печеночных вен трансплантата



Рис. 3. Интраоперационная фотография цирротически измененной печени реципиента

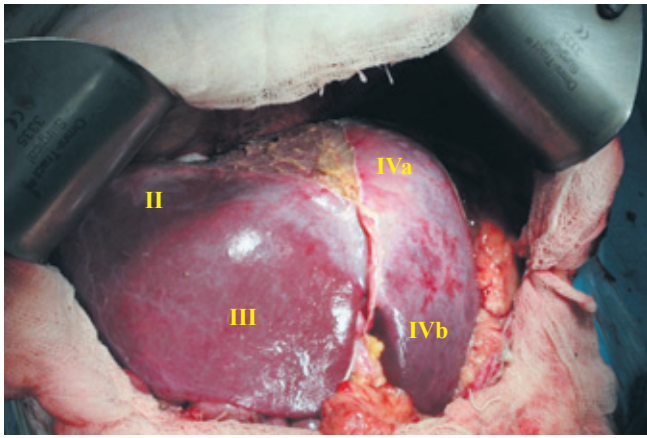


Рис. 4. Положение трансплантата левой доли печени в брюшной полости реципиента

Послеоперационный период. На 0-е сутки отмечался подъем титра антигрупповых антител (естественные 1 : 4, иммунные 1 : 4), в связи с чем проведен сеанс плазмафереза. Титр антигрупповых антител снизился (естественные до 1 : 2, иммунные не определяются) и в дальнейшем не повышался.

В послеоперационном периоде ребенок получал стандартную консервативную терапию, проводилось ежедневное мониторирование лабораторных показателей, данных УЗИ органов брюшной полости. Иммуносупрессивный протокол у ребенка включал такролимус, метилпреднизолон и микофенолата мофетил. Отмечалось гладкое течение раннего послеоперационного периода. Функция трансплантата удовлетворительная. Ребенок выписан на 23-и сутки после трансплантации.

Мать ребенка не демонстрировала каких-либо осложнений в послеоперационном периоде, на 8-е послеоперационные сутки отмечается нормализация лабораторных показателей, выписана на 12-й день после операции.

Заключение морфологического исследования удаленной печени

Макроморфологическое исследование: печень массой 390 г, размерами 16 × 14 × 7 × 3 см, поверхность розово-коричневая, мелкозернистая, с диффузными бугорками диаметром 0,2–0,6 см. На разрезе паренхима бледно-коричневого цвета, с диффузными бугорками диаметром 0,8–2,5 см. Желчный пузырь в ложе. В просвете желчного пузыря около 5 мл вязкой желто-коричневой желчи. Слизистая пузыря бархатистая, красно-коричневого цвета.

Гистологическое исследование: дольковое и балочное строение печени нарушено. Гепатоциты в состоянии выраженной диффузной белковой дистрофии. Имеется полиморфизм ядер гепато-

цитов. Встречаются крупные очаги дистрофии гепатоцитов вплоть до некрозов. Очаговое полнокровие и расширение синусоидов. Портальные тракты расширены за счет фиброза. Узкие porto-портальные и porto-центральные фиброзные септы. Портальные артерии и вены без особенностей. Проплиферация желчных протоков в портальных трактах и септах. Очаговая лимфоидноклеточная инфильтрация портальных трактов и септ легкой степени.

Заключение: цирроз печени в исходе тирозинемии.

ОБСУЖДЕНИЕ

Данное клиническое наблюдение представляет научный и практический интерес с двух точек зрения:

- 1) использование анатомической доли печени донора с ТВО;
- 2) преодоление АВ0-несовместимости.

Известно, что родственная трансплантация печени имеет преимущества в первую очередь с точки зрения возможного расширения пула донорских органов, а также выбора оптимального донора. В описанном наблюдении мы столкнулись с обратной ситуацией – необходимостью использовать единственный возможный вариант. И если принципы подготовки АВ0-несовместимых реципиентов достаточно широко обсуждаются в специализированной литературе, то описания хирургических особенностей имплантации фрагментов печени от живого родственного донора с транспозицией внутренних органов единичны. Очевидно, что принятие решения об использовании донора с ТВО предполагает исключение возможных противопоказаний, а именно пороков развития сердечно-сосудистой системы, желудочно-кишечного тракта и других, способных осложнить как саму операцию, так и течение послеоперационного периода. Наше наблюдение показало, что при имплантации доли печени, учитывая топографию печеночных вен трансплантата и сосудисто-секреторной ножки, целесообразно было помещать его в правое поддиафрагмальное пространство (в позицию правой доли удаленной печени). Такое расположение обеспечило адекватные условия для формирования сосудистых и билиодигестивного анастомозов и позволило не ротировать трансплантат на 180° с целью его расположения в ортотопической позиции.

В описанном клиническом случае демонстрируется возможность использования родственного донора с ТВО для реципиента-ребенка с указанными параметрами при условии отсутствия противопоказаний к донорству и соблюдения ряда хирургических маневров, изложенных выше.

Комплексная и исчерпывающая оценка потенциального родственного донора позволяет минимизировать риски операции, что является важнейшим принципом, лежащим в основе прижизненного донорства органов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Готье СВ, Ахаладзе ДГ. Технические аспекты сосудистой реконструкции при трансплантации левого латерального сектора печени взрослого донора в педиатрической практике. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2012; XIV, No 1: 86–94. Gautier SV, Akhaladze DG. Tekhnicheskie aspekty sosudistoï rekonstruktsii pri transplantatsii levogo lateral'nogo sektora pecheni vzroslogo donora v pediatricheskoï praktike. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov = Russian Journal of Transplantation and Artificial Organs*. 2012; XIV, No 1: 86–94.
2. Готье СВ, Константинов БА, Цирульникова ОМ. Трансплантация печени. 2008; 73–74. Gautier SV, Konstantinov BA, Tsirul'nikova OM. Transplantatsiya pecheni. 2008; 73–74.
3. Цирульникова ИЕ, Шевченко ОП. АВ0-несовместимая трансплантация печени у детей: анализ мирового опыта. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2012; XIV, No 4: 115–123. Tsirul'nikova IE, Shevchenko OP. АВ0-nesovmestimaya transplantatsiya pecheni u detei: analiz mirovogo opyta. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov = Russian Journal of Transplantation and Artificial Organs*. 2012; XIV, No 4: 115–123.
4. Al Jumaily M, Hoche F. Laparoscopic cholecystectomy in situs inversus totalis: is it safe? *Journal of Laparoscopic and Advanced Surgical Techniques: Part A*. 2001; 11 (4): 229–231.
5. Asfar S, Ozcay N, Grant D, Wall W. Transplantation of the liver from a donor with complete situs inversus and dextrocardia. *Transplantation*. 1995; 59: 442–444.
6. Braun F, Rodeck B, Lorf T, Canelo R, Wietzke P, Hartmann H et al. Situs inversus of donor or recipient in liver transplantation. *TransplInt*. 1998; 11: 212–215.
7. Cheikhelard A, De Lagausie P, Garel C, Maintenant J, Vuillard E, Blot P, Aigrain Y. Situs inversus and bowel malrotation: Contribution of prenatal diagnosis and laparoscopy. *J PediatrSurg*. 2000; 35: 1217–1219.
8. Chun JM, Jung GO, Choi GS et al. Living donor liver transplantation using a graft from a donor with situs inversus totalis. *Liver Transplantation*. 2009; 15 (6): 666–669.
9. Cleveland M. Situs inversus viscerum an anatomic study. *Arch Surg*. 1926; 13 (3): 343–368.
10. Dou J, Yang T, Cao J.-L, Gao Q.-J, Su Y.-L, Zhu Z.-J. Classical orthotopic liver transplantation from a donor with situs inversus totalis using slight rotation of the liver graft. *Chinese Medical Journal*. 2010; 123 (10): 1353–1355.
11. Herrera LA, Castillo J, Martino E, Rabanal JM, Fleitas MG. Orthotopic liver transplantation from a donor with abdominal situs inversus. *Transplantation*. 1996; 62: 133–135.
12. Mayo CW, Rice RG. Situs inversus totalis: a statistical review of data on seventy-six cases with special reference to disease of the biliary tract. *Arch Surg*. 1949; 58: 724–730.
13. Mittal V, Shah A. Situs Inversus Totalis: The Association of Kartagener's Syndrome With Diffuse Bronchiolitis and Azoospermia. *Arch Bronconeumol*. 2012; 48 (5): 179–182.
14. Polak WG, Chudoba PJ, Patrzalek D, Szyber P. Organ donor with complete situs inversus. Case report and review of the literature. *Ann Transplant*. 2006; 11: 43–46.
15. Pomposelli JJ, DaCosta MA, McPartland K, Jenkins RL. Retroversus implantation of a liver graft: a novel approach to the deceased donor with situs inversus totalis. *Am J Transplant*. 2007; 7: 1869–1871.

Исследование частично профинансировано
грантом Президента РФ по государственной
поддержке ведущих научных исследований.
НИ-6294.2014.7

Статья поступила в редакцию 27.10.2014 г.

DOI: 10.15825/1995-1191-2014-4-111-116

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ АЛЛОГЕННОЙ ПОЧКИ ПАЦИЕНТУ С ГЕМОФИЛИЕЙ В

Пурло Н.В.¹, Ахметшин Р.Б.², Буланов А.Ю.³, Лихачева Е.А.⁴, Бирюкова Л.С.¹

¹ Научно-клиническое отделение гемодиализа и полиорганной патологии

ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава РФ, Москва, Российская Федерация

² Хирургическое отделение трансплантологии ГБУЗ МО «МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского», Москва, Российская Федерация

³ Отдел анестезиологии, реаниматологии и интенсивной терапии ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава РФ, Москва, Российская Федерация

⁴ Научно-клиническое отделение коагулопатий ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава РФ, Москва, Российская Федерация

Представляем случай успешной трансплантации аллогенной почки 56-летнему пациенту с гемофилией В в Гематологическом научном центре. Пациенту проводилась заместительная терапия IX фактором с 2010 г. Трансплантат функционирует в течение 13 месяцев после трансплантации почки без эпизодов отторжений и кровотечений. Возможно выполнение сложных хирургических вмешательств пациентам с гемофилией В и терминальной стадией хронической почечной недостаточности при назначении заместительной терапии IX фактором с целью достижения оптимального гемостаза.

Ключевые слова: гемофилия В, терминальная стадия хронической почечной недостаточности, трансплантация почки, фактор IX.

RENAL ALLOGENEIC TRANSPLANTATION IN PATIENT WITH HAEMOPHILIA B

Purlo N.V.¹, Achmetshin R.B.², Bulanov A.J.³, Likhacheva E.A.⁴, Birjukova L.S.¹

¹ Unit of Hemodialysis and Multiorgan Pathology, Hematology Research Center of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

² Surgical Unit of Transplantology, M.F. Vladimirovsky Moscow Regional Research Clinical Institute, Moscow, Russian Federation

³ Department of Anesthesiology, Reanimatology and Intensive Therapy, Hematology Research Center of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

⁴ Unit of Coagulopathy, Hematology Research Center of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

We report the case of successful renal allogeneic transplantation and treatment in a 56-year-old patient with haemophilia B at Hematology Research Center. He has received replacement therapy by factor IX since 2010. The transplant is marked with good renal function during 13 post-transplant months without episodes of rejection or bleeding complications. The complicated surgical interventions are possible in patients with haemophilia B and end-stage chronic renal failure in the presence of replacement therapy of IX factor for the purpose of achievement of optimum hemostasis.

Key words: hemophilia B, end-stage chronic renal failure, kidney transplantation, factor IX.

ВВЕДЕНИЕ

Гемофилия В (болезнь Кристмаса) – наследственное, сцепленное с полом заболевание крови, обусловленное недостаточностью коагуляционно-

го фактора IX и проявляющееся рецидивирующими кровотечениями. Это могут быть массивные кровоизлияния в суставы, мышцы или внутренние органы, которые происходят либо спонтанно, либо

Для корреспонденции: Пурло Наталья Владимировна. Адрес: 125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, д. 4. Тел. 8 (495) 613-24-68. E-mail: n-purlo@yandex.ru.

For correspondence: Purlo Natalia Vladimirovna. Address: 4 Noviy Zykovsky pr., Moscow, 125167, Russian Federation. Tel. 8 (495) 613-24-68. E-mail: n-purlo@yandex.ru.

в результате случайных травм или операций. Частота появления гемофилии В составляет один на 25 000–30 000 новорожденных мальчиков. При этом гемофилия В встречается примерно в 5 раз реже, чем гемофилия А [1].

Ранее заместительная терапия при гемофилии В осуществлялась концентратом нативной плазмы или свежезамороженной плазмой, однако невозможность использовать необходимые объемы вещества и отсутствие стандартизации препятствовала достижению безопасного уровня фактора в крови. В настоящее время основным и наиболее эффективным способом лечения кровотечений у пациентов, страдающих гемофилией В, является заместительная терапия концентратами коагуляционного фактора IX, плазматическими (pFIX) и рекомбинантными (rFIX) факторами. Другие гемостатические препараты в большинстве клинических ситуаций следует рассматривать лишь как вспомогательные.

Фактор IX представляет собой одноцепочечный гликопротеин с молекулярной массой около 68 000 дальтон. Он синтезируется в печени и является К-зависимым фактором свертывания. Заместительная терапия препаратами IX фактора повышает его плазменный уровень в крови, позволяет временно корректировать дефицит фактора.

Одна МЕ активности IX фактора эквивалентна активности IX фактора, содержащегося в 1 мл нормальной человеческой плазмы. Расчет дозы вводимого IX фактора производится по следующей формуле:

$$\text{Необходимая доза} = \text{масса тела (кг)} \times \text{желаемое повышение уровня IX фактора (\%)} \times 1,2.$$

Адекватная дозировка зависит от объема плазмы, уровня фактора в крови на момент лечения, активности используемого препарата и степени восстановления его активности при подготовке к введению [2] (табл. 1).

Таблица 1
Рекомендуемые дозы концентратов F IX при лечении гемофилии В

Тип кровотечения	Средние дозы (МЕ F IX /кг)	Учет эффекта
Острые гемартрозы и обширные гематомы	20–35	Повышение уровней F IX на 30–60%
Хирургическое вмешательство и кровотечения, угрожающие жизни	40–60	Повышение уровней F IX на 60–100%

Для снижения вероятности кровоточивости, учитывая относительно короткий период полужизни препаратов фактора IX, их назначение требуется 2–3 раза в неделю. Современные биоинженерные технологии позволяют разрабатывать новые моди-

фицированные рекомбинантные препараты факторов свертывания крови с более продолжительным периодом полужизни [3, 4].

Кроме нарушений гемостаза у больных гемофилией существует проблема патологии мочевыводящей системы: папиллярный некроз, гидронефроз, обструктивные поражения мочевых путей, канальцевые нарушения (гиперкальциурия в результате использования цитрата, содержащего криопреципитат), стойкие почечные кровотечения (гематурия), пиелонефрит, вторичные инфекции, гломерулопатии иммунного (контаминация вирусными гепатитами) и неиммунного характера (постоянная перегрузка белковыми препаратами), артериальная гипертензия. Любое из вышеперечисленных нарушений может приводить в конечном итоге к развитию хронической почечной недостаточности.

В зарубежной литературе встречаются единичные клинические случаи трансплантации трупной почки пациентам с гемофилией А и хронической почечной недостаточностью [5, 6].

В первом случае пациенту с диагнозом «гемофилия А, средней степени тяжести» дважды выполнялись операции трансплантации почки. Из анамнеза известно, что начиная с 5-летнего возраста частым признаком при сохранной функции почек являлась гематурия. Анемия и протеинурия впервые обнаружены в возрасте 13 лет. Гемодиализ был начат в 15-летнем возрасте. Трансплантация аллогенной трупной почки выполнена через три месяца после начала лечения гемодиализом. В раннем послеоперационном периоде развилось массивное внутрипузырное кровотечение, осложнившееся тампонадой мочевого пузыря. Аллотрансплантат удален через 3 мес., и пациент находился в течение восьми лет на домашнем гемодиализе. Вторая трансплантация трупной почки выполнена в 23-летнем возрасте. Послеоперационный период повторно протекал с осложнениями в виде развития массивной забрюшинной гематомы и тампонады мочевого пузыря, которые стали большой проблемой после трансплантации. На момент описания данного клинического наблюдения почечный аллотрансплантат функционировал в течение 27 мес. Фактор VIII колебался от 5 до 40% на фоне трансфузионной поддержки [7].

Во втором случае пациенту в возрасте 37 лет была выполнена трансплантация почки. Ему проводилась заместительная терапия препаратом VIII фактора перед оперативным вмешательством и в послеоперационном периоде в течение 21 дня. Активность VIII фактора поддерживалась на уровне 80% во время оперативного вмешательства и последующие 3 дня, затем уровень фактора колебался на уровне 30–60%. В дальнейшем трансплантат функционировал на протяжении 28 мес. без эпизодов от-

торжения трансплантата и кровотечений на момент описания клинического случая [8].

В работах отечественных авторов подобных наблюдений мы не встречали.

В Гематологическом научном центре накоплен опыт лечения 7 больных, страдающих гемофилией А и В, получавших заместительную почечную терапию. Продолжительность лечения программным гемодиализом составила от 4 мес. до 5 лет.

Приводим клиническое наблюдение трансплантации аллогенной трупной почки, выполненной в ФГБУ «ГНЦ» МЗ РФ, впервые в РФ, пациенту, страдающему гемофилией В и терминальной стадией хронической почечной недостаточности.

КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

Больной Д. 56 лет поставлен на учет в Гематологическом научном центре в июне 2000 г. с диагнозом «гемофилия В, среднетяжелая форма, осложненная поражением опорно-двигательного аппарата (артропатия правого тазобедренного и левого голеностопного сустава 4-й ст.)».

Из анамнеза известно, что впервые гемофилия В (фактор IX – 3,2%) была диагностирована в возрасте 22 лет в результате развившегося кровотечения из лунок двух одномоментно удаленных зубов (5, 6). У гематолога не наблюдался, заместительная гемостатическая терапия не проводилась. С 2000 г. в связи с развитием периодически возникающих гематом (левой икроножной мышцы, в области лучезапястного сустава, подкожная гематома в области левого локтевого сустава) проводилась профилактическая коррекция гемостаза. В мае 2010 г. в связи с развившимся желудочно-кишечным кровотечением была выполнена резекция и ушивание 12-перстной кишки. Данных за почечную патологию на момент оперативного вмешательства не наблюдалось.

С 2010 г. начато амбулаторно профилактическое введение концентрата IX фактора (иммунина) в дозе 1800 МЕ 2 раза в неделю. Был исключен прием нестероидных противовоспалительных препаратов.

В августе 2010 г. появились отеки нижних конечностей и лица, артериальная гипертензия, выявлена протеинурия до 6 г/сут, микрогематурия. В мае 2011 г. – госпитализация в ГКБ № 52, диагностирован хронический гломерулонефрит, хроническая почечная недостаточность. Биопсия почки не выполнялась. Концентрация креатинина 520 мкмоль/л, мочевины – 37 ммоль/л. Проводилась симптоматическая терапия. В октябре 2011 г. повторно госпитализирован в ГКБ № 52. Выявлено нарастание креатинина (810 мкмоль/л), мочевины (40 ммоль/л) крови, больной был переведен в Гема-

тологический научный центр для введения в программный гемодиализ. Сформирован сосудистый доступ для гемодиализа. Перед оперативным вмешательством гемостаз осуществлялся введением 1800 МЕ иммунина, геморрагических осложнений не наблюдалось. Артерио-венозный анастомоз функционировал удовлетворительно. Начата заместительная почечная терапия и введение концентрата IX фактора (иммунина) в профилактическом режиме 25 МЕ/кг перед каждой процедурой гемодиализа. Был исключен прием нестероидных противовоспалительных препаратов. Программный гемодиализ проводился 3 раза в неделю по 4 часа с индексом Готча 1,2 за процедуру. Достигнут «сухой» вес 71 кг. Гепаринотерапия проводилась в дозе 5000 ЕД за процедуру под контролем показателей коагулограммы.

Пациент в течение 2 лет находился на программном гемодиализе, был включен в «лист ожидания» почечного трансплантата с диагнозом «хроническая болезнь почек V ст.; хронический гломерулонефрит; анемический уремический синдром; артериальная гипертензия; уремическая кардиомиопатия; НК II A ст.».

Уремическая гастроэнтеропатия. Язвенная болезнь 12-перстной кишки. Состояние после резекции и ушивания 12-перстной кишки от 2010 г. Рубцовая деформация пилоробульбарной области. Грыжа пищеводного отверстия диафрагмы 2-й ст. Эрозивный эзофагит. Дуоденогастральный рефлюкс.

Вторичный гиперпаратиреоз.

Гемофилия В, среднетяжелая форма, осложненная поражением опорно-двигательного аппарата (артропатия правого тазобедренного и левого голеностопного сустава 4-й ст.)

Доброкачественная гиперплазия предстательной железы.

Хронический двусторонний гайморит.

30.06.2013 г. выполнена трансплантация аллогенной почки в левую подвздошную область. Функция трансплантата восстановилась отсроченно. В связи с тем что пациент страдает гемофилией В, среднетяжелой формой, перед операцией с целью оценки плазменного и тромбоцитарного звеньев свертывающей системы крови выполнена тромбоэластограмма (рис. 1). Перед операцией нагрузка доза рFIX составила 68 МЕ/кг. После операции наблюдалась тенденция к гиперкоагуляции, подтвержденная контрольной тромбоэластограммой (рис. 2). В дальнейшем проводилась коррекция фактора IX препаратом иммунин в поддерживающих дозах: 25–34 МЕ/кг с целью восполнения дефицита IX фактора под контролем показателей коагулограммы. Целевые значения IX фактора поддерживались на уровне 30–60% (рис. 3).

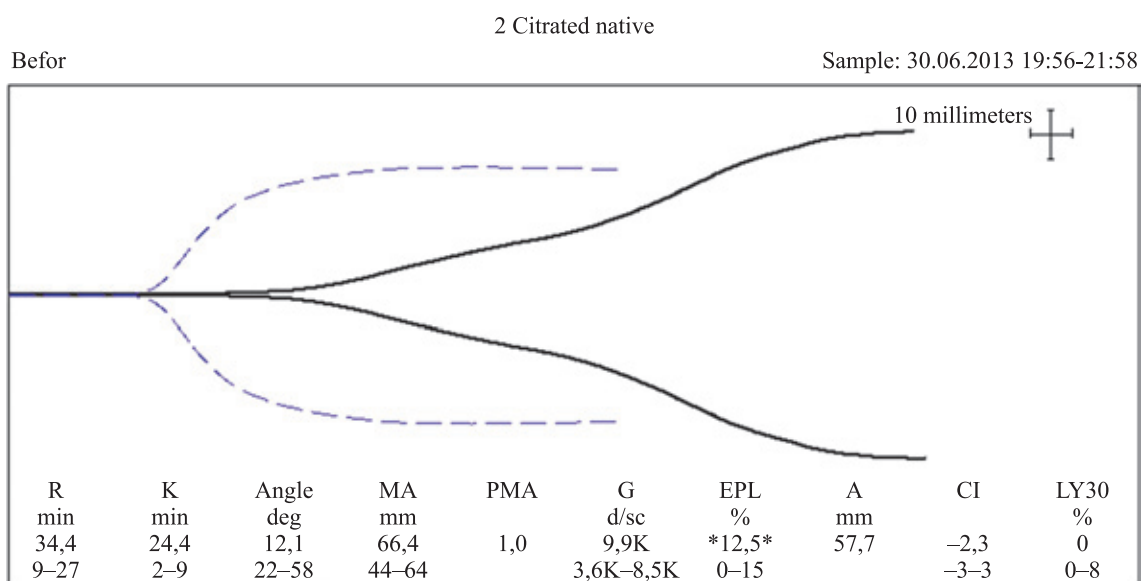


Рис. 1. Тромбоэластограмма перед операцией

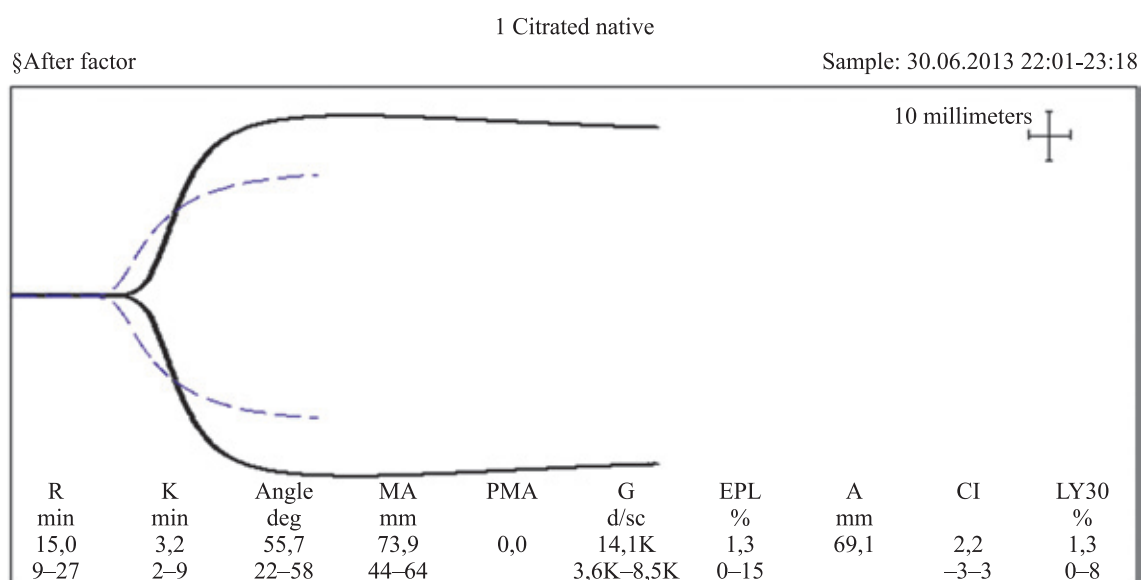


Рис. 2. Тромбоэластограмма после операции

Проводилась иммуносупрессивная терапия ингибитором рецептора интерлейкина 2 (симулект). Базовая иммуносупрессивная терапия включала прием прографа 10 мг/сут, азатиоприна 100 г/сут, преднизолона 30–20 мг/сут. **Концентрация такролимуса в крови: 10,1; 16,1; 13,0; 8,4; 8,1; 6,4 нг/мл.** Суммарная доза метипреда составила 2,5 г.

Проводилась коррекция артериальной гипертензии препаратами конкор – 2,5 мг/сут, коринфар – 10 мг 3 раза в сут), АД – на уровне 150–145/80 мм рт. ст. Гастропротективная терапия – омез 10 мг × 1 раз на ночь.

К началу восстановления функции трансплантата (на 11-е сут) отмечено обильное промокание повязки в области послеоперационной раны. При биохимическом исследовании отделяемого установлено, что это моча (креатинин исследуемой

жидкости – 5 мкмоль/л). В связи с развитием мочевого затека была проведена ревизия послеоперационной раны, обнаружена несостоятельность уретероцистоанастомоза. В полость лоханки и мочевого пузыря установлен стент, сформирован неуретеро-цистоанастомоз, в область анастомоза был установлен дренаж. На 12–13-е сут – обильное промокание повязки в области послеоперационной раны. Выполнена повторная ревизия послеоперационной раны, ушивание дефекта пузырно-мочеточникового анастомоза, послойно была восстановлена целостность тканей. На 22-е сут обнаружено обильное промокание повязки в области послеоперационной раны и отделяемое из шва в верхней трети послеоперационного шва. Выполнена ревизия послеоперационной раны, дефекта пузырно-мочеточникового анастомоза не выявля-

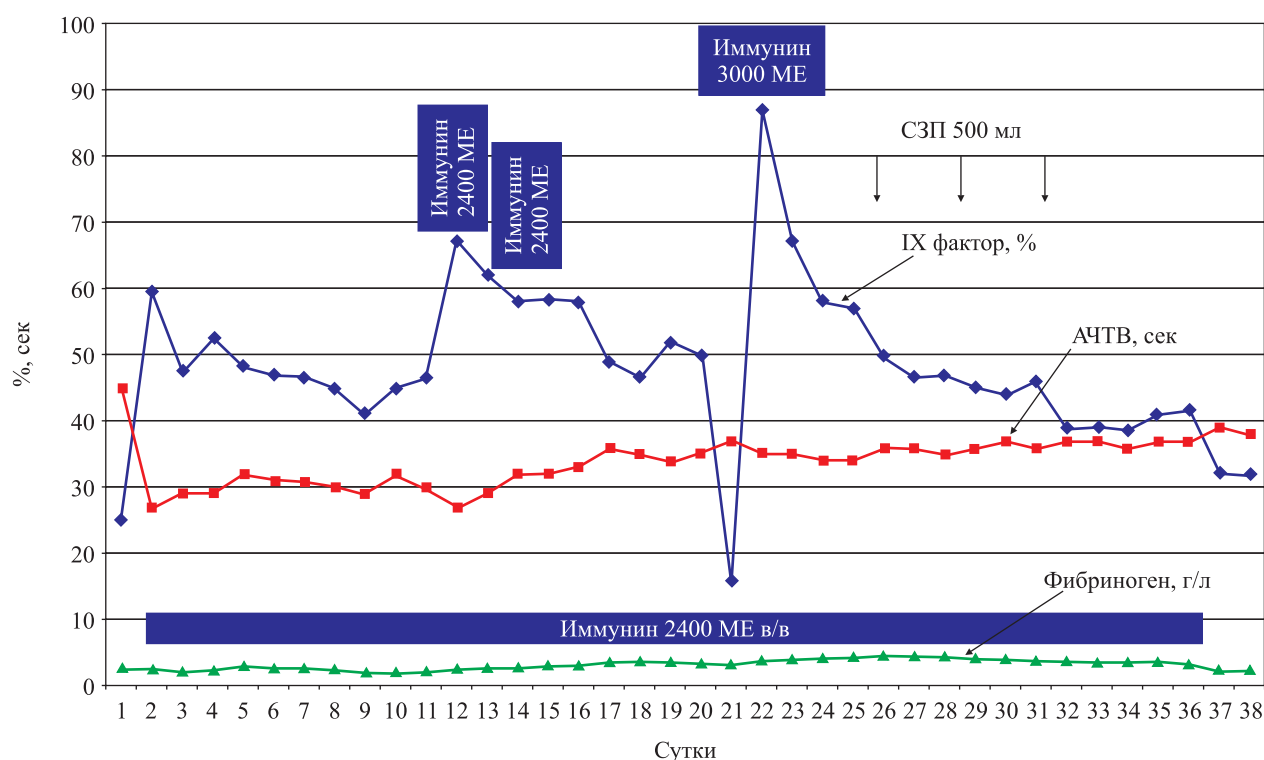


Рис. 3. Динамика некоторых параметров свертывающей системы крови в раннем послеоперационном периоде

но, дренирование 2 дренажами в верхней и нижней трети п/о раны. Были взяты посевы из раны: по данным бактериологического исследования, из раны высевалась *Klebsiella pneumoniae* — обильный рост. В этот же период развилась двусторонняя нижнедолевая пневмония. Проведена антибактериальная терапия тиенамом 1 г/сут с учетом клиренса креатинина крови и чувствительности к антибиотикам. После улучшения клинической картины, нормализации температуры тела и лабораторных показателей тиенам отменен.

После удаления мочевого катетера появились выраженные дизурические явления с болевым синдромом (в анамнезе доброкачественная гиперплазия предстательной железы), назначен омник 0,4 мг 1 раз в сут, мочеиспускание нормализовалось, болевой синдром купирован.

В послеоперационном периоде до восстановления функции трансплантата пациенту потребовалось проведение 3 сеансов гемодиализа. В дальнейшем происходило снижение концентрации креатинина вплоть до его нормализации (рис. 4). Восстановле-

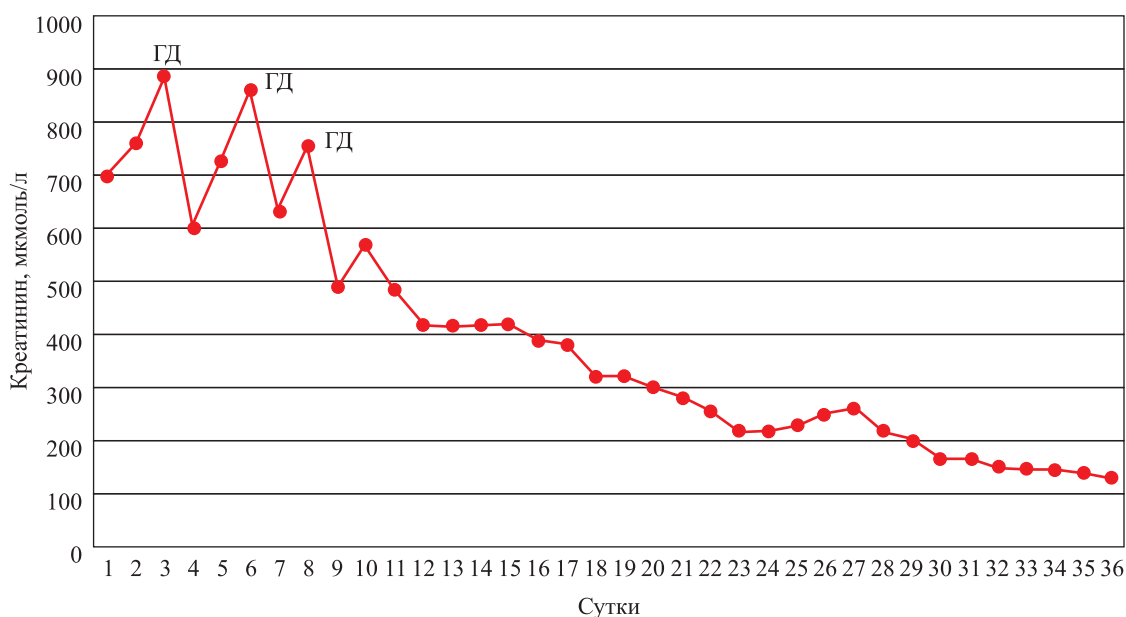


Рис. 4. Динамика восстановления функции трансплантата

ние диуреза на 11-е сут. Нормализация азотемии на 32-е сут, полиурия достигала 3,5 л за сут. Функция трансплантата удовлетворительная.

По данным контрольного ультразвукового исследования, трансплантат 111×53 мм, жидкостных образований вокруг трансплантата не выявлено.

В дальнейшем признаков воспаления и промочения в области послеоперационной раны выявлено не было. С целью улучшения репарации тканей вводились небольшие дозы свежезамороженной плазмы. Дренаж из нижней трети послеоперационной раны был удален на 9-е сут после последней ревизии и из верхней трети – на 11-е сут после ревизии послеоперационной раны. С учетом отсроченной репарации тканей швы сняты через 1 мес. после последней ревизии.

Стент из полости лоханки и мочевого пузыря удален через 2 мес. после его установки, предварительно перед удалением стента введено 2400 ед. иммунина. Осложнений не наблюдалось. После удаления стента продолжено профилактическое введение IX фактора 1 раз в неделю в дозе 2400 МЕ под контролем показателей коагулограммы в течение наблюдаемого периода.

В феврале 2014 г. показатели периферической крови соответствовали норме: Hb – 123 г/л, эритроциты – $4,1 \times 10^{12}$ /л, лейкоциты – $6,8 \times 10^9$ /л, тромбоциты – 320×10^9 /л. Показатели коагулограммы: АЧТВ – 37 сек, ПТИ – 121%, фибриноген – 3,2 г/л, тромбиновое время – 14 сек, антитромбин III – 95%, XII-а зависимый фибринолиз – 11 мин, фактор IX – 29%, агрегация тромбоцитов с АДФ – 54%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Система гемостаза у больных с наследственными коагулопатиями требует тщательного контроля, поскольку разнонаправленные сдвиги могут вызывать как развитие массивных кровотечений, так и тромботическую окклюзию сосудов разного калибра, в том числе капилляров клубочка.

Систематический контроль за показателями коагулограммы и своевременное применение препаратов плазменных факторов крови больным, страдающим врожденной коагулопатией (в данном случае мы рассматривали гемофилию В), позволяют поддерживать гемостаз на оптимальном уровне, выполнять сложные оперативные вмешательства и способствует поддержанию хорошего уровня жизни, как в раннем, так и отдаленном послеоперационном периоде.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Андреев ЮН. Многоликая гемофилия. М.: Ньюдиамед, 2006: 232. Andreev YuN. Mnogolikaya gemofiliya. M.: N'yudiamed, 2006: 232.
2. Современные аспекты лечения гемофилии. *Гематология и трансфузиология*. 2001; 5: 16–29. Sovremennye aspekty lecheniya gemofilii. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2001; 5: 16–29.
3. Shapiro AD, Randi MV, Valentino LA, Key NS, Josephson NC et al. Recombinant factor IX-Fc fusion protein (rFIXFc) demonstrates safety and prolonged activity in a phase 1/2a study in hemophilia B patients. *Blood*. 2012; 119 (3): 666–672.
4. J. Oldenburg, N. Albert. Novel products for haemostasis-current status. *Haemophilia*. 2014; 20 (4): 23–28.
5. Ballarin R, Di Benedetto F, Masetti M, De Ruvo N, Montalti R, Cocchi S. Combined liver-kidney transplantation in an HIV-HCV-coinfected patient with haemophilia. 2008 Oct 1; 22 (15): 2047–2049.
6. Koene RA, Gerlag PG, Jansen JL, Moulijn AC, Skotnicki SH, Debruyne FJ et al. Successful haemodialysis and renal transplantation in a patient with haemophilia A. *Proc Eur Dial Transplant Assoc*. 1977; 14: 401–406.
7. Gomperts ED, Malekzadeh MH, Fine RN. Dialysis and renal transplant in a hemophiliac Thromb Haemost. Oct. 1981; 46 (3): 626–628.
8. El Bakkouri J, Mamdouh A, Faiez S, Medkouri G, Ramdani B, Benchemsi N. Kidney transplantation in a patient with haemophilia A. *Transfus Clin Biol*. 2009 Nov-Dec; 16 (5–6): 471–473.

Статья поступила в редакцию 15.09.2014 г.

DOI: 10.15825/1995-1191-2014-4-117-124

ЭТИОЛОГИЯ, ПАТОГЕНЕЗ И МОРФОЛОГИЯ ЭФФЕКТА QUILTY

Алексеева Л.С.¹, Ильинский И.М.^{1, 2}

¹ ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, г. Москва

² Кафедра трансплантологии и искусственных органов I МГМУ имени И.М. Сеченова, г. Москва

Несмотря на то что изучение эндокардиальных инфильтратов (Quilty effect) в трансплантированном сердце продолжается уже более 30 лет, этиология, морфология и клиническое значение этого феномена остаются до конца не выясненными. В статье приведены данные доступной литературы о возможных причинах и механизмах развития эффекта Quilty, а также о его влиянии на функцию трансплантированного сердца.

Ключевые слова: эффект Quilty, эндокардиальные лимфоидные инфильтраты, эндомиокардиальные биоптаты, трансплантированное сердце.

ETIOLOGY, PATHOGENESIS AND MORPHOLOGY OF THE QUILTY EFFECT

Alexeeva L.S.¹, Iljinsky I.M.^{1, 2}

¹ V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

Despite the fact that the study of endocardial infiltrates (Quilty effect) in the transplanted heart has been going on for more than 30 years, the etiology, morphology and clinical significance of this phenomenon are not yet fully understood. The article presents the facts of the available literature on the possible causes and mechanisms of the effect of Quilty, as well as on its impact on the function of the transplanted heart.

Key words: Quilty effect, endocardial lymphoid infiltrates, endomyocardial biopsies, heart transplant.

Эффект Quilty (синоним: Quilty-повреждение) получил свое название по фамилии первого пациента, у которого нашли воспаление эндокарда трансплантированного сердца. Этот феномен был впервые описан Billingham в 1981 г. Эффект Quilty наблюдается не только в трансплантированном сердце человека, но также при экспериментальной трансплантации сердца животным [1, 2]. При моделировании хронического отторжения аллотрансплантированного сердца у крыс R.J. Duquesnoy с соавт. [3] находил в эндокарде лимфоцитарные инфильтраты, напоминающие Quilty-повреждение.

Несмотря на то что прошло уже более 30 лет со времени первого описания эффекта Quilty, до сих пор он остается загадочным морфологическим феноменом аллотрансплантированного сердца, остается неясным его клиническое значение.

По данным различных авторов, частота развития Quilty-повреждения варьирует в весьма широких пределах, от 12,5 до 49,8% от общего количества исследованных эндомиокардиальных биоптатов аллотрансплантированного сердца (табл.).

Эффект Quilty выявляют в эндомиокардиальных биоптатах трансплантированного сердца, в основном в течение первого посттрансплантационного года [9]. Так, A. Joshi с соавт. [7] сообщил, что в течение первого посттрансплантационного года у 74,0% взрослых пациентов развился эффект Quilty, а у 81,5% пациентов Quilty повреждение было в нескольких биоптатах. По данным M. Zakliczynski с соавт. [11], Quilty-повреждение было обнаружено в материале биопсий, выполненных в течение первых трех месяцев после трансплантации сердца у 68% пациентов, а свыше одного года – только у 13% пациентов.

Для корреспонденции: Алексеева Лидия Сергеевна. Адрес: 123182, г. Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. 8 (968) 803-12-69. E-mail: alexeeva.lidiya2014@yandex.ru.

For correspondence: Alexeeva Lidija Sergeevna. Address: 1, Shchukinskaya st., Moscow, 123182, Russian Federation. Tel. 8 (968) 803-12-69. E-mail: alexeeva.lidiya2014@yandex.ru.

Таблица

Частота выявления эффекта Quilty в эндомикардиальных биоптатах аллотрансплантированного сердца

№ по порядку	Автор	Год	К-во пациентов	К-во ЭМБ	К-во Quilty в %
1	Kottke-Marchant K. и Ratliff N.B. [4]	1989		1152	14,4
2	Pardo-Mindán F.J. и Lozano M.D. [5]	1991	46	527	24,0
3	Costanzo-Nordin M.R. et al. [6]	1993	200	5026	11,0
4	Joshi A. et al. [7]	1995	217	7439	49,8
5	Yamani M.H. et al. [8]	2003	140		39,0
6	Di Carlo E. et al. [9]	2007	22	379	33,2
7	Hiemann N.E. et al. [10]	2008	873	9,713	19,0
8	Zakliczynski M. et al. [11]	2009	429	5361	12,5

Среди пациентов с эффектом Quilty больше женщин, чем мужчин [6]. N.E. Hiemann с соавт. [10] также чаще находили у женщин инфильтрацию эндокарда трансплантированного сердца лимфоидными клетками ($p = 0,038$). Противоположно мнению A. Joshi с соавт. [7], которые считают, что частота развития эффекта Quilty не зависит от пола пациентов. Больные, у которых в эндомикардиальных биоптатах находили Quilty-повреждение, были значительно моложе пациентов, у которых отсутствовало воспаление эндокарда [6, 10, 12]. Между эффектом Quilty и степенью совместимости по HLA донора и реципиента, а также выработкой антител против HLA в посттрансплантационном периоде не было выявлено корреляции [12]. Пациенты с эндокардиальными инфильтратами до трансплантации сердца чаще страдали идиопатической дилатационной кардиомиопатией ($p = 0,05$) [6].

Этиология и патогенез эффекта Quilty до сих пор остаются неизвестными. Существуют многочисленные точки зрения по поводу причин и механизма развития Quilty-повреждения. Высказано мнение, что генетически обусловленное снижение продукции IL-10 предрасполагает к развитию Quilty-повреждения [13]. K. Kottke-Marchant и N.B. Ratliff [4] полагают, что морфологические и иммуногистохимические признаки Quilty-повреждения отличаются от острого отторжения и сходны с ранним лимфопролиферативным поражением, связанным с вирусом Эпштейна–Барр и терапией циклоспорином. Противоположного взгляда придерживаются другие авторы [6, 7], которые не нашли взаимосвязи между эндокардиальными инфильтратами и посттрансплантационными лимфопролиферативными нарушениями, ЦМВ-инфекцией и вирусом Эпштейна–Барр. L.V. Beletskaya с соавт. [14] связывают возникновение эффекта Quilty с повреждением стенки лимфатических сосудов и выходом лимфоцитов в эндокард трансплантированного сердца. Однако в литературе более всего обсуждается взаимосвязь между эффектом Quilty и

ингибиторами кальциневрина, острым или хроническим отторжением.

Эффект Quilty и ингибиторы кальциневрина. Многие исследователи связывают возникновение эффекта Quilty с циклоспорином. Позднее было установлено, что этот эффект появляется в эндокарде трансплантированного сердца у пациентов, которые в качестве иммуносупрессии получали не циклоспорин, а такролимус. Так, N.A. Gajjar с соавт. [15] исследовали 1067 эндомикардиальных биоптатов трансплантированного сердца 65 пациентов, у которых в базовую иммуносупрессивную терапию был включен такролимус или циклоспорин. Эффект Quilty возникал примерно с одинаковой частотой при применении обоих препаратов. Поэтому можно говорить об ингибиторах кальциневрина как этиологическом факторе воспаления эндокарда трансплантированного сердца.

Контраргументами на такое представление об этиологии эффекта Quilty являются следующие факты. Во-первых, у пациентов, которые не получали ингибиторы кальциневрина, также находили эффект Quilty в эндокарде трансплантированного сердца. Например, R.D. Forbes с соавт. [16] в биоптатах при отсутствии острого отторжения и при применении азатиоприна и кортикостероидов редко, но находил эндокардиальные инфильтраты; они были очень маленькими и не образовывали очагов типа фолликулов. Во-вторых, появление эффекта Quilty не зависит от дозировки ингибиторов кальциневрина [7, 17]. S.J. Radio с соавт. [18] не выявили различия в частоте обнаружения инфильтрации лимфоцитами эндокарда трансплантированного сердца в зависимости от кумуляции или средней дозы циклоспорина, а также от его концентрации в сыворотке крови. В-третьих, частота Quilty-повреждения не зависит и от протокола использования циклоспорина [16]. В-четвертых, в нативном сердце нетрансплантологических больных, которых лечили ингибиторами кальциневрина, эффекта Quilty не встречается [19].

R.D. Forbes с соавт. [16] изучили частоту и характер инфильтрации мононуклеарными клетками эндокарда в 2350 последовательных биоптатах трансплантированного сердца 172 пациентов в период от четырех до 16 мес. после операции. Пациенты были разделены на четыре группы, отличающиеся протоколом иммуносупрессивной терапии. У пациентов, которые не получали циклоспорин, при легкой и умеренной степени острого отторжения значительно увеличивалась частота и количество мультифокальных эндокардиальных инфильтратов. При использовании трех протоколов иммуносупрессивной терапии на основе циклоспорина примерно в 15% биоптатов без признака отторжения были обнаружены эндокардиальные инфильтраты. Причем они имели мультифокальный характер даже при отсутствии признаков острого отторжения, а при легком и умеренном остром отторжении было значительное увеличение частоты биоптатов также мультифокальных эндокардиальных инфильтратов в каждой из этих трех групп пациентов, получавших циклоспорин. К другим особенностям эффекта Quilty в этих трех группах пациентов можно отнести частое распространение воспаления на прилегающий миокард с наличием или отсутствием некроза кардиомиоцитов. Появление различных форм эндокардиальных инфильтратов при отсутствии острого отторжения является характерным проявлением иммуносупрессии на основе циклоспорина, независимо от определенного протокола и дозировки циклоспорина. При иммуносупрессии без циклоспорина эндокардиальные инфильтраты почти всегда были связаны с острым отторжением. На основании этих противоречивых результатов исследования авторы все же приходят к заключению, что между эффектом Quilty и циклоспорином имеется взаимосвязь.

Однако патогенез эффекта Quilty не связан с непосредственным токсическим действием циклоспорина, а возникает при относительной недостаточности его концентрации. Так, D. Freimark с соавт. [20] предполагают, что локальная инфильтрация лимфоцитами эндокарда может быть связана с недостаточным поступлением циклоспорина в эти зоны.

Эффект Quilty и острое отторжение трансплантированного сердца. Довольно широко распространено мнение, что инфильтрация эндокарда лимфоцитами является одним из морфологических проявлений острого отторжения трансплантированного сердца. У пациентов с Quilty-повреждением чаще диагностировали острое клеточное отторжение ($p = 0,002$) в течение первого посттрансплантационного года [12]. В другом исследовании в эти же сроки после трансплантации сердца в 82,2% биоптатах эффект Quilty сочетался с острым отторжением (по классификации ISHLT)

степени 0 или IA, B, а в 12,3% биоптатов была III степень острого отторжения [7]. В эндокардиальных биоптатах трансплантированного сердца пациентов, которых профилактически лечили ОКТЗ, гистологические признаки острого отторжения были значительно менее выражены, но сохранялся эффект Quilty B [21].

F.J. Pardo-Mindán и M.D. Lozano [5] при изучении 527 эндокардиальных биоптатов трансплантированного сердца 46 пациентов также нашли такую взаимосвязь. Острое отторжение оценивали по Ганновской классификации. В общей сложности в 126 (24%) образцах биопсий был выявлен эффект Quilty. В 59 (46,8%) образцах диагностированы, в дополнение к эффекту Quilty, различные степени острого отторжения. Это исследование показало, что при остром отторжении II степени или выше частота возникновения эффекта Quilty значимо выше ($p < 0,01$); чем более тяжелая степень острого отторжения, тем чаще возникает эффект Quilty. На антикризовую терапию пациенты отвечали одинаково, независимо от наличия или отсутствия эффекта Quilty. Авторы пришли к выводу, что эффект Quilty является проявлением острого отторжения. Поэтому нахождение изолированного эффекта Quilty может сигнализировать о возможности в дальнейшем развития эпизода острого отторжения. Такого же мнения придерживается R.N. Smith с соавт. [17]. По данным этих авторов, у пациентов с эффектом Quilty B и острым отторжением в последующем увеличивается риск развития острого клеточного отторжения более высокой степени. Эффект Quilty B без видимых признаков острого клеточного отторжения может представлять собой его субклиническое течение.

M.R. Costanzo-Nordin с соавт. [6] диагностировали эффект Quilty более чем у половины пациентов ($n = 117$; 58%) в сроки до 49 мес. после трансплантации сердца, в среднем через $6,3 \pm 9,4$ мес. Степень острого отторжения была значительно более высокой у больных с эндокардиальными инфильтратами по сравнению с пациентами без воспаления эндокарда ($p = 0,0001$). Острое отторжение в последующих эндокардиальных биоптатах чаще диагностировали, если в предыдущих биоптатах находили эндокардиальные инфильтраты (37% против 24%; $p < 0,001$). Многофакторный регрессивный анализ подтвердил, что появление эндокардиальных инфильтратов связано с острым отторжением при коррективке с возрастом, полом, заболеванием нативного сердца, сроком после трансплантации сердца и количеством эндокардиальных биопсий ($p = 0,0001$).

В исследовании M. Zakliczynski с соавт. [11] у 231 (53,8%) пациента, по крайней мере, один образец эндокардиального биоптата был с эффек-

том Quilty. У пациентов с наличием в биоптатах эффекта Quilty в среднем значительно чаще были эпизоды острого клеточного отторжения, и им было выполнено большее количество эндомиокардиальных биопсий. Также отмечено большее количество пациентов хотя бы с одним эпизодом острого клеточного отторжения в группе с наличием эффекта Quilty. Однако N.E. Niemann с соавт. [22] в комментариях на эту работу замечает, что взаимосвязь между эффектом Quilty и острым клеточным отторжением весьма спорна и противоречива.

По данным E. Di Carlo с соавт. [9] и M.C. Fishbein с соавт. [23], эффект Quilty преимущественно бывает при остром отторжении степени 2. Однако M.C. Fishbein с соавт. [23], хотя и показали, что острое клеточное отторжение степени 2 практически всегда сочетается с эффектом Quilty B, не считают последний проявлением острого отторжения. Более того, авторы не используют антикризовое лечение при остром клеточном отторжении степени 2, так как при умеренном клеточном отторжении (степень 2) только у одного пациента было отмечено через два месяца усиление воспаления миокарда и переход острого отторжения в степень 3A.

Оказалось, что эффект Quilty является камнем преткновения при диагностике острого клеточного отторжения степени 2. Это убедительно было показано в работе C.C. Marboe с соавт. [24]. Авторы проверили конкордантность диагноза степени острого клеточного отторжения, поставленного местными патологами из восьми центров трансплантации сердца, с результатами, полученными тремя патологами исследования. Наибольшее соответствие было при диагностике острого клеточного отторжения по ISHT степени 0, 1A и 3B. Значительные расхождения были при диагностике степени 1B, 2 и 3A. Между местными патологами и патологами исследования наиболее низкая конкордантность была при диагностике острого клеточного отторжения степени 2. Патологами из центров трансплантации сердца эффект Quilty был отмечен в 3,3% при отсутствии острого клеточного отторжения (степень 0), в 31% при степени 2 и в 37% при степени 3A. Патологами исследования при наличии эффекта Quilty только в 35% наблюдений был подтверждена степень острого клеточного отторжения, а в остальных случаях диагноз был снижен до степени 0 или 1B. Особенно большие расхождения были при диагностике острого клеточного отторжения степени 2 – диагноз был подтвержден только в 10% наблюдений.

Повышение количества лимфоцитов в венозной крови наблюдают при остром отторжении трансплантированного сердца. C. Clelland с соавт. [25] обнаружил корреляцию между повышением количества лимфоцитов в периферической крови и наличием эффекта Quilty. По нашему мнению, это

также косвенно подтверждает взаимосвязь между эффектом Quilty и острым отторжением трансплантированного сердца.

Как уже было отмечено, эффект Quilty встречается как при остром отторжении, так и при его отсутствии. В зонах эффекта Quilty при отсутствии клеточного и антителоопосредованного острого отторжения часто обнаруживают отложение C4d комплимента. Это свидетельствует о патогенетической связи между эффектом Quilty и активацией комплемента. L.C. Cano с соавт. [26] считает, что отложение C4d комплимента в инфильтрированном эндокарде при отсутствии острого отторжения указывает на лучшую адаптацию аллотрансплантата («аккомодацию»). Некоторые авторы изолированный эффект Quilty не расценивают как острое клеточное отторжение [27]. По мнению K. Kottke-Marchant и N.B. Ratliff [4], морфологические и иммуногистохимические признаки Quilty-повреждения отличаются от острого отторжения и сходны с ранним лимфопротрофическим поражением, связанным с вирусом Эпштейна–Барр.

Эффект Quilty и хроническое отторжение трансплантированного сердца. У пациентов с эффектом Quilty через пять лет после трансплантации сердца чаще ($p = 0,04$) развивалась васкулопатия коронарных артерий [12]. Наличие эффекта Quilty увеличивает также риск развития облитеративной микроваскулопатии, что является плохим прогностическим признаком выживаемости трансплантированного сердца [28].

M.H. Yamani с соавт. [8] связывает увеличение экспрессии рецептора витронектина ($\alpha\text{v}\beta 3$) при Quilty-повреждении с последующим развитием коронарной васкулопатии трансплантата. При эффекте Quilty экспрессия $\alpha\text{v}\beta 3$ увеличивалась в 1,3 раза ($p = 0,004$) по сравнению с эндомиокардиальными биоптатами без воспаления эндокарда. В группе пациентов с эффектом Quilty отмечена тенденция к большей частоте посттрансплантационного ишемического повреждения, осложненного фиброзом (54% против 38%, $p = 0,08$). При внутрисосудистом ультразвуковом исследовании через год после трансплантации сердца в группе пациентов с эффектом Quilty было значительное увеличение толщины интимы коронарных артерий трансплантата ($0,54 \pm 0,34$ против $0,42 \pm 0,28$ мм, $p = 0,038$).

При исследовании 9829 эндомиокардиальных биоптатов, полученных в течение первого посттрансплантационного года от 938 пациентов (из них 778 мужчин, средний возраст 49 лет), эффект Quilty был найден в 1840 (19%) биоптатах у 487 (52%) пациентов. При коронарной ангиографии тяжелый стеноз коронарных артерий был найден у 19% пациентов. Эффект Quilty коррелировал со степенью ISHLT 1R ($p < 0,001$) или 2R ($p < 0,001$). Эффект

Quilty связан с высокой летальностью от различных причин ($p = 0,045$), но более высокий риск летальности связан с осложнениями трансплантационного сердца ($p = 0,0001$). Многофакторный регрессионный анализ показал, что эффект Quilty и васкулопатия трансплантата являются факторами риска потери функции трансплантационного сердца и летальности пациентов [28].

Противоположные результаты представлены в некоторых других публикациях [6, 7, 11], авторы которых не нашли взаимосвязи между эндокардиальными инфильтратами и васкулопатией аллотрансплантационного сердца.

Морфология эффекта Quilty. Известны два типа эффекта Quilty – А и В. При эффекте А воспалительная инфильтрация ограничивается только зоной эндокарда, а при эффекте Quilty В воспаление распространяется на прилегающий миокард с повреждением кардиомиоцитов, что, по данным К. Kottke-Marchant и N.B. Ratliff [4], встречается приблизительно в 50% наблюдений. По сравнению с циклоспорином лечение такролимусом приводит к значительному увеличению количества Quilty типа А и уменьшению числа Quilty-повреждения типа В [15].

По мнению некоторых авторов [7], гистологические типы Quilty А и Quilty В клинически не различаются. Более того, по Международной системе оценки биоптатов аллотрансплантационного сердца 2004 г. также было отменено разделение эффекта Quilty на подтипы А и В [29].

Размер Quilty-повреждения колеблется от 0,007 до 1,89 мм². Клеточный состав представлен преимущественно Т-лимфоцитами с очагами поликлональных В-лимфоцитов. Макрофаги и плазматические клетки располагаются между эндокардом и миокардом [4]. В другой работе [5] иммуногистохимическое исследование также показало преобладание Т-лимфоцитов как в зоне эффекта Quilty, так и в миокарде при остром клеточном отторжении.

Напротив, S.J. Radio с соавт. [18] при исследовании эндомиокардиальных биоптатов трансплантационного сердца нашли, что эндокардиальные инфильтраты состоят в большей степени из В-лимфоцитов (871/мм²) и в меньшей степени из Т-лимфоцитов (803/мм²). В то же время в более глубоких отделах миокарда превалировали Т-лимфоциты (44/мм²), а количество В-лимфоцитов было меньшим (22/мм²). Эта тенденция была особенно заметна при остром клеточном отторжении. Макрофаги в большей степени присутствовали в эндокарде, а не в глубоких отделах миокарда. При исследовании операционного или секционного материала в трансплантационном сердце количество типичных нодулярных эндокардиальных инфильтратов и их протяженность не коррелировали с наличием или

отсутствием острого клеточного отторжения, но было в прямой зависимости от «возраста» трансплантата и от количества перенесенных острых кризов. Диффузная, а не нодулярная инфильтрация лимфоцитами эндокарда трансплантационного сердца была преимущественно при остром отторжении или миокардите. Авторы полагают, что морфологический и иммуногистохимический профиль эндокардиальных инфильтратов отличается от острого отторжения.

S. Gopal с соавт. [2] обнаружил, что в зонах эффекта Quilty субпопуляции лимфоцитов представлены Т-клетками (CD3), Т-хелперами/индукторами (CD4), цитотоксическими/супрессорными Т-клетками (CD8) и зрелыми В-клетками (CD20). В пределах Quilty-повреждения были выявлены отдельные кластеры, состоящие из Т-лимфоцитов и небольшого количества В-клеток. Во всех случаях CD4⁺-клетки были найдены в больших количествах, чем CD8⁺-клетки. Иногда присутствовали не-В, не-Т большие лимфоциты. Эффект Quilty типа В отличался от типа А только большей площадью лимфоидной инфильтрации с распространением на прилегающий миокард, а значительные цитохимические различия отсутствовали.

P.J. Michaels с соавт. [30] использовали иммуногистохимические методы для окраски срезов эндомиокардиальных биоптатов, в которых был только эффект Quilty В ($n = 14$) или только острое клеточное отторжение (по классификации ISHLT – 1990 г.: степени 1А и 1В, $n = 7$; степени 3А и 3В, $n = 7$). Срезы окрашивали для выявления В-лимфоцитов (CD20), Т-лимфоцитов (CD3), макрофагов (CD68), RANTES и трансформирующего ростового фактора-бета (TGF-β). Долю окрашенных положительно клеток оценивали от 0 до 4 (0 – отсутствуют окрашенные клетки; 1 – от 1 до 25%; 2 – от 26 до 50%; 3 – от 51 до 75% и 4 – от 76 до 100%). В миокарде при остром клеточном отторжении и в зонах эффекта Quilty В авторы не нашли различия в содержании в миокарде В-клеток ($0,9 \pm 0,3$ против $1,1 \pm 0,3$, $p = 0,17$). Однако при остром отторжении было меньше Т-лимфоцитов ($1,8 \pm 0,5$ против $2,8 \pm 0,9$, $p < 0,01$), но больше макрофагов ($2,9 \pm 0,5$ против $1,1 \pm 0,6$, $p < 0,0001$) и RANTES-позитивных лейкоцитов ($2,8 \pm 1,3$ против $1,9 \pm 0,9$, $p = 0,03$). В сосудах миокарда и в поврежденных кардиомиоцитах, как при остром клеточном отторжении, так и в зонах эффекта Quilty В, наблюдали экспрессию TGF-β. В зонах эффекта Quilty В было выявлено много кровеносных сосудов, с положительной реакцией на TGF-β ($2,9 \pm 1,6$).

E. Di Carlo с соавт. [9] обнаружили очаговый гемангиогенез и лимфангиогенез, связанный с экспрессией bFGF, VEGF-C и VEGF-A. Вокруг PNA(+)-HEV-подобных сосудов отмечена инфиль-

трация CD4(+) Т-лимфоцитами, CD8(+) Т-лимфоцитами и CD20(+) В-лимфоцитами. Как правило, эффект Quilty появляется в форме лимфоидных фолликулов, иногда с зародышевыми центрами, содержащими VCAM-1 (+) CD21 (+) FDC и CD68 (+) макрофаги, которые часто экспрессировали CXCL13. Эти клетки были также найдены в зонах, инфильтрирующих эндокард, но не образующих лимфоидные фолликулы. Здесь малые лимфоциты также экспрессировали CXCR5. Этот хемокин также был выявлен в CD20(+) В-лимфоцитах в миокарде при остром отторжении степени 2 у пациентов с возвратным острым отторжением. Таким образом, как при возвратных эпизодах острого отторжения, так и в зонах эффекта Quilty имеет место усиление воспаления за счет увеличения экспрессии хемокина CXCL13 [9].

При эффекте Quilty в эндокарде и в прилегающем миокарде трансплантированного сердца образуются лимфоидные фолликулы, размер которых может превышать 0,3 мм. Центр фолликулов состоит из скопления В-лимфоцитов, окруженных по периферии Т-лимфоцитами. Фолликулы пронизаны кровеносными сосудами капиллярного типа. Эти образования, сходные с лимфоидной тканью, отличаются от воспалительной инфильтрации эндокарда при остром клеточном отторжении тем, что в них имеется сеть из дендритных клеток [31].

Происхождение клеток, входящих в состав Quilty повреждений, различается. Установлено, что клетки воспалительного компонента этих образований полностью являются производными реципиента. Структуры кровеносных сосудов были смешанного происхождения, эндотелий только до 50%, а гладкомышечные клетки только до 15% относились к реципиенту. Структуры лимфатических сосудов в основном происходили из клеток реципиента. В прилегающем миокарде была выраженная экспрессия фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF- α), чем объясняется усиленный неоангиогенез в зонах эффекта Quilty [32].

Целый ряд исследований посвящен изучению апоптоза в клетках эффекта Quilty и при остром клеточном отторжении различной степени [2, 33–35]. В зонах эффекта Quilty, так же как и при остром клеточном отторжении степени 0 и 1А, апоптотические клетки отсутствуют. Далее, по мере усиления степени острого клеточного отторжения, увеличивалось количество апоптотических эндотелиальных и интерстициальных клеток [33]. К.С. Jollow с соавт. [34] исследовали апоптоз в эндокардиальных биоптатах при остром клеточном отторжении степени 3А (n = 22), эффекте Quilty (n = 10) и отторжении степени 3А в сочетании с эффектом Quilty (n = 6). При остром отторжении степени 3А ни в одном биоптате не было обнаружено признаков апоптоза

кардиомиоцитов даже при явных признаках их повреждения, и напротив, 85–98% мононуклеарных клеток инфильтрирующих миокард, находились в состоянии апоптоза. В зонах эффекта Quilty только менее 5% мононуклеарных клеток были в состоянии апоптоза.

С. Dong с соавт. [35] в 26 эндокардиальных биоптатах с эффектом Quilty (тип А – 5; тип В – 21) иммуногистохимическими методами определяли экспрессию Bcl-2 (ингибитор апоптоза), Fas-антиген (индуктор апоптоза), ядерный антиген пролиферирующих клеток (PCNA), перфорин, Т-лимфоциты (UCHL-1), макрофаги (CD68) и апоптоз методом TUNEL. Приблизительно 50% лимфоцитов, главным образом в глубоких отделах эффекта Quilty и типа А, и типа В экспрессировали Bcl-2. Лимфоциты давали положительную реакцию на Fas-антиген. Эндотелиальные клетки и макрофаги были Bcl-2 негативны, но на Fas-антиген – позитивны. Реакция на ядерный антиген пролиферирующих клеток (PCNA) и перфорин была негативна почти во всех лимфоцитах. Окрашивание срезов методом TUNEL показало отсутствие апоптоза лимфоцитов в зонах эффекта Quilty. Однако TUNEL позитивное окрашивание было приблизительно у 70% эндотелиальных клеток и макрофагов, а также некоторых кардиомиоцитов, прилегающих к зоне эффекта Quilty. В одном из биоптатов эффект Quilty представлял собой большой лимфоидный фолликул с зародышевым центром. Клетки светлого центра размножения были PCNA позитивны, но негативны при окрашивании на Bcl-2, Fas-антиген и TUNEL-методом. Клетки, окружающие зародышевый центр, показали выраженную экспрессию Bcl-2. Авторы заключают, что апоптоз отсутствует в лимфоцитах эффекта Quilty из-за экспрессии не только индуктора апоптоза (Fas-антиген), но экспрессии и ингибитора апоптоза (Bcl-2). Отсутствие экспрессии ядерного антигена пролиферирующих клеток (PCNA) указывает на то, что лимфоциты эффекта Quilty не могут размножаться, а негативное окрашивание на перфорин – на отсутствие перфориновой цитотоксичности лимфоцитов.

S. Gopal с соавт. [2] при исследовании эндокардиальных биоптатов 13 пациентов (биопсии были выполнены в период от 10 до 3362 дней после трансплантации сердца) нашли апоптоз кардиомиоцитов по периферии Quilty-повреждения у 11 (85%) пациентов. Кроме того, при окрашивании моноклональными антителами к легкой цепи миозина у 10 (77%) из 13 пациентов с эффектом Quilty типа А и В в тех же местах обнаружена ранняя стадия некроза кардиомиоцитов. В лимфоцитарных инфильтратах апоптоз отсутствовал. По мнению S. Gopal с соавт. (1998), апоптоз кардиомиоцитов и ранний их некроз по периферии Quilty-повреждения типа В

представляют собой начальную стадию острого клеточного отторжения аллотрансплантированного сердца.

По мнению Н.А. Sattar с соавт. [31], имеет место гипердиагностика острого клеточного отторжения при обнаружении лимфоцитов в эндокарде трансплантированного сердца, что может быть как собственно при эффекте Quilty, так и при остром клеточном отторжении. Для дифференцированной диагностики этих двух типов повреждения эндокарда авторы предлагают использовать иммуногистохимический метод с использованием маркера CD21, который позволяет визуализировать сеть фолликулярных дендритных клеток. Эта сеть присутствует при эффекте Quilty и отсутствует при остром клеточном отторжении. Авторы считают, что этот метод имеет чувствительность 96%, специфичность 100% и точность прогнозирования 100%.

Следует подчеркнуть, что в понятие эффект Quilty всегда входит вовлечение эндокарда пересаженного сердца. Поэтому совершенно неверно считать эффектом Quilty наличие воспаления в других структурах трансплантированного сердца, в частности, в стенке субэпикардиальных ветвей коронарных артерий. Так, J.S. Truell и M.C. Fishbein [36] приводят наблюдение, в котором у восьмилетней девочки с врожденным пороком сердца спустя 25 мес. после трансплантации сердца развилась тяжелая болезнь коронарных артерий. В стенке субэпикардиальной коронарной артерии трансплантированного сердца авторы нашли нодулярные агрегаты, состоящие из Т- и В-лимфоцитов с небольшим количеством макрофагов. Авторы презентуют это наблюдение как первое описание эффекта Quilty в стенке коронарной артерии трансплантированного сердца. Однако давно известно, что для хронического отторжения трансплантированных органов характерно развитие артериитов, и они не имеют ничего общего с эффектом Quilty.

Таким образом, на основании обзора литературы можно сказать, что многие вопросы относительно патогенеза, морфогенеза и клинического значения эффекта Quilty остаются неразрешенными и требуют дальнейшего изучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Mohacsi PJ, Joshi A, Wang J, Morris RE, Billingham ME. Endocardial mononuclear cell infiltrates (Quilty effect) in heterotopic cardiac allografts in rapamycin-treated rats. *Transplant Proc.* 1994 Dec; 26 (6): 3255–3259.
2. Gopal S, Narasimhan U, Day JD, Gao R, Kasper EK, Chen CL et al. The Quilty lesion enigma: focal apoptosis/necrosis and lymphocyte subsets in human cardiac allografts. *Pathol Int.* 1998 Mar; 48 (3): 191–198.
3. Duquesnoy RJ, Liu K, Fu XF, Murase N, Ye Q, Demetris AJ. Evidence for heat shock protein immunity in a rat cardiac allograft model of chronic rejection. *Transplantation.* 1999 Jan 15; 67 (1): 156–164.
4. Kottke-Marchant K, Ratliff NB. Endomyocardial lymphocytic infiltrates in cardiac transplant recipients. Incidence and characterization. *Arch Pathol Lab Med.* 1989 Jun; 113 (6): 690–698.
5. Pardo-Mindán FJ, Lozano MD. «Quilty effect» in heart transplantation: is it related to acute rejection? *J Heart Lung Transplant.* 1991 Nov-Dec; 10 (6): 937–941.
6. Costanzo-Nordin MR, Winters GL, Fisher SG, O'Sullivan J, Heroux AL, Kao W et al. Endocardial infiltrates in the transplanted heart: clinical significance emerging from the analysis of 5026 endomyocardial biopsy specimens. *J Heart Lung Transplant.* 1993 Sep-Oct; 12 (5): 741–747.
7. Joshi A, Masek MA, Brown BW Jr, Weiss LM, Billingham ME. «Quilty» revisited: a 10-year perspective. *Hum Pathol.* 1995 May; 26 (5): 547–557.
8. Yamani MH, Ratliff NB, Starling RC, Tuzcu EM, Yu Y, Cook DJ et al. Quilty lesions are associated with increased expression of vitronectin receptor (alpha v beta 3) and subsequent development of coronary vasculopathy. *J Heart Lung Transplant.* 2003 Jun; 22 (6): 687–690.
9. Di Carlo E, D'Antuono T, Contento S, Di Nicola M, Ballone E, Sorrentino C. Quilty effect has the features of lymphoid neogenesis and shares CXCL13-CXCR5 pathway with recurrent acute cardiac rejections. *Am J Transplant.* 2007 Jan; 7 (1): 201–210.
10. Hiemann NE, Knosalla C, Wellenhofer E, Lehmkuhl HB, Hetzer R, Meyer R. Quilty indicates increased risk for microvasculopathy and poor survival after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2008 Mar; 27 (3): 289–296.
11. Zakliczynski M, Nozynski J, Konecka-Mrowka D, Pyka L, Trybunia D, Swierad M et al. Quilty effect correlates with biopsy-proven acute cellular rejection but does not predict transplanted heart coronary artery vasculopathy. *J Heart Lung Transplant.* 2009 Mar; 28 (3): 255–259.
12. Chu KE, Ho EK, de la Torre L, Vasilescu ER, Marboe CC. The relationship of nodular endocardial infiltrates (Quilty lesions) to survival, patient age, anti-HLA antibodies, and coronary artery disease following heart transplantation. *Cardiovasc Pathol.* 2005 Jul-Aug; 14 (4): 219–224.
13. Plaza DM, Fernandez D, Builes M, Villegas A, Garcia LF. Cytokine gene polymorphisms in heart transplantation: association of low IL-10 production genotype with Quilty effect. *J Heart Lung Transplant.* 2003 Aug; 22 (8): 851–856.
14. Beletskaya LV, Kupriyanova AG, Baranova FS, Shumakov VI. Heart allograft lymphatic system changes and Quilty lesion. *J Heart Lung Transplant.* 2005 Nov; 24 (11): 1999–2000.
15. Gajjar NA, Kobashigawa JA, Laks H, Espejo-Vassilakis M, Fishbein MC. FK506 vs. cyclosporin. Pathologic findings in 1067 endomyocardial biopsies. *Cardiovasc Pathol.* 2003 Mar-Apr; 12 (2): 73–76.
16. Forbes RD, Rowan RA, Billingham ME. Endocardial infiltrates in human heart transplants: a serial biopsy analysis comparing four immunosuppression protocols. *Hum Pathol.* 1990 Aug; 21 (8): 850–855.

17. Smith RN, Chang Y, Houser S, Dec GW, Grazette L. Higher frequency of high-grade rejections in cardiac allograft patients after Quilty B lesions or grade 2/4 rejections. *Transplantation*. 2002 Jun 27; 73 (12): 1928–1932.
18. Radio SJ, McManus BM, Winters GL, Kendall TJ, Wilson JE, Costanzo-Nordin MR et al. Preferential endocardial residence of B-cells in the «Quilty effect» of human heart allografts: immunohistochemical distinction from rejection. *Mod Pathol*. 1991 Sep; 4 (5): 654–660.
19. Barone JH, Fishbein MC, Czer LS, Blanche C, Trento A, Luthringer DJ. Absence of endocardial lymphoid infiltrates (Quilty lesions) in nonheart transplant recipients treated with cyclosporine. *J Heart Lung Transplant*. 1997 Jun; 16 (6): 600–603.
20. Freimark D, Czer LS, Aleksic I, Ruan XM, Admon D, Blanche C et al. Pathogenesis of Quilty lesion in cardiac allografts: relationship to reduced endocardial cyclosporine A. *J Heart Lung Transplant*. 1995 Nov-Dec; 14 (6 Pt 1): 1197–1203.
21. Kemnitz J, Cremer J, Schaeffers HJ, Restrepo-Specht I, Haverich A, Uysal A et al. Some aspects of changed histopathologic appearance of acute rejection in cardiac allografts after prophylactic application of OKT3. *J Heart Lung Transplant*. 1991 May-Jun; 10 (3): 366–372.
22. Hiemann NE, Hetzer R, Meyer R. Quilty effect, acute cellular rejection, and transplant vasculopathy: still controversial. *J Heart Lung Transplant*. 2009 Nov; 28 (11): 1240.
23. Fishbein MC, Bell G, Lones MA, Czer LS, Miller JM, Harasty D et al. Grade 2 cellular heart rejection: does it exist? *J Heart Lung Transplant*. 1994 Nov-Dec; 13 (6): 1051–1057.
24. Marboe CC, Billingham M, Eisen H, Deng MC, Baron H, Mehra M et al. Nodular endocardial infiltrates (Quilty lesions) cause significant variability in diagnosis of ISHLT Grade 2 and 3A rejection in cardiac allograft recipients. *J Heart Lung Transplant*. 2005 Jul; 24 (7 Suppl): S219–226.
25. Clelland C, Fielding S, Storie I, Kennedy A, Smith G, Locke T. A comparison of the cytology of endomyocardial biopsy washings from heart transplants with biopsy histologic study and peripheral blood lymphocyte counts. *J Heart Lung Transplant*. 1997 May; 16 (5): 477–483.
26. Cano LC, Arteta AA, Fernandez R, Garcna-Asenjo JA, Hernandez S, Fernandez D et al. Quilty effect areas are frequently associated with endocardial C4d deposition. *J Heart Lung Transplant*. 2008 Jul; 27 (7): 775–779.
27. Luthringer DJ, Yamashita JT, Czer LS, Trento A, Fishbein MC. Nature and significance of epicardial lymphoid infiltrates in cardiac allografts. *J Heart Lung Transplant*. 1995 May-Jun; 14 (3): 537–543.
28. Hiemann NE, Knosalla C, Wellnhofner E, Lehmkuhl HB, Hetzer R, Meyer R. Quilty in biopsy is associated with poor prognosis after heart transplantation. *Transpl Immunol*. 2008 Jul; 19 (3–4): 209–214.
29. Stewart S, Winters GL, Fishbein MC, Tazelaar HD, Kobashigawa J, Abrams J et al. Revision of the 1990 working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart rejection. *J Heart Lung Transplant*. 2005 Nov; 24 (11): 1710–1720.
30. Michaels PJ, Kobashigawa J, Laks H, Azarbal A, Espejo ML, Chen L et al. Differential expression of RANTES chemokine, TGF-beta, and leukocyte phenotype in acute cellular rejection and quilty B lesions. *J Heart Lung Transplant*. 2001 Apr; 20 (4): 407–416.
31. Sattar HA, Husain AN, Kim AY, Krausz T. The presence of a CD21+ follicular dendritic cell network distinguishes invasive Quilty lesions from cardiac acute cellular rejection. *Am J Surg Pathol*. 2006 Aug; 30 (8): 1008–1013.
32. Jonigk D, Lehmann U, Stuht S, Wilhelmi M, Haverich A, Kreipe H et al. Recipient-derived neoangiogenesis of arterioles and lymphatics in quilty lesions of cardiac allografts. *Transplantation*. 2007 Nov 27; 84 (10): 1335–1342.
33. Laguens RP, Meckert PM, Martino JS, Perrone S, Favalloro R. Identification of programmed cell death (apoptosis) in situ by means of specific labeling of nuclear DNA fragments in heart biopsy samples during acute rejection episodes. *J Heart Lung Transplant*. 1996 Sep; 15 (9): 911–918.
34. Jollow KC, Sundstrom JB, Gravanis MB, Kanter K, Herskowitz A, Ansari AA. Apoptosis of mononuclear cell infiltrates in cardiac allograft biopsy specimens questions studies of biopsy-cultured cells. *Transplantation*. 1997 May 27; 63 (10): 1482–1489.
35. Dong C, Winters GL, Wilson JE, McManus BM. Enhanced lymphocyte longevity and absence of proliferation and lymphocyte apoptosis in Quilty effects of human heart allografts. *Am J Pathol*. 1997 Jul; 151 (1): 121–130.
36. Truell JS, Fishbein MC. Case report of a Quilty lesion within a coronary artery. *Cardiovasc Pathol*. 2006 May-Jun; 15 (3): 161–164.

Статья поступила в редакцию 09.09.2014 г.

DOI: 10.15825/1995-1191-2014-4-125-134

ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ СИСТЕМЫ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ГАЗООБМЕНА (HEMOLUNG) В ПЕДИАТРИИ

Мусин Е.А.¹, Буланин Д.С.¹, Джеффрис Р.Дж.², Жумадилов Ж.Ш.¹,
Олжаев Ф.С.¹, Федерспил В.Дж.²

¹ ЧУ «Центр наук о жизни» АОО «Назарбаев Университет», Астана, Республика Казахстан

² Институт регенеративной медицины МакГоуэна, Питтсбургский университет, Питтсбург, Пенсильвания, США

Цель. Основной целью данной работы является получение первичных данных о нагнетательной способности гемопомпы устройства Hemolung и способности обеспечить адекватный уровень газообмена при использовании катетеров уменьшенного диаметра и скорости кровообращения, применимой у детей. **Материал и методы.** Проведены стендовые тестирования устройства экстракорпорального газообмена с использованием катетеров уменьшенного диаметра на примере бычьей крови и водного раствора карбоксиметилцеллюлозы с определением обеспечиваемого гидродинамического давления в контуре, проведением анализа газов крови и регистрацией параметров функционирования устройства. **Результаты.** Кривая результатов тестирования нагнетательной способности показала, что при максимальных значениях вращения помпы имеется возможность достижения значительно большей скорости кровотока, чем требуется, согласно поставленным задачам – 280,0 мл/мин, применяемой в педиатрии. На основании расчетов определена возможность использования устройства в режиме вено-артериального доступа к кровеносному руслу при наличии гидростатического сопротивления, равного 80–100 мм рт. ст. По результатам эксперимента скорость элиминации углекислого газа увеличивалась по мере возрастания скорости вращения помпы и достигала максимального значения $168 \pm 0,3$ мл/мин при скорости вращения 1750 об./мин и скорости кровотока $670,0 \pm 42,0$ мл/мин. В режиме «пассивного оксигенатора», с учетом ограниченной площади газообменной поверхности, устройство позволяет достигнуть уровня сатурации 81 и 78% при подаче кислорода в систему со скоростью 1,5 и 2,0 л/мин соответственно. **Заключение.** Полученные предварительные экспериментальные данные свидетельствуют о перспективах применения устройства экстракорпорального газообмена Hemolung в педиатрии.

Ключевые слова: тяжелая дыхательная недостаточность, экстракорпоральный газообмен, педиатрия, оксигенация.

EVALUATION OF EXTRACORPOREAL GAS EXCHANGE DEVICE HEMOLUNG FOR POTENTIAL APPLICATION IN PEDIATRIC PRACTICE

Mussin Y.A.¹, Bulanin D.S.¹, Jeffries R.G.², Zhumadilov Zh.Sh.¹,
Olzhayev F.S.¹, Federspiel W.J.²

¹ Center for Life Sciences, Nazarbayev University, Astana, Republic of Kazakhstan

² McGowan Institute for Regenerative Medicine, University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA, USA

Aim. The main purpose of this work is to evaluate the Hemolung pumping ability and gas exchange effectiveness while using the catheters of smaller diameter and blood flow rates, applied in pediatrics. **Material and methods.** The bench testing of the device with pediatric catheters has been performed. The bovine blood and carboxymethylcellulose water solution were used as a model. The device operation data, blood gas analysis and hydrodynamic pressure data were collected. **Results.** The pump curve results show that at the maximum rotation rate the Hemolung device was able to achieve blood flow rates substantially greater than targeted 280 ml/min that is used in pediatrics. The calculated operating curve plotted against the observed pressure-flow relationships

Для корреспонденции: Мусин Ербол Абаевич. Адрес: Республика Казахстан, 010000, г. Астана, проспект Кабанбай батыра, 53, офис 1173. Тел. +7 (7172) 70-64-93. E-mail: ymussin@nu.edu.kz.

shows that the device could be able to operate against pressure heads of 80 and 100 mm Hg. In general, carbon dioxide elimination rate increased along with increase of the rotation rate, reaching maximum levels of 168 ± 0.3 ml CO₂/min at 1750 RPM and a blood flow rate of 670 ± 42 ml/min. As a passive oxygenator, the small gas exchange fiber surface area of the Hemolung resulted in oxygen saturations of 81% and 78% at 1.5 and 2.0 L/min, respectively. **Conclusion.** The results of this study show the prospect of application of the Hemolung system in pediatrics.

Key words: severe respiratory failure, extracorporeal gas exchange, oxygenation, pediatrics.

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день на рынке существует ограниченное количество медицинского оборудования, предназначенного для лечения тяжелой дыхательной недостаточности в педиатрии. Как следствие, в клинической практике применяются устройства, изначально разработанные для взрослых пациентов. В связи с этим в последнее десятилетие наметилась устойчивая тенденция к разработке медицинского оборудования, специально предназначенного для применения в детской практике, в частности в области устройств для поддержания функций сердца и легкого. В настоящее время осуществляется разработка новых и совершенствование имеющихся устройств, специально предназначенных для обеспечения респираторной поддержки в педиатрии, которые позволят не только осуществлять достаточную оксигенацию, но и эффективно элиминировать углекислый газ (CO₂) из крови.

Создание принципиально новых видов медицинского оборудования и совершенствование ранее разработанных методов диагностики и лечения заболеваний и тяжелых недугов на современном этапе занимает одно из лидирующих позиций, как в биомедицинской науке, так и в структуре продукции, производимой для рынка медицинских услуг. В настоящее время в мировой науке отмечается возрастающая тенденция вкладывания значительных финансовых средств для реализации проектов по созданию устройств, замещающих те или иные функции человеческого организма. История создания таких медицинских аппаратов, как «искусственная почка», вспомогательные желудочковые устройства, экстракорпоральная мембранная оксигенация, насчитывает всего лишь несколько десятков лет интенсивного развития.

Проблема лечения необратимых и хронических заболеваний легких на текущий момент может быть решена только путем трансплантации легких. К сожалению, возможности трансплантации ограничены по причине нехватки донорских органов, а также отсутствия надлежащих промежуточных способов поддержания функции внешнего дыхания в качестве «мостика» к проведению трансплантации органа. В этой связи прилагаются значительные усилия к разработке устройств вспомогательного легкого, которые способны обеспе-

чить адекватную респираторную поддержку при дыхательной недостаточности. За прошедшее десятилетие был разработан и предложен целый ряд таких устройств. Эти устройства, также называемые оксигенаторами и аппаратами искусственного легкого, способны обеспечивать полную либо частичную респираторную поддержку [1] и устанавливаются интра- и паракорпорально [2]. Такие интраваскулярные устройства вспомогательного легкого, как IVOX [3], ILAD [4], интраваскулярное легкое PennState [5], катетер Хаттлера (Hattlercatheter) [6], могут имплантироваться в *v. cava*. Несмотря на все достижения в данной области, все вышеописанные устройства могут обеспечить лишь частичную респираторную поддержку. Для того чтобы улучшить уровень газообмена в этих устройствах, были предложены различные методы – активного перемешивания, ротации, осцилляции и пульсирующего баллона [7]. Паракорпоральные устройства вспомогательного легкого в большинстве случаев разрабатываются с целью обеспечения полной респираторной поддержки. Эти устройства имеют аналогичную конструкцию с оксигенаторами, используемыми в кардиохирургии. Многие из них обладают сниженным сопротивлением кровотоку и функционируют в зависимости от давления в магистральных сосудах. BioLung, разработанный корпорацией MC3 [8], и Thoracicartificiallung, разработанный группой исследователей из Northwestern University [9], представляют собой паракорпоральные устройства, использующие давление кровотока легочной артерии для обеспечения циркуляции в газообменном картридже устройства, что зависит от функциональных возможностей правых отделов сердца. Интервенционное устройство легочной поддержки Novalung, относящееся к оборудованию, имеющему низкое сопротивление кровотоку, устанавливается между системой артериального кровотока и магистральными венами. Это устройство позволяет элиминировать углекислый газ (CO₂) из крови и частично ее оксигенировать [10]. Для преодоления всех недостатков, связанных с пассивным кровотоком в устройстве, наиболее оптимальным представляется применение комбинаций, сочетающих в себе оксигенатор и гемопомпу, что значительно расширяет спектр применения тако-

го медицинского оборудования. Нагнетание крови может быть достигнуто либо путем встраивания помпы в оксигенатор [11], ротацией пропеллера в оксигенаторе [12], либо вращением газообменных полволоконных трубочек [13, 14].

В связи с вышесказанным в настоящее время осуществляется создание новых и совершенствование имеющихся методов в попытках создания устройства «искусственного легкого», позволяющего не только осуществлять достаточную оксигенацию крови, но и эффективно элиминировать углекислый газ (CO_2) из кровяного русла.

Основной целью данной работы, предваряющей эксперименты *in vivo*, является получение первичных данных о нагнетательной способности гемопомпы устройства Hemolung и способности обеспечить адекватный уровень газообмена при использовании катетеров меньшего диаметра и скорости кровообращения, применимой у детей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Описание устройства. Hemolung Respiratory Assist System разработан в Лаборатории медицинского оборудования Института регенеративной медицины МакГауэна Питтсбургского университета (McGowan Institute for Regenerative Medicine, University of Pittsburgh, Pennsylvania, USA) при участии ALung Technologies Company Inc. (рис. 1). Это устройство прошло клиническое испытание на взрослых пациентах в Германии и получило разрешение на продажу в Европе, Канаде и Австралии.

Система Hemolung – это интегрированное низкотоковое устройство контролируемой элиминации углекислого газа (CO_2) и оксигенации крови с вакуумным принципом работы, прошедшее клинические исследования для применения у взрослых пациентов с тяжелой дыхательной недостаточностью [15].

Все компоненты системы, такие как гемопомпа, контроллер, газообменный картридж, теплообменник и т. д., объединены в едином агрегате и не требуют участия перфузиолога для сборки отдельных компонентов. Простота управления заключается в регулировании скорости вращения помпы и скорости потока газа. Система Hemolung функционирует в пределах значений скорости кровотока до 750,0 мл/мин с применением вено-венозного доступа к магистральным сосудам.

Система состоит из следующих составных частей: газообменного картриджа, предназначенного для разового применения (рис. 2), с интегрированной гемопомпой, системы магистральных трубок для крови и основного блока управления, включающего в себя контроллер, монитор и источник бесперебойного питания.



Рис. 1. Внешний вид Hemolung Respiratory Assist System



Рис. 2. Составные компоненты газообменного картриджа на разрезе: А – корпус газообменного картриджа; Б – газообменная полипропиленовая мембрана; В – встроенный вращающийся барабан; Г – подшипник; Д – верхний штуцер; Е – свободное пространство между корпусом и барабаном; Ж – каналы внутри барабана; З – канал для газа, поступающего в картридж; И – канал для газа, выходящего из картриджа; К – нижний штуцер; Л, М – штуцеры; Н – встроенные магниты

В корпус основного блока системы (рис. 1) вмонтирована литий-ионная аккумуляторная батарея, позволяющая функционировать в авто-

номном режиме в течение не менее одного часа, и регистратор параметров работы оборудования, способный регистрировать данные с двухминутным интервалом. Каждый агрегат связан воедино с центральной электронной платой управления с выводом данных о состоянии на дисплей управления устройством.

Центрального внимания заслуживает газообменный картридж (рис. 2), представляющий собой цилиндрическую камеру (А) диаметром 11,0–12,0 см из медицинского поликарбоната. Картридж имеет газообменную мембрану (Б) из полуволоконного пористого полипропилена и встроенный центрифужный насос (В). Насос представлен интегрированным вращающимся барабаном с гладкой поверхностью и необходим для продвижения крови по контуру системы. Первичный объем заполнения газообменного картриджа составляет 144,0 мл.

Газообменная мембрана (Б) представлена 12–13 слоями полуволоконных пористых трубочек, покрытых силоксаном и гепарином, расположенных вертикально по периферии картриджа. Граница газового сектора проходит внутри каждой трубочки, омываемой кровью снаружи. В газовом секторе поддерживается пониженное давление, увеличивая разницу парциального давления углекислого газа. Система имеет функцию удаления (продувки) конденсата из просвета трубок, наличие которого в аналогичных устройствах приводит к значительному снижению эффективности газообмена. Площадь поверхности мембраны составляет 0,59 м². Внутренний вращающийся барабан (В) покоится на подшипнике (Г), снаружи покрытом силиконовым сальником из гемосовместимого материала. Барабан вращается со скоростью до 2000–2500 об./мин. Кровь из венозного русла поступает через верхний штуцер (Д) диаметром 1/4", где создается «отрицательное» давление и распределяется через каналы (Ж) и по периферии сквозь пространство (Е) между барабаном (В) и корпусом картриджа (А) за счет вращения внутреннего барабана под действием центробежных сил. Далее, смешиваясь, опускается вниз, проходя между полуволоконными трубочками, теряет избыточный углекислый газ и обогащается кислородом под действием разницы парциального давления. Эффективность газообмена достигается за счет активного перемешивания крови. Эвакуация оксигенированной крови осуществляется через штуцер (К) в нижней части боковой стенки картриджа под действием центробежных сил со скоростью от 0 до 750,0 мл/мин. Газ, поступающий через верхний штуцер (Л), попадает в канал (З), после чего проходит сквозь полуволоконную полипропиленовую мембрану (Б). Затем газ удаляется через специализированный канал (И).

Картридж покоится на основном блоке. Передача движущего момента производится посредством десяти магнитов (Н), заключенных в нижнюю часть барабана картриджа, и соответствующих им 10 парных магнитов, расположенных на роторе электродвигателя контроллера. Система контуров и непосредственно картридж выполнены из толстостенного полимерного материала, значительно снижающего потери тепла. Часть тепла передается от ротора и в целом разница температур весьма незначительна – 0,5 °С.

Одной из характеристик данного устройства является то, что в первый час работы устройства уровень удаления углекислого газа составляет 25,0 мл в минуту и достигает необходимого значения (40,0–50,0 мл/мин) при скорости вращения ротора в 1150 об./мин. Уровень газообмена имеет линейную зависимость со скоростью перемешивания крови в картридже.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

In vitro исследования проводились совместно с зарубежными партнером на базе отдела доклинических исследований Лаборатории искусственных органов Института регенеративной медицины МакГоуэна, Университета Питтсбурга, США. Описываемые стендовые исследования были выполнены с целью получения предварительной информации о нагнетательной способности гемопомпы, способности устройства функционировать в вено-артериальном режиме, выявления уровня обеспечиваемого газообмена с использованием магистралей уменьшенного диаметра при функционировании системы со скоростью от 280,0 мл/мин и определения функциональных возможностей картриджа в режиме оксигенатора. Целевая скорость кровотока определена как 280 мл/мин, исходя из расчетной скорости кровотока при проведении ЭКМО для доношенного новорожденного 100 мл·кг/мин [16].

Компоненты системы

Все исследования *in vitro* были проведены с применением стандартных составляющих системы Hemolung для взрослых за исключением катетеров и измененного программного обеспечения устройства. Контур, соединяющийся с катетерами, имели размеры: длина – 1,82 м (6 футов), внутренний диаметр просвета – 6,35 мм (1/4 дюйма). При проведении тестирования для забора крови использовался однопросветный катетер 10 Fr для бедренной вены производства компании Bio-Medicus (США). Для возврата крови использовался однопросветный артериальный катетер 8 Fr производства компании

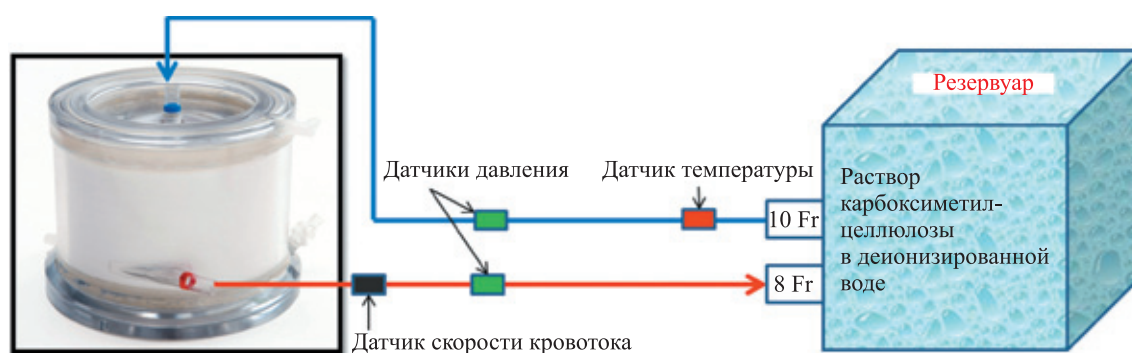


Рис. 3. Схематическое изображение тестового контура для *in vitro* изучения нагнетательной способности устройства с катетером уменьшенного диаметра

Medtronic DLP (США). Однопросветный артериальный катетер Medtronic DLP имеет совместимые качественные характеристики с 10 Fr однопросветным катетером Bio-Medicus, используемым для бедренной вены в целевом диапазоне скоростей кровотока, где потеря давления составляет меньше 1 мм рт. ст. вплоть до скорости в 500 мл/мин (для воды). В связи с необходимостью снижения циркуляторной резистентности для достижения больших скоростей кровотока при меньших скоростях вращения помпы рассматривалось потенциальное применение вено-венозного способа катетеризации как наиболее оправданного для обеспечения респираторной поддержки.

Изучение нагнетательной способности помпы *in vitro*

Для оценки способности системы Nemolung обеспечить необходимый диапазон скорости кровотока с использованием катетеров уменьшенного диаметра были проведены испытания с раствором, аналогичным по вязкости крови. В качестве такого раствора использовался водный раствор карбоксиметилцеллюлозы в деионизированной воде (8 мг/мл).

Схема «контура», использованного в тестировании *in vitro*, представлена на рис. 3.

Первые два конца контура, использованного в тестировании *in vitro*, присоединялись к картриджу, а другие два – к резервуару с раствором. Каждый из экспериментов выполнялся при температуре 37 °С с использованием водного раствора карбоксиметилцеллюлозы в деионизированной воде (8 мг/мл). Перед началом эксперимента определялась вязкость используемого раствора при помощи вискозиметра методом «падающего шарика». При вышеуказанной температуре в контуре вязкость раствора находилась в пределах 3,3–3,5 сП. Давление, производимое в контуре, регистрировалась при максимальном, нулевом и трех промежуточных показателях скорости

кровотока в промежутке от 750 до 2000 об./мин с шагом прироста скорости в 250 об./мин.

Оценка уровня обеспечиваемого газообмена *in vitro*

Целью настоящего теста была оценка способности системы Nemolung обеспечить адекватный газообмен при условии применения катетеров диаметром 8 и 10 Fr. Модифицированная версия тестовой петли, используемая в данном исследовании, схематически представлена на рис. 4. В качестве тестового раствора использовалась бычья кровь.

Исходным компонентом контура в цикле циркуляции крови служил первичный резервуар с бычьей кровью. Из данного резервуара кровь поступала к двум деоксигенаторам. В качестве деоксигенаторов использовались оксигенаторы, имеющие функцию смешивания газов $O_2/N_2/CO_2$ для циркулирующей крови, установленные непосредственно перед картриджем Nemolung. Наличие деоксигенаторов на входе в газообменный картридж Nemolung давало возможность изменять уровень парциального давления углекислого газа (pCO_2) и насыщения кислородом крови (SvO_2) и позволило привести кровь к нормокапническому состоянию (45 ± 5 и $65 \pm 5\%$ мм рт. ст. соответственно). Для предотвращения создания отрицательного давления в оксигенаторах в результате работы помпы Nemolung в петлю был включен дополнительный центрифужный насос. Скорость вращения центрифужного насоса корректировалась по мере необходимости во время эксперимента для поддержания положительного давления жидкости в деоксигенаторах.

По достижении вышеперечисленных параметров pCO_2 и SvO_2 происходило отключение центрифужного насоса и переключение контура кровообращения на контур тестируемого устройства. Далее кровь поступала через тестируемое устройство в дренажный резервуар. После регистрации соот-

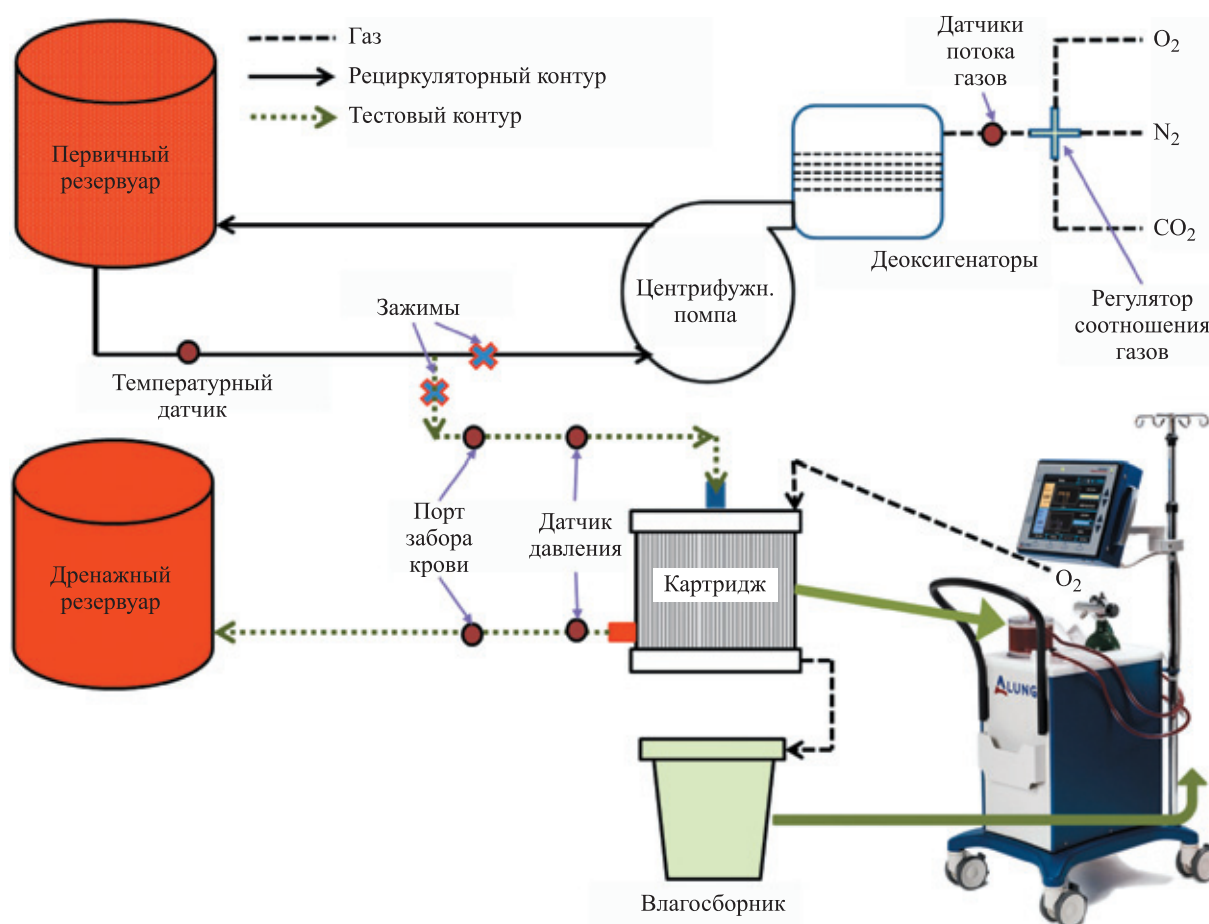


Рис. 4. Схематическое изображение компонентов контура для оценки уровня обеспечиваемого газообмена *in vitro*

ветствующих параметров в контуре тестируемого устройства и забора проб крови происходило прекращение работы помпы тестируемого устройства экстракорпорального газообмена с перенаправлением крови в первичный резервуар и возобновлением циркуляции через деоксигенатор. Необходимо отметить, что через тестируемое устройство подавался чистый кислород (100%) со скоростью потока в 8,0 л/мин. В ходе эксперимента производилось определение параметров, относящихся как к газовому, так и жидкостному пространству устройства. Содержание углекислого газа было определено путем вычисления разницы его содержания в исходящем из картриджа отрезке контура с исходными данными (до прохождения крови через газообменный картридж устройства). Перед каждым измерением конечных показателей газообмена проводилось измерение стандартных параметров во входящем в картридж отрезке контура (например, $p\text{CO}_2$, $s\text{O}_2$, pH, общий гемоглобин). Регистрировался минимальный из двух результатов измерений того или иного параметра при скоростях вращения помпы от 750 до 1750 об./мин, с интервалом в 250 об./мин. Скорость потока газа (кислорода), представленная в результатах, имеет погрешность

в 10–20 мл/мин при каждой величине скорости кровотока.

Тестирование устройства в режиме «пассивного» оксигенатора

Как было описано выше, помимо удаления CO_2 из крови данное устройство обладает функцией оксигенатора. Следовательно, целью данного теста была оценка возможности использования данного устройства в качестве оксигенатора.

Оксигенирующая способность устройства – объем нормальной венозной крови, который может быть насыщен кислородом от 75 до 95% при помощи того или иного устройства за единицу времени (л/мин) [17]. То есть чем выше этот показатель, тем выше функциональные возможности устройства.

Настоящий эксперимент был проведен с использованием чистого кислорода при помощи модифицированного проверочного контура аналогично представленному на рис. 4. Поток крови направлялся по рециркуляторному контуру с целью приведения параметров крови к нормокапническим (рис. 4), либо по контуру самого тестируемого устройства для непосредственной оценки газообме-

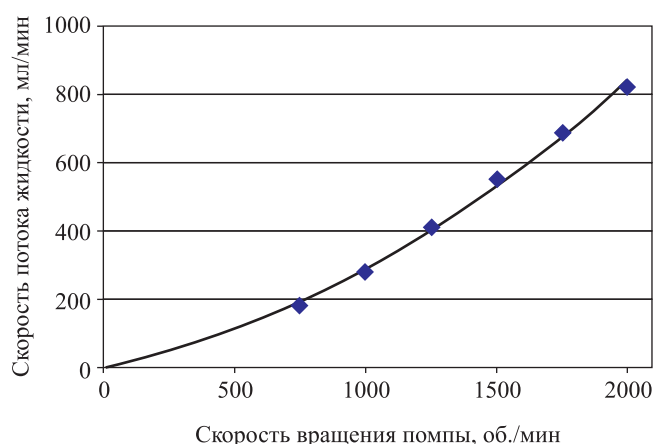


Рис. 5. Зависимость скорости потока жидкости (водный раствор карбоксиметилцеллюлозы вязкостью 3,3–3,5 сантипуаз) от скорости вращения помпы *in vitro* с использованием катетеров 8–10 Fr

на. Циркуляция крови обеспечивалась при помощи дополнительного независимого центрифужного насоса, а не при помощи вращения встроенной в картридж гемопомпы. В эксперименте использовались трубки диаметром 1/4 дюйма (6,35 мм), общей длиной 12 футов (3,66 м), диаметр входного штока 16 Fr, выходного – 14 Fr. Применение настоящей конфигурации было продиктовано необходимостью минимизации сопротивления потоку крови с целью исключения влияния фактора активного перемешивания крови, что заведомо повышает уровень эффективности газообмена. Эффективность газообмена при исключении фактора активного перемешивания крови в картридже должна быть ниже той, которая могла быть получена при использовании катетеров меньшего диаметра. Это связано с тем, что при обеспечении одной и той же скорости кровотока в случае использования катетера уменьшенного диаметра увеличивается препятствие потоку крови в устройстве Nemolung. Это требует увеличения скорости вращения помпы, что, в свою очередь, приводит к улучшению перемешивания крови и улучшению эффективности газообмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты испытаний нагнетательной способности устройства *in vitro*

Результаты тестирования нагнетательной способности устройства представлены в виде зависимости скорости кровотока от скорости вращения помпы (рис. 5) и значений потери давления (рис. 6).

Кривая тестирования нагнетательной способности демонстрирует, что при максимальных значениях вращения помпы, соответствующих 2000 об./мин, скорость потока жидкости достигала 800 мл/мин.

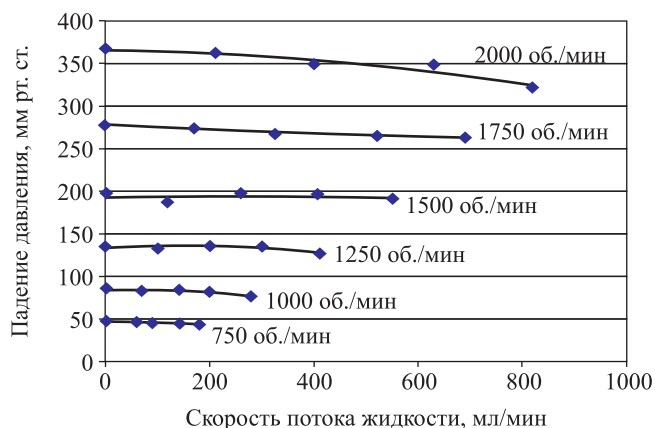


Рис. 6. Падение давления в зависимости от скорости потока жидкости (водный раствор карбоксиметилцеллюлозы вязкостью 3,3–3,5 сантипуаз) при различных значениях скорости кровотока в устройстве Nemolung

Данный показатель значительно превышает необходимое целевое значение – 280 мл/мин. Тест был проведен в режиме, моделирующем вено-венозный доступ к магистральным сосудам. Оба свободных конца трубок контура с нулевым значением падения давления были присоединены к резервуару (рис. 3). Для анализа работы нагнетательной способности помпы против различных показателей сопротивления потоку для вено-артериального доступа было осуществлено прогнозирование, представленное ниже (рис. 7).

Диаграмма демонстрирует поведение кривой при работе устройства в условиях вено-венозного режима, а также характеризует работу устройства против напора потока жидкости в 80 и 100 мм рт. ст. Предполагаемые рассчитанные значения скорости потока жидкости при соответствующих значениях работы помпы отображены в табл. 1.

Таблица 1

Предполагаемые рассчитанные значения скорости потока жидкости при соответствующих значениях скорости вращения помпы

Скорость вращения помпы, об./мин	Вено-венозный (0 мм рт. ст.), мл/мин	Вено-артериальный (80 мм рт. ст.), мл/мин	Вено-артериальный (100 мм рт. ст.), мл/мин
750	170	–	–
1000	270	20	–
1250	410	210	140
1500	560	380	320
1750	700	550	500
2000	820	690	660

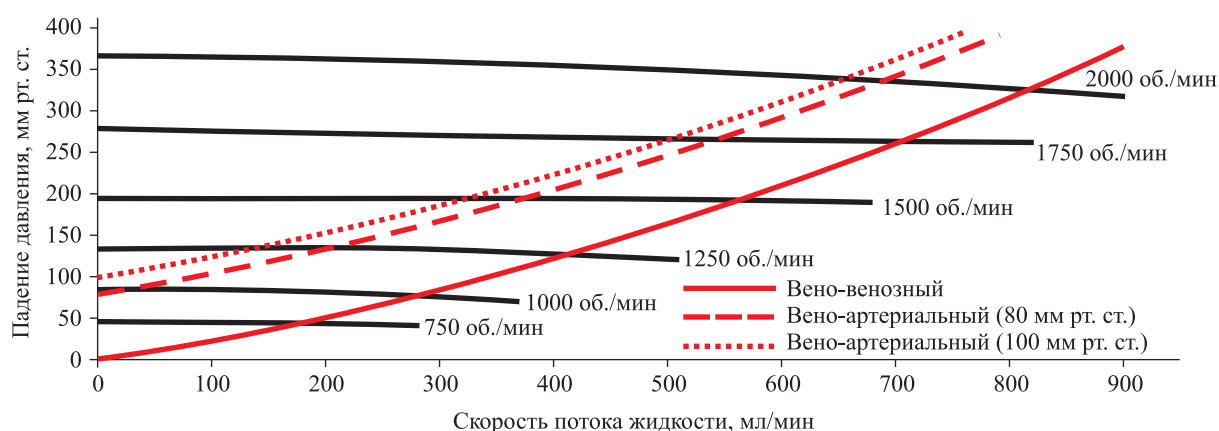


Рис. 7. Расчетные значения нагнетательной способности устройства в условиях применения вено-артериального доступа к магистральным сосудам (давление сопротивления артериального кровотока 80 и 100 мм рт. ст.) с учетом полученных результатов испытаний нагнетательной способности устройства

На основании приведенных расчетов можно сделать заключение о том, что потенциальное значение скорости кровотока, несмотря на сопротивление, при вено-артериальном доступе значительно превышает требуемые целевые показатели. Это свидетельствует о потенциальной возможности использования данного устройства как в режиме вено-венозного, так и в режиме вено-артериального доступа к кровеносному руслу.

Результаты оценки газообмена *in vitro*

На рис. 8, а также в табл. 2 представлены результаты оценки газообмена, полученные в экспериментах с использованием бычьей крови. При применении устройства Nemolung для взрослых пациентов используются катетеры 15 Fr, тогда как для детского организма используются катетеры уменьшенного диаметра, 8–10 Fr.

Использование катетеров диаметром 8–10 Fr привело к снижению пропускной способности и возникновению дополнительного сопротивления в контуре. В связи с этим возникла необходимость

увеличения скорости вращения помпы, что привело к более активному перемешиванию крови в картридже с уменьшением диффузионного пограничного слоя на поверхности мембраны. В итоге увеличение интенсивности перемешивания способствовало улучшению газообмена крови в картридже.

В заключение необходимо подчеркнуть, что скорость элиминации углекислого газа нарастала по мере увеличения скорости вращения помпы и достигала максимального значения $168 \pm 0,3$ мл/мин при скорости вращения помпы 1750 об./мин и скорости кровотока $670,0 \pm 42,0$ мл/мин.

Таблица 2

Результаты газообмена *in vitro*

Скорость вращения, об./мин	$v\text{CO}_2$, мл/мин	Q_b , мл/мин
750	79 ± 5	187 ± 6
1000	102 ± 11	280 ± 0
1250	134 ± 8	413 ± 6
1500	144 ± 18	550 ± 0
1750	$168 \pm 0,3$	670 ± 42

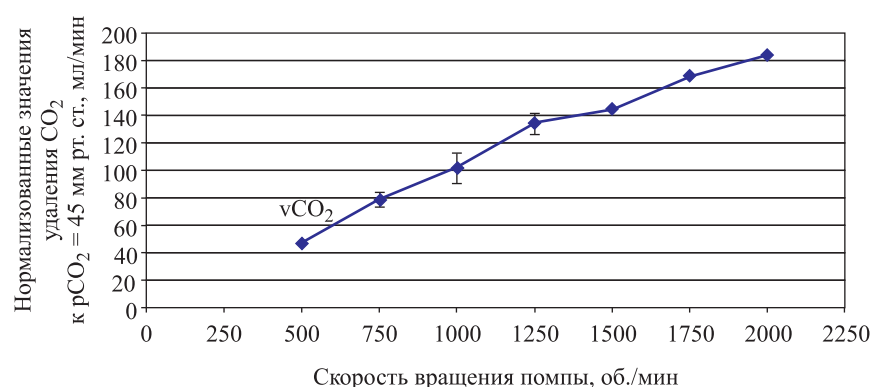


Рис. 8. Результаты *in vitro* оценки газообмена с использованием бычьей крови

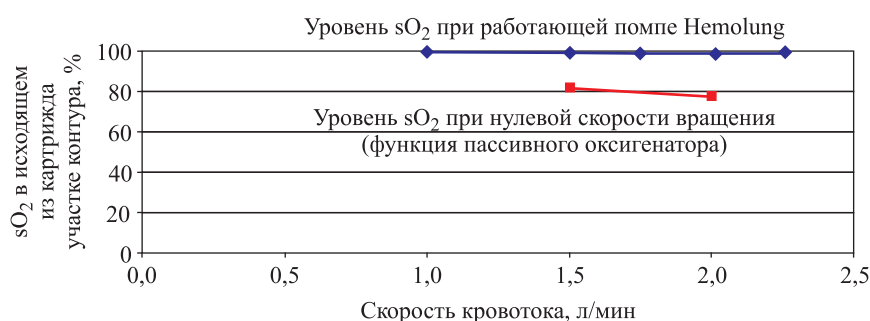


Рис. 9. Результаты оценки оксигенирующей способности устройства Hemolung

Результаты тестирования устройства в режиме «пассивного» оксигенатора

На рис. 9 представлены результаты тестирования устройства в режиме «пассивного» оксигенатора.

На данном графике представлена зависимость уровня оксигенации крови от скорости кровотока при активном перемешивании (синяя линия) и в отсутствие перемешивания (при выключенной помпе Hemolung). Степень оксигенации в современных оксигенаторах непосредственно зависит от скорости потока кислорода и скорости кровотока. В режиме «пассивного оксигенатора» с учетом ограниченной площади газообменной поверхности устройство позволяет достигнуть уровня сатурации 81 и 78% при показателях скорости кровотока 1,5 и 2,0 л/мин соответственно. Наличие функции активного перемешивания в устройстве Hemolung позволяет обеспечить достаточный уровень оксигенации 100% при каждом из указанных значений скорости кровотока. Результат теста демонстрирует, что достигнутые уровни газообмена с использованием чистого кислорода намного превышают физиологическую потребность газообмена у детей, что свидетельствует о более широких возможностях использования данного прибора в качестве оксигенатора.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Кривая тестирования нагнетательной способности демонстрирует, что при максимальных значениях вращения помпы имеется возможность достижения значительно больших скоростей кровотока, нежели целевые 280,0 мл/мин. На основании расчетов имеется возможность использования устройства в режиме вено-артериального доступа к кровеносному руслу. Скорость элиминации углекислого газа нарастала по мере увеличения скорости вращения помпы и достигала максимального значения $168 \pm 0,3$ мл/мин при скорости вращения 1750 об./мин и скорости кровотока $670,0 \pm 42,0$ мл/мин. Результат теста демонстрирует, что достигнутые уровни газообмена с чистым кислородом намного превышают

потребность, необходимую для адекватного газообмена у детей, что свидетельствует о более широких возможностях обеспечения крови кислородом.

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о перспективах применения устройства экстракорпорального газообмена Hemolung в педиатрии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lick SD, Zwischenberger JB. Artificial lung: bench toward bedside. *ASAIO J.* 2004; 50: 2–5.
2. Federspiel WJ, Svitek RG. Lung, artificial: current research and future directions. Wnek GE, Bowlin GL, eds. *Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering*. New York: Marcel Dekker, Inc, 2004: 922–931.
3. Conrad SA, Zwischenberger JB, Eggerstedt JM, Bidani A. In vivo gas transfer performance of the intravascular oxygenator in acute respiratory failure. *Artif Organs*. 1994; 18: 840–845.
4. Makarewicz AJ, Mockros LF, Anderson RW. A dynamic intravascular artificial lung. *ASAIO J.* 1994; 40: 747–750.
5. Snider MT, High KM, Richard RB et al. Small intrapulmonary artery lung prototypes: design, construction, and in vitro water testing. *ASAIO J.* 1994; 40: 533–539.
6. Hattler BG, Reeder GD, Sawzik PJ et al. Development of an intravenous membrane oxygenator: enhanced intravenous gas exchange through convective mixing of blood around hollow fiber membranes. *Artif Organs*. 1994; 18: 806–812.
7. Eash HJ, Budilarto SG, Hattler BG, Federspiel WJ. Investigating the effects of random balloon pulsation on gas exchange in a respiratory assist catheter. *ASAIO J.* 2006; 52: 192–195.
8. Sato H, McGillicuddy JW, Griffith GW et al. Effect of artificial lung compliance on in vivo pulmonary system hemodynamics. *ASAIO J.* 2006; 52: 248–256.
9. Cook KE, Perlman CE, Seipelt R, Backer CL, Mavroudis C, Mockros LF. Hemodynamic and gas transfer properties of a compliant thoracic artificial lung. *ASAIO J.* 2005; 51: 404–411.
10. Matheis G. New technologies for respiratory support. *Perfusion*. 18: 245–251.
11. Mueller XM, Jegger D, Augstburger M, Horisberger J, Godar G, von Segesser LK. A new concept of integra-

- ted cardiopulmonary bypass circuit. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2002; 21: 840–846.
12. Tatsumi E, Takano H, Taenaka Y et al. Development of an ultracompact integrated heart-lung assist device. *Artif Organs*. 1999; 23: 518–523.
13. Wu ZJ, Holmes JA, Griffith BP, Gartner MJ. Flow dynamics of an active mixing pump-oxygenator. *ASAIO J*. 2001; 47: 133.
14. Wu ZJ, Gartner M, Litwak KN, Griffith BP. Progress toward an ambulatory pump-lung. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2005; 130: 973–978.
15. Available from: <http://www.alung.com/>
16. Meurs K, Lally KP, Peek G, Zwischenberger JB ed. ECMO–Extracorporeal Cardiopulmonary Support in Critical Care, 3rd ed. Ann Arbor, MI: *Extracorporeal Life Support Organization*. 2005; 278.
17. Meurs K, Lally KP, Peek G, Zwischenberger JB ed. ECMO–Extracorporeal Cardiopulmonary Support in Critical Care, 3rd ed. Ann Arbor, MI: *Extracorporeal Life Support Organization*. 2005; 10.

Статья поступила в редакцию 05.11.2014 г.

DOI: 10.15825/1995-1191-2014-4-125-134

EVALUATION OF EXTRACORPOREAL GAS EXCHANGE DEVICE HEMOLUNG FOR POTENTIAL APPLICATION IN PEDIATRIC PRACTICE

Mussin Y.A.¹, Bulanin D.S.¹, Jeffries R.G.², Zhumadilov Zh.Sh.¹,
Olzhayev F.S.¹, Federspiel W.J.²

¹ Center for Life Sciences, Nazarbayev University, Astana, Republic of Kazakhstan

² McGowan Institute for Regenerative Medicine, University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA, USA

Aim. The main purpose of this work is to evaluate the Hemolung pumping ability and gas exchange effectiveness while using the catheters of smaller diameter and blood flow rates, applied in pediatrics. **Material and methods.** The bench testing of the device with pediatric catheters has been performed. The bovine blood and carboxymethylcellulose water solution were used as a model. The device operation data, blood gas analysis and hydrodynamic pressure data were collected. **Results.** The pump curve results show that at the maximum rotation rate the Hemolung device was able to achieve blood flow rates substantially greater than targeted 280 ml/min that is used in pediatrics. The calculated operating curve plotted against the observed pressure-flow relationships shows that the device could be able to operate against pressure heads of 80 and 100 mm Hg. In general, carbon dioxide elimination rate increased along with increase of the rotation rate, reaching maximum levels of 168 ± 0.3 ml CO₂/min at 1750 RPM and a blood flow rate of 670 ± 42 ml/min. As a passive oxygenator, the small gas exchange fiber surface area of the Hemolung resulted in oxygen saturations of 81% and 78% at 1.5 and 2.0 L/min, respectively. **Conclusion.** The results of this study show the prospect of application of the Hemolung system in pediatrics.

Key words: severe respiratory failure, extracorporeal gas exchange, oxygenation, pediatrics.

INTRODUCTION

Few products emerge from the modern day in medical devices' industry for respiratory support with a specific pediatric application. As a result, in pediatric practice clinicians frequently use the devices initially developed for adult patients. During recent decades there is stable trend of development of medical equipment specifically focused for pediatric application, especially for cardiac and respiratory support devices. Nowadays, the development of new and improvement of available devices specifically designated for respiratory support in pediatrics are being performed to provide adequate oxygenation and carbon dioxide (CO₂) elimination from the blood. Creation of fundamentally new types of medical equipment and improvement of previously developed methods for diagnostic and treatment of diseases and severe disorders take the leading positions both in biomedical sciences and healthcare industry (among the products for healthcare market). Currently, there are more and more research projects worldwide proposed to develop artificial organs, i.e. the devices replacing the functions of human inner organs. The development of such type of medical equipment as artificial kidney, ventricular assist device, extracorporeal membrane oxygenation has only few decades of history.

Currently, lung transplantation is the only adequate solution for the treatment of irreversible and chronic lung diseases. Unfortunately, transplantation resources are limited due to the lack of donor organs and proper interim methods to maintain respiratory functions as a bridge for lung transplantation. Accordingly, the stated above substantial efforts were contributed into development of artificial lung device that is capable to provide effective lung assist for respiratory failure treatment. A number of such devices has been developed since the beginning of this century. These devices also named oxygenators are capable to provide partial or total respiratory support [1] and can be placed intra- or paracorporeally [2]. Some of them can be installed in *V. cava*. They are IVOX [3], ILAD [4], Penn State intravascular lung [4], Hattler catheter [6]. Despite the achievements in this research area all the devices mentioned above are able to provide partial respiratory support. In attempt to improve the gas exchange effectiveness several methods were suggested: blood active mixing, rotation, oscillation and application of pulsatile balloon [7]. Paracorporeal lung assist devices are mainly focused for total respiratory support. They have similar structure with the oxygenator used in cardiac surge-

For correspondence: Mussin Yerbol Abayevich. Address: 53 Kabanbay batyr ave., Astana, 010000, Republic of Kazakhstan. Tel. +7 (7172) 70-64-93. E-mail: ymussin@nu.edu.kz.

ry. Some of them have low resistance for blood flow and operate under circuit blood pressure in the major vessels. BioLung developed by MC3 corporation [8] and Thoracic artificial lung developed by Northwestern University research team [9] are the paracorporeal devices that use pulmonary artery blood pressure to provide circulation in gas exchange cartridge and their operation depends on functional status of right heart. The Novalung interventional lung assist device also has low blood flow resistance and is placed between major artery and venous vessel. This device is able to eliminate CO_2 and oxygenate the blood [10]. The better way to avoid the disadvantages of passive blood circulation is to combine an oxygenator and blood pump that would significantly extend the spectrum of application of the device of such kind. Blood pumping may be achieved by integrating the blood pump into the oxygenator [11], rotating impeller inside the oxygenator [12], or rotating hollow fiber bundle [13, 14].

Currently, the creation of artificial lung device through development of new methods and improvement of the available ones is being performed to provide adequate oxygenation and effective CO_2 removal from the blood.

The main goal of this work preceding the animal trials was to gain a preliminary data about Hemolung pumping ability and gas exchange effectiveness while using the catheters of smaller diameter and blood flow rates applied in pediatrics.

MATERIAL AND METHODS

Device description. Hemolung Respiratory Assist System has been developed at the Medical Devices Laboratory of McGowan Institute for Regenerative Medicine (University of Pittsburgh) and ALung Technology Inc. Company, both located in Pittsburgh, PA, USA. This device obtained official approval for distribution in Canada, Australia and Europe. Hemolung system is an integrated low flow device of controlled carbon dioxide removal and blood oxygenation with vacuum principle. It was successfully tested in German hospitals for application in adult patients with severe respiratory failure [15]. The components of the system such as blood pump, gas exchange cartridge, heat exchanger, controller are integrated in one single console and do not require a perfusionist to assemble separate parts. The device operates by adjustment of only two parameters – gas flow rate and blood pump rotation speed. The Hemolung system operates up to 750 ml/min of blood flow rate in venovenous mode.

The system consists of the following components: single use gas exchange cartridge (fig. 2) with integrated pump, blood circuit tubing, the main console that



Fig. 1. Hemolung Respiratory Assist System main console



Fig. 2. Hemolung Respiratory Assist System gas exchange cartridge (frontal cut): A – gas exchange cartridge housing; B – gas exchange polypropylene membrane bundle; C – integrated rotating barrel; D – bearings; E – upper pipe connector; F – spare space between housing and barrel; G – channel inside the barrel; H – inflow gas channel; I – outflow gas channel; J – bottom pipe connector; K, L – pipe connectors; M – integrated magnets.

includes a controller, monitor, and accumulator. The lithium accumulator is also integrated inside the main console and capable to provide the system with power up to 60 min of autonomous operating. The control-

ler of the device registers the main parameters every 120 seconds.

The gas exchange cartridge (fig. 2) plays the main role and is represented with a transparent polycarbonate housing of 11,0–12,0 cm in diameter (fig. 2, A). The gas exchange cartridge has gas exchange membrane (fig. 2, B), made of hollow fiber porous polypropylene and an imbedded blood pump inside (fig. 2, C). The blood pump is presented by integrated spinning barrel with smooth surface. The blood prime volume of the cartridge is 144,0 ml.

The gas exchange membrane (fig. 2, B) consists of 12–13 layers of hollow fiber porous micro tubes coated with heparin and siloxane and placed vertically at the periphery of the cartridge. Gas flows inside every micro tube and blood flows – outside. There is a negative pressure within the gas section that increases CO₂ partial pressure between blood and gas phase. The system has a condensate purge option to maintain gas transfer rate at proper level. The gas exchange membrane area is 0.59 m². The inner spinning barrel rests on a bearing (fig. 2, D), covered with hemocompatible silicone seal from outer side. The inner barrel spins with speed of 2000–2500 revolutions per minute (RPM). Venous blood from the patient comes through the upper pipe connector (fig. 2, E) ($D = 1/4''$), then goes through the channels (fig. 2, G) to the external walls of a cartridge into spare space between housing and barrel (fig. 2, F) under «negative» pressure created by centrifuge force at the top of the cartridge. Further, blood being mixed descends to the bottom of the device and goes through the bundle of gas exchange membrane fibers, releases CO₂ and captures O₂ due to the partial pressure difference. Active blood mixing facilitates effective gas transfer. The oxygenated blood is removed under centrifuge force through the bottom pipe connector (fig. 2, J) at the lower part of the side wall of the cartridge. The blood flow rate is 0–750.0 ml/min. Gas flow path starts from upper pipe connector (fig. 2, K), comes into the channel (fig. 2, H), passes through hollow fiber polypropylene membrane bundle (fig. 2, B) and is evacuated through outflow gas channel (fig. 2I). The gas exchange cartridge rests on the main console. Ten magnets (fig. 2, M) imbedded into the rotating core of the cartridge are coupled to driving magnets on the Hemolung controller. Blood circuit tubing is made of thick polymer material that preserves heat loss. The heat from the motor drive is placed inside the main console and is partly transferred to the cartridge. Carbon dioxide removal rate starts from 25.0 ml/min and achieves its necessary level (40.0–50.0 ml/min) within the first hour of work at blood pump rotating speed of 1150 RPM. Gas transfer directly depends on blood mixing intensity in the cartridge.

METHODS

In vitro studies were conducted in collaboration with strategic partner at the Medical devices Laboratory in the McGowan Institute for Regenerative Medicine in the University of Pittsburgh (Pittsburgh, PA, USA). The described bench testing had a goal to get preliminary data about Hemolung pumping ability and gas exchange effectiveness, ability of the device to operate in veno-arterial mode while using the catheters of smaller diameter and blood flow rates of ≥ 280.0 ml/min, and this work was aimed to test the functional capabilities of the gas exchange cartridge as a passive oxygenator. The target blood flow of 280 was determined at the base of calculations for full-term neonate organism [16].

System Components

With the exception of the modified cannulation system and software for Hemolung controller, all *in vitro* testing was conducted with the standard components of the adult Hemolung system. Tubing connecting the cartridge to respective catheters measured 6 ft. (1.82 m) in length, with a 1/4 inch (6.35 mm) inner diameter. For blood sampling a 10 Fr Bio-Medicus One Piece Femoral Venous Cannula (Medtronic, USA) was used. For blood perfusion an 8 Fr Medtronic DLP One Piece Straight Tip Arterial Cannula was applied. During the *in vitro* testing, a 10 Fr Medtronic DLP One Piece Straight Tip Arterial Cannula served as the pump inlet cannula rather than the femoral venous cannula. The arterial cannula is nearly indistinguishable from the venous alternative at target flow rates, where pressure losses for each cannula differ by < 1 mmHg up to 500 ml/min (forward). The pump tests were performed with the assumption of a veno-venous cannulation strategy, where both cannula are tapped into a reservoir with zero net pressure loss (fig. 3)

Pumping Ability Testing

To verify that the existing Hemolung system is capable of achieving relevant blood flow rates with the modified cannulation system, an *in vitro* pump characterization test was conducted in a viscous blood analogue solution. Aqueous solution of carboxymethylcellulose (CMC) in deionized water was used. The testing loop is schematically presented in figure 3.

Tubing was connected to the reservoir and the cartridge. All tests were performed at 37 °C in a viscous blood analogue solution (8 mg/ml aqueous solution of carboxymethylcellulose (CMC) in deionized water). The viscosity of the analogue solution was measured in a falling-ball viscometer prior to testing. The viscosity of the blood analogue solution at the loop was approxi-

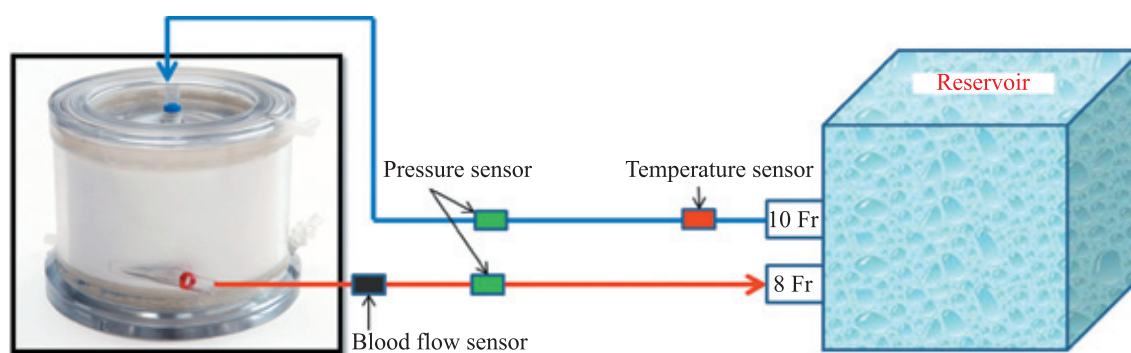


Fig. 3. Schematic diagram of *in vitro* flow loop used to assess the Hemolung pumping ability with a dual 8 Fr catheter cannulation system

mately 3.3–3.5 cP. Pressure and flow rates were recorded at maximum flow, zero flow, and three intermediate flow rates between 750–2000 RPM at 250 PRM increments.

Gas Exchange in Blood

In vitro gas exchange experiments with bovine blood were conducted to verify the performance of the Hemolung with catheters of 8 and 10 French. The test circuit used for testing is shown in figure 4.

Briefly, the blood was circulated continuously between a commercial oxygenator and the primary reservoir by a centrifugal pump to balance levels of carbon dioxide partial pressure ($p\text{CO}_2$) and oxygen saturation ($s\text{O}_2$) to normocapnic venous conditions ($p\text{CO}_2 = 45 \pm 5$ mmHg and $s\text{O}_2 = 65 \pm 5\%$). Once specified gas tensions and saturations were reached in the blood, the centrifugal pump was shut off, and the flow path was diverted toward the Hemolung pump. Blood pumped through the Hemolung cartridge was drained into a second reservoir. After recording relevant loop param-

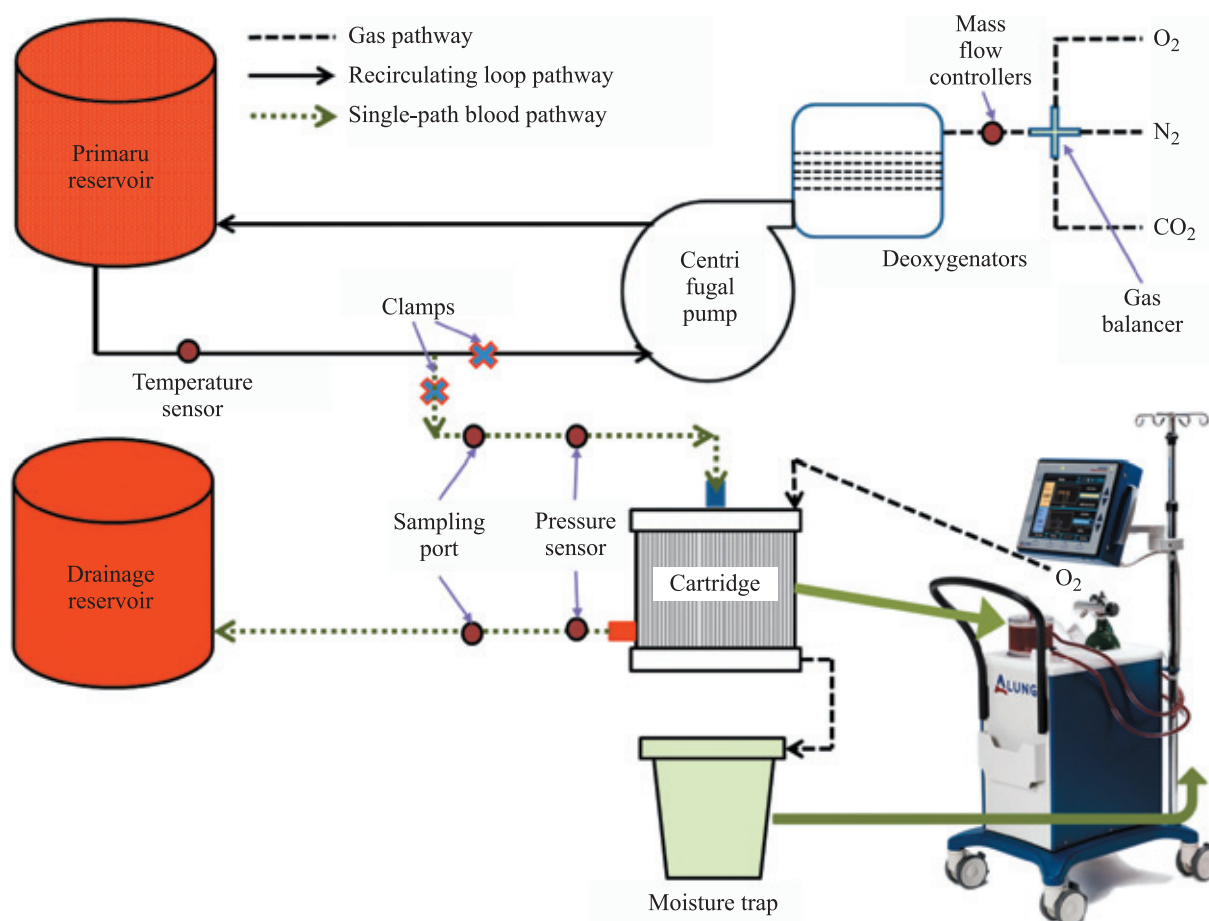


Fig. 4. *In vitro* single pass test setup to evaluate gas exchange in blood

ters and taking a blood sample, the Hemolung pump was shut off, and blood in the drainage reservoir was transferred back to the primary reservoir, after which the circulation through the deoxygenator resumed. Pure O_2 was pulled through the Hemolung fibers at 8.0 LPM. Both gas-side and liquid-side gas exchange measurements were calculated. The CO_2 removal rate (ml/min) was calculated from the percent CO_2 in the outlet sweep gas. Prior to each measurement, relevant inlet blood parameters were verified (i.e. pCO_2 , sO_2 , pH, and total blood hemoglobin). A minimum of two gas exchange measurements were taken for each rotation rate, which were between 750–1750 RPM at 250 RPM intervals. Flow rates were matched within 10–20 ml/min at each rotation rate during the gas exchange testing.

Oxygen Exchange Rated Flow

As it was described earlier besides CO_2 removal the device is able to oxygenate the blood. Consequently, the aim of this test was to evaluate the possibility of application of the cartridge as an oxygenator. The oxygen exchange rated flow, which is the maximum blood flow rate through a device at which 75% oxygen saturated blood becomes 95% saturated, is a common means of comparing the limitations of blood oxygenators [17]. The O_2 rated flow is an indication of the flexibility of treatment that can be provided with a certain oxygenator. For instance, a high O_2 rated flow suggests that a device could be used for oxygenation in a wider patient population, specifically larger patients that require more total oxygen transfer.

To determine the O_2 rated flow, a modified version of the *in vitro* gas exchange loop as shown in figure 4 was used. In the O_2 rated flow loop, the centrifugal pump was reconfigured so that flow could be supplied to the recirculating loop or to the Hemolung single-pass circuit. The O_2 rated flow setup included 12 ft (3.66 meters) of 1/4 inch (6.35 mm) tubing, a 16 Fr pump inlet cannula, and a 14 Fr pump outlet cannula. The cannula sizes were chosen as they provide the least resistance to flow of cannula that would typically be used in pediatric circuits. The resistance was minimized so that the required Hemolung rotation rate, and therefore, the gas exchange enhancement provided by the active mixing effect could also be minimized. By minimizing active mixing the O_2 rated flow determined here underestimates the rated flow that could be expected with smaller diameter cannula (since the necessary rotation rate, and therefore, the active mixing effect required to maintain the same blood flow rate will increase as resistance in the circuit increases).

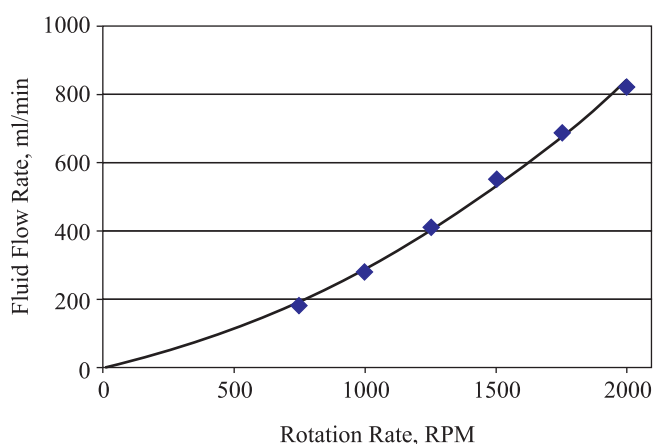


Fig. 5. *In vitro* flow rate versus pump speed of the Hemolung with a 10 Fr inflow cannula and 8 Fr outflow cannula in a 3.3–3.5 cP blood analogue

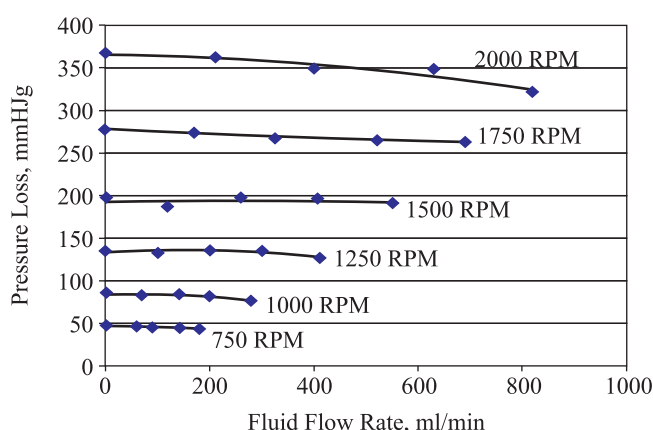


Fig. 6. Pressure losses plotted against flow rate at various pump speeds for the Pediatric Hemolung system in a viscous blood analogue

THE RESULTS OF IN VITRO STUDIES

The Results of Pumping Ability Study

The results of the evaluation of pumping ability are shown as flow rate versus pump speed and pressure losses for each rotation rate in

Fig. 5 and Fig. 6, respectively.

The pump curve results show that at our maximum rotation rate of 2000 RPM the device was able to achieve flow rate of 800 ml/min that is substantially greater than our target 280 ml/min. The pump tests were performed with the assumption of a veno-venous cannulation strategy, where both cannula are tapped into a reservoir with zero net pressure loss (fig. 3). The ability of the Pediatric Hemolung to pump against various pressure heads at the tested rotation rates can be extrapolated from the data. The calculated operating curve plotted against the observed pressure-flow relationships is shown in Fig. 7. The plot shows the operating curve for veno-venous conditions (fig. 7, red solid line), as well as estimated operating curves

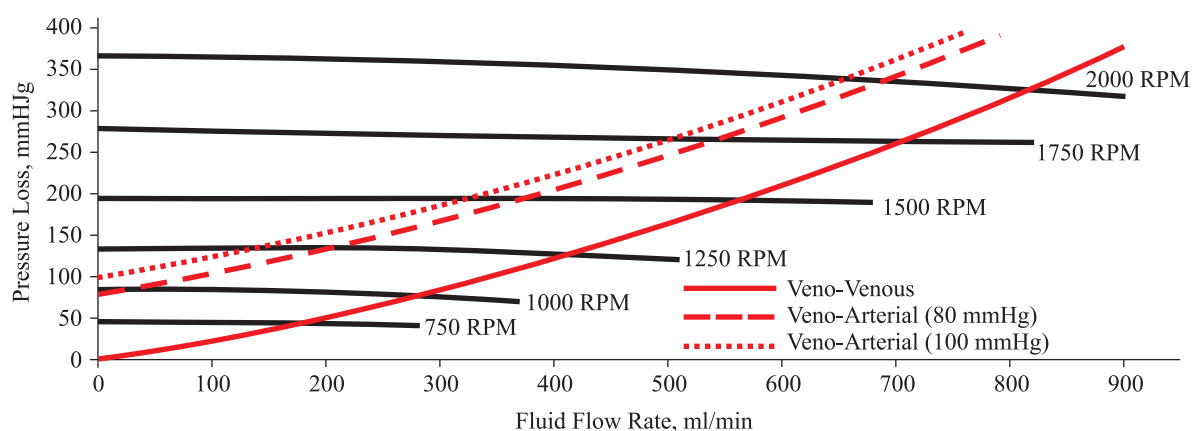


Fig. 7. Veno-venous and estimated veno-arterial operating curves for Pediatric Hemolung with a 10 Fr inflow, 8 Fr outflow cannulation system

Expected flow rates against veno-venous and veno-arterial pressure heads at various pump speeds with 10 Fr drainage and 8 Fr perfusion cannula

Pump Speed, RPM	Veno-venous (0 mmHg), ml/min	Veno-arterial (80 mmHg), ml/min	Veno-arterial (100 mmHg), ml/min
750	170	—	—
1000	270	20	—
1250	410	210	140
1500	560	380	320
1750	700	550	500
2000	820	690	660

Table 1

while veno-arterial mode against pressure heads of 80 mmHg (fig. 7, red dash line) and 100 mmHg (fig. 7, red dotted line).

The expected flow rates at each pump speed based on their respective operation curves are listed in Table 1. From these estimates it is expected that flow rates would be well above our target and can still be maintained against these higher pressures, suggesting the potential for a veno-arterial cannulation strategy as well.

The Results of Gas Exchange Evaluation *in vitro*

The results of the gas exchange in experiment using bovine blood are displayed in Figure 8 and listed in Table 2. Unlike adult version of Hemolung device utilizing 15 Fr catheters the pediatric version utilizes the catheters of smaller diameter of 8–10 Fr. Using the catheters of 8–10 Fr produced a decreased flow capacity and increased the resistance in blood circuit. Such situation required to increase blood pump rotating speed that resulted in better active mixing outcome reflected in better gas transfer rate.

***In vitro* gas exchange in blood results**

RotationRate, RPM	vCO ₂ , ml/min	Q _b , ml/min
750	79 ± 5	187 ± 6
1000	102 ± 11	280 ± 0
1250	134 ± 8	413 ± 6
1500	144 ± 18	550 ± 0
1750	168 ± 0.3	670 ± 42

Table 2

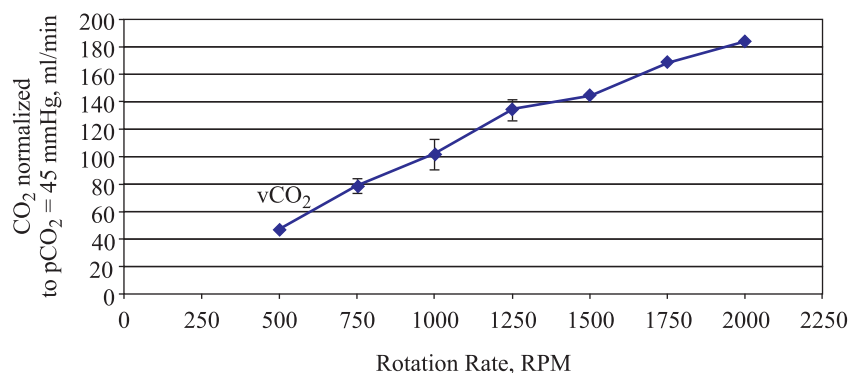


Fig. 8. Results of the Pediatric Hemolung *in vitro* gas exchange test in blood. vCO₂ represents the gas-side CO₂ removal, normalized to inlet pCO₂ = 45 ± 5 mmHg

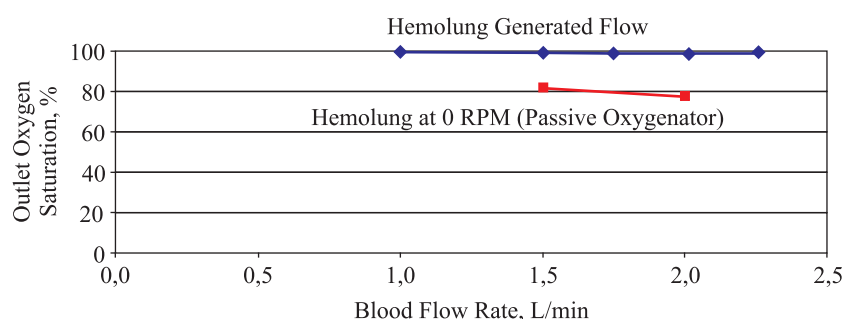


Fig. 9. Oxygen saturations at the pump outlet measured during *in vitro* oxygen exchange rated flow experiment

In general, CO_2 removal rate increased with increasing rotation rate, reaching maximum levels of $168 \pm 0.3 \text{ ml CO}_2/\text{min}$ at 1750 RPM and a blood flow rate of $670 \pm 42 \text{ ml/min}$.

The Results of Oxygen Exchange Rated Flow Evaluation

The figure 9 displays the results of the O_2 rated flow experiment. Oxygen saturation at the pump outlet is plotted versus the blood flow rate with and without Hemolung pump rotation (i.e. with and without the active mixing effect). With Hemolung generated flow (non-zero rotation rate) the pump outlet oxygen saturation remained at approximately 100% for blood flow rates up to $\sim 2.3 \text{ L/min}$. The result indicates that the Hemolung O_2 rated flow exists above relevant blood flow rates for the pediatric population. When comparing this data to the pump outlet, oxygen saturation data shown for the Hemolung when used as a passive oxygenator (i.e. 0 RPM), the novelty of the Hemolung design is evident. As a passive oxygenator, the limited fiber surface area of the Hemolung resulted in oxygen saturations of 81% and 78% at 1.5 and 2.0 L/min, respectively. With the enhancement of the gas exchange provided by active mixing, however, the Hemolung was able to fully saturate the blood at each of these flow rates (figure 9).

CONCLUSION

The pump curve results show that at our maximum rotation rate of 2000 RPM the device was able to achieve flow rate of 800 ml/min that is substantially greater than our target 280 ml/min. At the base of estimates, we would expect that flow rates well above our target can still be maintained against higher pressures, suggesting the potential for a veno-arterial cannulation strategy as well. CO_2 removal increased with increasing rotation rate, reaching maximum levels of $168 \pm 0.3 \text{ ml CO}_2/\text{min}$ at 1750 RPM and a blood flow rate of $670 \pm 42 \text{ ml/min}$. Carbon dioxide removal rate increased with increasing rotation rate, reaching maximum levels of $168 \pm 0.3 \text{ ml CO}_2/\text{min}$ at 1750 RPM and a blood flow rate of $670 \pm 42 \text{ ml/min}$. The

results of oxygen exchange rated flow evaluation shows the gas exchange rate achieved to be far above the requirements for oxygen supply in children.

These experimental data show the prospect of application of the Hemolung system in pediatrics.

REFERENCES

1. Lick SD, Zwischenberger JB. Artificial lung: bench to bedside. *ASAIO J.* 2004; 50: 2–5.
2. Federspiel WJ, Svitek RG. Lung, artificial: current research and future directions. Wnek GE, Bowlin GL, eds. *Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering*. New York: Marcel Dekker, Inc, 2004: 922–931.
3. Conrad SA, Zwischenberger JB, Eggerstedt JM, Bidani A. *In vivo* gas transfer performance of the intravascular oxygenator in acute respiratory failure. *Artif Organs*. 1994; 18: 840–845.
4. Makarewicz AJ, Mockros LF, Anderson RW. A dynamic intravascular artificial lung. *ASAIO J.* 1994; 40: 747–750.
5. Snider MT, High KM, Richard RB et al. Small intrapulmonary artery lung prototypes: design, construction, and *in vitro* water testing. *ASAIO J.* 1994; 40: 533–539.
6. Hattler BG, Reeder GD, Sawzik PJ et al. Development of an intravenous membrane oxygenator: enhanced intravenous gas exchange through convective mixing of blood around hollow fiber membranes. *Artif Organs*. 1994; 18: 806–812.
7. Eash HJ, Budilarto SG, Hattler BG, Federspiel WJ. Investigating the effects of random balloon pulsation on gas exchange in a respiratory assist catheter. *ASAIO J.* 2006; 52: 192–195.
8. Sato H, McGillicuddy JW, Griffith GW et al. Effect of artificial lung compliance on *in vivo* pulmonary system hemodynamics. *ASAIO J.* 2006; 52: 248–256.
9. Cook KE, Perlman CE, Seipelt R, Backer CL, Mavroudis C, Mockros LF. Hemodynamic and gas transfer properties of a compliant thoracic artificial lung. *ASAIO J.* 2005; 51: 404–411.
10. Matheis G. New technologies for respiratory support. *Perfusion*. 18: 245–251.
11. Mueller XM, Jegger D, Augstburger M, Horisberger J, Godar G, von Segesser LK. A new concept of integrated cardiopulmonary bypass circuit. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2002; 21: 840–846.

12. Tatsumi E, Takano H, Taenaka Y et al. Development of an ultracompact integrated heart-lung assist device. *Artif Organs*. 1999; 23: 518–523.
13. Wu ZJ, Holmes JA, Griffith BP, Gartner MJ. Flow dynamics of an active mixing pump-oxygenator. *ASAIO J*. 2001; 47: 133.
14. Wu ZJ, Gartner M, Litwak KN, Griffith BP. Progress toward an ambulatory pump-lung. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2005; 130: 973–978.
15. Available from: <http://www.alung.com/>
16. Meurs K, Lally KP, Peek G, Zwischenberger JB ed. ECMO—Extracorporeal Cardiopulmonary Support in Critical Care, 3rd ed. Ann Arbor, MI: *Extracorporeal Life Support Organization*. 2005; 278.
17. Meurs K, Lally KP, Peek G, Zwischenberger JB ed. ECMO—Extracorporeal Cardiopulmonary Support in Critical Care, 3rd ed. Ann Arbor, MI: *Extracorporeal Life Support Organization*. 2005; 10.

DOI: 10.15825/1995-1191-2014-4-135-143

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ЖИРОВОЙ ТКАНИ С ЦЕЛЬЮ ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ

Абламунц В.Г.¹, Клебанов С.Э.²

¹ Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета, Санкт Петербург, Российская Федерация

² Госпиталь Св. Луки, Центр по изучению ожирения, Колумбийский университет, Нью-Йорк, США

Трансплантацию эндокринных органов и тканей часто рассматривают как альтернативу инъекционной заместительной терапии гормонами и другими недостающими факторами, имеющую целый ряд преимуществ. Накопившиеся в течение последних двух десятилетий сведения о жировой ткани как эндокринном органе, играющем важнейшую роль в ряде ключевых физиологических процессов, поднимают вопрос о целесообразности ее использования для трансплантаций с целью компенсации врожденных метаболических дефицитов. В данном обзоре приведены примеры факторов, секретируемых жировой тканью, недостаток которых может быть связан с теми или иными патологическими состояниями у человека. Рассмотрены практические аспекты трансплантаций жира, такие как доступность донорской ткани, ее чувствительность к отторжению, целесообразность иммуносупрессии и возможности создания немедикаментозной толерантности.

Ключевые слова: трансплантация, жировая ткань, адипокины, толерантность.

TRANSPLANTATION OF ADIPOSE TISSUE AS A REPLACEMENT THERAPY

Ablamunits V.G.¹, Klebanov S.E.²

¹ Department of Microbiology, Virology and Immunology, Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

² St. Luke's Hospital, Obesity Research Center, Columbia University, New York, USA

Transplantation of endocrine organs and tissues is often considered as an alternative therapy which has a number of advantages compared to regular injections for replacement of a missing hormone or another factor. During the last two decades, accumulating evidence demonstrates that adipose tissue is an endocrine organ that plays a pivotal role in the key physiological processes, and this raises a possibility of its potential use in transplantations aimed to correct inborn metabolic deficiencies. In this review, we provide examples of the factors, secreted by adipose tissue, and which may be responsible for particular human pathologies when missing. We discuss practical aspects of fat transplantation, such as availability of donor tissue, its susceptibility to rejection, rationality of immune suppression, and possible ways to achieve medication-free tolerance.

Key words: transplantation, adipose tissue, adipokines, tolerance.

Все знают пользу полезного, но никто не знает пользы бесполезного.

Лао-цзы, V век до н. э.

Заболевания, вызванные врожденной недостаточностью различных факторов, необходимых для обеспечения нормальных функций организма, часто проявляются в раннем детском возрасте и требуют немедленной заместительной терапии. Такая терапия во многих случаях обременительна и для детей,

и для родителей. Трансплантационные методы лечения могли бы заменить инъекционное введение требуемого фактора, однако технически сопряжены не только с трудностями иммуносупрессии, но и с доступностью нормальной донорской ткани. Здесь мы рассматриваем возможности использования жи-

Для корреспонденции: Абламунц Виталий Григорьевич. Адрес: 194100, Санкт-Петербург, СПбГПМУ Минздрава России, Литовская ул., 2. Тел. +7 (921) 754-23-87. E-mail: ablamuhin@gmail.com.

For correspondence: Ablamunits Vitaly Grigoryevich. Address: 194100, St. Petersburg, State Pediatric Medical University, 2 Litovskaya st. Tel. +7 (921) 754-23-87. E-mail: ablamuhin@gmail.com.

ровой ткани – доступного побочного продукта косметической хирургии – в качестве трансплантата, способного компенсировать дефицит целого ряда секретируемых системных факторов, т. е. гормонов, цитокинов, транспортных белков и т. д. Мы обсуждаем практические аспекты таких трансплантаций в свете появления новых иммуносупрессантов, а также возможности создания немедикаментозной толерантности.

ЖИРОВАЯ ТКАНЬ КАК ЭНДОКРИННЫЙ ОРГАН

Относительно недавно белая жировая ткань (БЖТ) рассматривалась всего лишь как хранилище богатых энергией триглицеридов и в свете эстетических представлений второй половины XX века считалась излишним бременем на теле стремящихся к стройности образованных людей. Однако постепенно стали накапливаться наблюдения, указывающие на возможность выполнения БЖТ важных эндокринных функций. Первым таким наблюдением было описание липодистрофии – заболевания, в основе которого лежит полное или частичное отсутствие БЖТ. У больных липодистрофией наблюдается гипергликемия вследствие резистентности к действию инсулина, органомегалия и бесплодие [1–3]. В мышинных моделях генерализованной липодистрофии, вызванной генетическим блоком дифференцировки адипоцитов [4], трансплантация нормальной БЖТ нормализовала уровень глюкозы и инсулина в крови и приводила к исчезновению гепатомегалии [5]. Эти эксперименты убедительно доказывали важность БЖТ в нормальном метаболизме. Открытие первого гормона жировой ткани – лептина в 1994 году [6] заставило предположить, что именно недостаток этого гормона отвечает за фенотип липодистрофии. Действительно, назначение самого лептина устраняло инсулинорезистентность [7], тогда как трансплантация БЖТ, дефицитной по лептину, не приводила к коррекции липодистрофического синдрома [8]. Изучение способности лептина угнетать аппетит возбудило интерес к пониманию физиологической значимости БЖТ и пролило свет надежды на лечение ожирения. Однако в дальнейшем выяснилось, что ожирение вследствие абсолютной недостаточности лептина – редкое заболевание, в то время как большая часть случаев ожирения сопровождается увеличением уровней лептина в циркуляции, и следовательно, может рассматриваться скорее как лептинорезистентность [9].

Лептин является продуктом гена *ob* с молекулярной массой 16 кДа, который секретируется, главным образом, адипоцитами и участвует в регуляции нейроэндокринных функций, включая те, что отвечают

за прием пищи. Действие лептина осуществляется через гипоталамус [10, 11] и упрощенно может быть сведено к торможению голода. Фенотип лептиновой недостаточности у мышей (мутация *Lep^{ob}*) характеризуется гиперфагией, крайним ожирением, инсулинорезистентностью, гипотермией и бесплодием [12]. Трансплантация нормальной БЖТ таким мышам обеспечивает почти полную коррекцию фенотипа и восстанавливает фертильность [13]. Есть основания полагать, что лептин действует на прямую не только на гипоталамус, но и на другие органы, такие как гипофиз, островки Лангерганса, гепатоциты, клетки иммунной системы и другие мишени, имеющие лептиновый рецептор [14]. Таким образом, трансплантация лептин-секретирующей жировой ткани пациентам с изолированной лептиновой недостаточностью вследствие мутации гена лептина, а также лицам с тяжелыми формами липодистрофии, вызванной нарушениями адипогенеза, может привести к коррекции патологических проявлений без необходимости пожизненных инъекций этого гормона.

На сегодняшний день известно, что БЖТ способна производить более 20 различных секретируемых продуктов, обладающих функцией гормонов или цитокинов, и которые носят общее название *адипокинов* [15]. Некоторые из этих факторов синтезируются исключительно в БЖТ (например, лептин и адипонектин), другие производятся в других тканях, включая БЖТ (например, аполипопротеин Е (АпоЕ), антагонист рецептора интерлейкина 1 (IL-1RA) или фактор некроза опухолей (TNF)). И хотя для многих факторов описан фенотип мышей, у которых этот фактор генетически удален с помощью технологии «нокаута», связь дефицита того или иного адипокина с человеческой патологией прослежена лишь для части из них (табл.). Так, врожденная недостаточность лептина у людей приводит к тяжелой форме ожирения с началом в раннем детстве [16, 17]. Нанизм, резистентный к действию гормона роста и вызванный недостаточностью инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-1) [18, 19], гиперлипопротеинемия вследствие генетического дефекта АпоЕ [20, 21] или недостатка липопротеиновой липазы (ЛПЛ) [22], нарушение свертываемости крови как следствие недостаточности ингибитора активатора плазминогена 1 (PAI-1) [23] описаны в клинической литературе. Эти редкие заболевания представляют собой потенциальные показания для пересадок нормальной БЖТ с целью заместительной терапии.

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ КАК ЗАМЕСТИТЕЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

Большинство состояний, вызванных дефицитом системного белкового фактора (гормона, цитоки-

Таблица

Некоторые факторы, секретируемые БЖТ

Фактор	Фенотип «нокаута» гена у мышей	Ссылка	Клинические проявления
Адипонектин	Резистентность к инсулину	67, 68	
Адипсин	Резистентность к инсулину	69, 70	
Адреномедуллин	Резистентность к инсулину	71, 72	
Ангиотензиноген	Гипотензия, аномалия почек	73, 74	
Антагонист рецептора интерлейкина-1 (IL-1Ra)	Задержка роста, устойчивость к ожирению, полиартрит	75, 76	
Апелин		77	
Аполипопротеин Е (АpoЕ)	Гиперхолестеринемия, атеросклероз, гепатостеатоз	78–80	20, 21
Белок, стимулирующий ацилирование (ASP)	Устойчивость к ожирению, увеличение расхода энергии	81, 82	
Васпин		83	
Висфатин		84	
Ингибитор активатора плазминогена 1 (PAI-1)	Устойчивость к тромбозам, кровоточивость	85–87	23
Инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1)	Карликовость, мужское бесплодие	88–90	18, 19
Интерлейкин-6 (IL-6)	Предрасположенность к инфекциям	91–93	
Лептин	Ожирение, бесплодие, резистентность к инсулину, гипотермия	6	16, 17
Липопротеиновая липаза (LPL)	Гипертриглицеридемия, летальность гомозигот	94–96	22
Миостатин	Устойчивость к ожирению и диабету	97	
Оментин		98	
Остеонектин	Ожирение	99	
Преадипоцитарный фактор-1 (Pref-1)	Задержка роста, ожирение	100, 101	
Резистин		102	
Трансформирующий ростовой фактор бета (TGFβ)	Летальное генерализованное воспаление	103, 104	
Фактор некроза опухолей (TNF)	Чувствительность к инфекциям	105, 106	

на) корректируются путем назначения очищенных или рекомбинантных препаратов, то есть с помощью заместительной терапии. Так, гипофизарный нанизм лечится гормоном роста, сахарный диабет 1-го типа – инсулином, а гемофилия – факторами свертываемости. Препарат обычно вводится парентерально от одного до нескольких раз в день с разной степенью успеха. Недостатками такого лечения являются болезненность (особенно у детей), психологическое чувство «привязанности» к лекарству, «обреченности», кратковременность эффектов и потребность в повторных дозах, отсутствие тонкого физиологического «тюнинга» дозы в зависимости от потребностей. Так, например, инъекции инсулина, спасая жизнь больному, не гарантируют защиты от поздних осложнений диабета – нейропатии, ангиопатии, нефропатии. Поэтому трансплантация тканей или клеток, экспрессирующих интактный ген, кодирующий дефицитный фактор (и предпочтительно рецепторы к регулирующим сигналам), долго живущих и способных к самовоспроизведению, представляется привлекательной альтернативой. Трансплантация нормальной ткани (БЖТ) особенно предпочтительна для лечения состояний

неясного молекулярного патогенеза, таких как липодистрофии. Применительно к трансплантации БЖТ необходимо отметить ее техническую простоту и то, что аутологичные пересадки жировой ткани хорошо отработаны пластическими и реконструктивными хирургами [24].

ДВЕ ОСНОВНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ТРАНСПЛАНТАЦИОННЫХ МЕТОДОВ ЛЕЧЕНИЯ

Для реципиента, страдающего генетически обусловленным дефицитом того или иного фактора, в том числе адипокина, трансплантат должен быть нормальным, то есть «чужим», аллогенным. Не будем здесь рассматривать возможности генетической модификации «своей» ткани с последующей ауто трансплантацией, так как генная терапия теоретически может быть проведена напрямую, *in vivo*, без пересадок. Однако аллогенные трансплантации ограничены двумя серьезными факторами: 1) наличием (отсутствием) подходящего донора; 2) необходимостью иммуносупрессии с целью предотвращения отторжения. Уникальность жировой ткани как пересаживаемого органа заключается в

том, что донорская БЖТ является гораздо более доступным материалом, чем другие ткани (роговица) или органы (сердце, почки), нехватка которых является основным препятствием к пересадкам всем нуждающимся в этом. Теоретически БЖТ доступна почти без ограничений. Например, по данным американских исследователей, около 60% населения США обладает избыточным весом [25], и часть таких людей подвергает себя липоредуцирующим операциям [26], что облегчает поиск донора, желающего поделиться своим жиром. В отличие от пересадок других органов донором БЖТ без риска для здоровья или жизни может быть любой человек, включая родственников пациента. Этот факт имеет еще и то преимущество, что позволяет подобрать донора, максимально подходящего по антигенам гистосовместимости, что позволило бы обходиться минимальной иммуносупрессией или даже обойтись без нее. Однако на практике подбор полностью совместимой пары донор–реципиент может оказаться трудной задачей, и реалистичнее будет признать, что пересаженная БЖТ будет распознаваться как аллогенная.

ОТТОРГАЕТСЯ ЛИ ПЕРЕСАЖЕННАЯ АЛЛОГЕННАЯ БЖТ?

Свободная (бессосудистая) трансплантация БЖТ издавна применяется в пластической хирургии для восстановления дефектов мягких тканей [27, 28] и, таким образом, является аутологичной и не вызывает реакции отторжения. Аллогенные пересадки БЖТ у людей не применялись, если не считать случайных фрагментов жировой ткани, связанных с органными трансплантатами. Судьба этих фрагментов, скорее всего, повторяла судьбу пересаженного органа, но никогда специально не изучалась. Учитывая низкую степень васкуляризации жировой ткани, можно было бы предположить, что БЖТ не сильно подвержена аллогенному отторжению, однако это предположение не подтвердилось.

Ранние экспериментальные работы по пересадкам БЖТ мышам были предприняты без использования чистых линий животных и заканчивались рассасыванием или склерозированием жирового трансплантата, что свидетельствовало об отторжении [29]. С появлением чистых линий мышей было показано, что жировой трансплантат выживает только на F1 гибридах [30, 31]. В более поздних работах с использованием чистых линий и функционального мониторинга было показано, что аллогенный жировой трансплантат отторгается быстрее, чем начинает функционировать с физиологически-значимой полнотой, в то время как сингенный трансплантат приживляется и остается функциональным неопределенно долгое время [32]. Систе-

ма адаптивного иммунитета оказалась ведущей в отторжении, потому что мыши с генетически инактивированным *Rag-1* геном и лишённые зрелых Т- и В-лимфоцитов [33] не отторгали аллогенный жир. У иммунокомпетентных мышей удаление Т-лимфоцитов с помощью моноклональных антител к CD3ε-молекуле приводило к сохранению трансплантата на протяжении времени действия антител; прекращение инъекций приводило к восстановлению популяции Т-клеток и немедленному отторжению [32]. Интересно, что удаления только CD4+ или только CD8+ Т-лимфоцитов было недостаточно для предотвращения отторжения. Таким образом, жировой аллотрансплантат становится легкой мишенью для отторжения, которое может быть опосредовано как CD4+, так и CD8+ лимфоцитами.

МОЖЕТ ЛИ ЧЕЛОВЕЧЕСКАЯ БЖТ СОХРАНЯТЬ ФУНКЦИОНАЛЬНОСТЬ ПОСЛЕ СВОБОДНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ?

В опытах с использованием человеческой БЖТ в виде мелкой дисперсии, полученной в ходе липосакции по косметическим показаниям, было обнаружено, что БЖТ человека остается функциональной в течение, по меньшей мере, 100 дней после пересадки, если не подвергается отторжению. В иммунодефицитных лептин-дефицитных мышах обнаруживали циркулирующий человеческий лептин и эффекты его терапевтического действия: снижение резистентности к инсулину, ожирения и гепатостеатоза [34]. Таким образом, несмотря на двойной стресс липосакции и подкожной пересадки, жировая ткань человека сохраняет эндокринную функцию в течение длительного времени.

ИММУНОСУПРЕССАНТЫ ИЛИ ДОНОР-СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ТОЛЕРАНТНОСТЬ?

Поскольку получение функционального жира, пригодного для пересадок, методом липосакции реально и не сопряжено с большим риском для донора, поскольку подбор донора, полностью совместимого по HLA, может оказаться трудной задачей, и поскольку аллогенная БЖТ легко отторгается иммунной системой реципиента, возникает вопрос о создании иммунологической неответственности на трансплантат. В классической трансплантологии, когда пересадку сердца, почки или костного мозга производят по жизненным показаниям, иммуносупрессия спасает жизни. Но иммуносупрессивные препараты, кроме того, что угнетают иммунитет неспецифическим образом и ставят реципиента лицом к лицу с инфекциями, обладают еще и токсичностью. Например, циклоспорин А и такролимус обладают нефротоксичностью [35, 36], рапамицин вызывает

гиперлипидемию и лейкопению [37], азатиоприн и микофенолат подавляют гематопоез [38, 39], глюкокортикоиды вызывают гипертензию и инсулинорезистентность [40], а анти-CD3 антитела (ОКТ3, теплизумаб) вызывают синдром «выброса цитокинов» [41, 42], хотя последний препарат – в гораздо меньшей степени. Новые иммуносупрессанты, действие которых основано на блокаде молекул клеточных мембран лимфоцитов моноклональными антителами, находятся в стадии исследования эффективности и токсичности, в надежде избежать побочных эффектов [43–50]. Принимая во внимание высокую токсичность существующих препаратов и тот факт, что пересадки аллогенной БЖТ, по всей видимости, не будут производиться по жизненным показаниям (особенно при наличии рекомбинантных факторов заместительной терапии в инъекциях), приходится признать, что риски от осложнений иммуносупрессии будут перевешивать преимущества трансплантаций БЖТ. А следовательно, необходимо искать способы создания иммунологической неответственности на аллотрансплантат без неспецифической иммуносупрессии. Таким подходом может быть создание донор-специфической толерантности.

Главной особенностью такой толерантности является ее специфичность к HLA донора без общего угнетения иммунной системы. Ответственность на аллоантигены «третьей стороны» (то есть на аллели, отсутствующие у донора-толерогена) при этом сохраняется, так же как и ответы на патогены и вакцины. Создание донор-специфической толерантности – идеальное решение проблемы совместимости и мечта каждого трансплантолога.

Специфическая толерантность к аллоантигенам донора может быть индуцирована разными механизмами в разных экспериментальных системах. Одним из наиболее часто применяемых является смешанный гематопозитический химеризм, получаемый посредством пересадки костного мозга; при этом клетки иммунной системы донора стабильно сосуществуют с клетками реципиента в различных соотношениях – в интервале между 1 и 99% [51]. Полный химеризм, то есть полное замещение клеток иммунной системы реципиента клетками донора, менее желательно, так как несет риск развития «реакции трансплантата против хозяина» [52–54]. Предполагают, что в основе феномена донор-специфической толерантности при пересадке костного мозга лежит удаление аллореактивных Т-лимфоцитов реципиента в ходе негативной селекции в тимусе, который заселяют макрофаги донора [54]. Однако практическая привлекательность «голубой мечты» трансплантолога омрачается необходимостью серьезной лучевой или медикаментозной миелоаблативной подготовки реципиента к принятию клеток донора [45, 55, 56], и поэтому она приме-

няется только при трансплантации костного мозга, тогда как трансплантация других органов отдана на откуп иммуносупрессии.

Индукция донор-специфической толерантности с помощью методов, не требующих тяжелой миелоабляции, является заманчивой альтернативой. В экспериментальных исследованиях было показано, что предшествующая трансплантации трансфузия донорской крови, облученной ультрафиолетом *ex vivo*, может привести к донор-специфической толерантности [57, 58]. Эта толерантность, вероятно, развивается благодаря экспансии регуляторных Т лимфоцитов (Treg клеток), фенотип которых описывается как CD4+CD25+FoxP3+ [59], CD4–CD8– [60], CD4+CD25– [61], CD8+CD25+ [62], или CD8+FoxP3+ [63]. Способность Treg-клеток подавлять аллореактивность может быть связана с их секрецией таких противовоспалительных цитокинов, как IL-4, IL-10 и TGFβ [64–66]. Сам метод выгодно отличается простотой и минимальной инвазивностью, а также практически лишен какой бы то ни было токсичности. Применительно к будущим клиническим пересадкам аллогенной БЖТ можно надеяться, что в случае доказанной клинически возможности создания донор-специфической толерантности с помощью ультрафиолетового облучения клеток донора *ex vivo* этот метод можно будет рассматривать как адекватный с точки зрения риска для нужд трансплантаций БЖТ. Этот и другие новые методы, имеющие минимальные побочные эффекты и высокую специфичность, могли бы способствовать тому, чтобы клинические трансплантации БЖТ с заместительной целью стали реальностью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Жировая ткань является многопрофильным эндокринным органом, секретирующим ряд важнейших факторов. Генетическое отсутствие или функциональный дефект некоторых из них приводит к состояниям и болезням, которые теоретически могут быть скорректированы с помощью трансплантации нормальной жировой ткани. Доступность жировой ткани от живых доноров с возможностью типирования по HLA выгодно отличает такие пересадки. Появление новых клинических методов создания донор-специфической толерантности смогло бы способствовать применению таких пересадок на практике.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Gold RH, Steinbach HL. Lipomatrophic diabetes mellitus (generalized lipodystrophy): roentgen findings in two brothers with congenital disease. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med*. 1967 Dec; 101 (4): 884–896.

2. Seip M, Trygstad O. Generalized lipodystrophy, congenital and acquired (lipoatrophy). *Acta Paediatr*. 1996; Suppl 13: 2.
3. Pardini VC, Victoria IM, Rocha SM, Andrade DG, Rocha AM, Pieroni FB et al. Leptin levels, beta-cell function, and insulin sensitivity in families with congenital and acquired generalized lipoatrophic diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998; 83: 503–508.
4. Moitra J, Mason MM, Olive M, Krylov D, Gavrilova O, Marcus-Samuels B et al. Life without white WAT: a transgenic mouse. *Genes Dev*. 1998; 12: 3168–3181.
5. Gavrilova O, Marcus-Samuels B, Graham D, Kim JK, Shulman GI, Castle AL et al. Surgical implantation of adipose tissue reverses diabetes in lipoatrophic mice. *J Clin Invest*. 2000; 105: 271–278.
6. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994; 372: 425–432.
7. Shimomura I, Hammer RE, Ikemoto S, Brown MS, Goldstein JL. Leptin reverses insulin resistance and diabetes mellitus in mice with congenital lipodystrophy. *Nature*. 1999; 401: 73–76.
8. Colombo C, Cutson JJ, Yamauchi T, Vinson C, Kadowaki T, Gavrilova O et al. Transplantation of adipose tissue lacking leptin is unable to reverse the metabolic abnormalities associated with lipoatrophy. *Diabetes*. 2002; 51: 2727–2733.
9. Chessler SD, Fujimoto WY, Shofer JB, Boyko EJ, Weigle DS. Increased plasma leptin levels are associated with fat accumulation in Japanese Americans. *Diabetes*. 1998; 47: 239–243.
10. Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature*. 1998; 395: 763–770.
11. Ahima RS, Flier JS. Leptin. *Annu Rev Physiol*. 2000; 62: 413–437.
12. Ingalls AM, Dickie MM, Snell GD. Obese, a new mutation in the house mouse. *J Hered*. 1950; 41: 317.
13. Klebanov S, Astle CM, De Simon O, Ablamunits V, Harrison DE. Transplantation of normal adipose tissue to female ob/ob mice protects them from obesity, normalizes their insulin sensitivity and restores fertility. *J Endocrinol*. 2005; 186: 203–211.
14. Margetic S, Gazzola C, Pegg GG, Hill RA. Leptin: a review of its peripheral actions and interactions. *Int J Obesity*. 2002; 26: 1407–1433.
15. Proenca AR, Sertie RA, Oliveira AC, Campaia AB, Caminhoto RO, Chimin P et al. New concepts in white adipose tissue physiology. *Braz J Med Biol Res*. 2014; 47: 192–205.
16. Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP, Soos MA, Rau H, Wareham NJ et al. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature*. 1997; 387: 903–908.
17. Strobel A, Issad T, Camoin L, Ozata M, Strosberg AD. A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity. *Nat Genet*. 1998; 3: 213–215.
18. Woods KA, Camacho-Hubner C, Clark AJL, Savage MO. Intrauterine growth retardation and postnatal growth failure associated with deletion of insulin-like growth factor I gene. *New Engl J Med*. 1996; 355: 1363–1367.
19. Bonapace G, Concolino D, Formicola S, Strisciuglio P. A novel mutation in a patient with insulin-like growth factor I (IGF1) deficiency. *J Med Genet*. 2003; 40: 913–917.
20. Ghiselli G, Schaefer EJ, Gascon P, Brewer HB, Jr. Type III hyperlipoproteinemia associated with apolipoprotein E deficiency. *Science*. 1981; 214: 1239–1241.
21. Zannis VI, Breslow JL. Characterization of a unique human apolipoprotein E variant associated with type III hyperlipoproteinemia. *J. Biol. Chem*. 1980; 255: 1759–1762.
22. Hayden MR, Ma Y. Molecular genetics of human lipoprotein lipase deficiency. *Mol Cell Biochem*. 1992; 113: 171–176.
23. Dieval J, Nguyen G, Gross S, Delobel J, Kruithof EKO. A lifelong bleeding disorder associated with a deficiency of plasminogen activator inhibitor type 1. *Blood*. 1991; 77: 528–532.
24. Billings E Jr, May JW Jr. Historical review and present status of free fat graft autotransplantation in plastic and reconstructive surgery. *Plast Reconstr Surg*. 1989; 83: 368–381.
25. Wyatt HR. The prevalence of obesity. *Prim Care*. 2003; 30: 267–279.
26. Fagan FD. Liposuction. An update on one of the most frequently performed and controversial surgeries. *Can Oper Room Nurs J*. 2001; 19: 22–24.
27. Billings E Jr, May JW Jr. Historical review and present status of free fat graft autotransplantation in plastic and reconstructive surgery. *Plast Reconstr Surg*. 1989; 83: 368–381.
28. Sommer B, Sattler G. Current concepts of fat graft survival: histology of aspirated adipose tissue and review of the literature. *Dermatol Surg*. 2000; 26: 1159–1166.
29. Hausberger FX. Behavior of transplanted adipose tissue of hereditary obese mice. *Anat Rec*. 1959; 135: 109–113.
30. Liebelt RA. Response of adipose tissue in experimental obesity as influenced by genetic, hormonal and neurogenic factors. *Ann NY Acad Sci*. 1963; 110: 723–748.
31. Meade CJ, Ashwell M, Sowter C. Is genetically transmitted obesity due to an adipose tissue defect? *Proc R Soc Lond B Biol Sci*. 1979; 205: 395–410.
32. Ablamunits V, Goldstein AJ, Tovbina MH, Gaetz HP, Klebanov S. Acute rejection of white adipose tissue allograft. *Cell Transplant*. 2007; 16 (4): 375–390.
33. Mombaerts P, Iacomini J, Johnson RS, Herrup K, Tonegawa S, Papaioannou VE. RAG-1-deficient mice have no mature B and T lymphocytes. *Cell*. 1992; 68: 869–877.
34. Ablamunits V, Klebanov S, Giese SY, Herold KC. Functional human to mouse adipose tissue xenotransplantation. *J Endocrinol*. 2012 Jan; 212 (1): 41–47.
35. McDiarmid SV, Ettenger RB, Hawkins RA et al. The impairment of true glomerular filtration rate in long-term cyclosporine-treated pediatric allograft recipients. *Transplantation*. 1990; 49: 81–85.

36. Fisher NC, Nightingale PG, Gunson BK, Lipkin GW, Neuberger JM. Chronic renal failure following liver transplantation: A retrospective analysis. *Transplantation*. 1998; 66: 59–66.
37. Stepkowski SM. Molecular targets for existing and novel immunosuppressive drugs. *Expert Rev Mol Med*. 2000, Jun 21: 1–23.
38. Min DI, Monaco AP. Complications associated with immunosuppressive therapy and their management. *Pharmacotherapy*. 1991; 11: 119S–125S.
39. Danesi R, Del Tacca M. Hematologic toxicity of immunosuppressive treatment. *Transplant Proc*. 2004; 36: 703–704.
40. Boitard C, Bach JF. Long term complications on conventional immunosuppressive treatment. *Adv Nephrol*. 1989; 18: 335–354.
41. Ferran C, Sheenan K, Dy M et al. Cytokine-related syndrome following injection of anti-CD3 monoclonal antibody: further evidence for transient in vivo T cell activation. *Eur J Immunol*. 1990; 20: 509–515.
42. Sgro C. Side effects of a monoclonal antibody, muromonab CD3/orthoclone OKT3: Bibliographic review. *Toxicology*. 1995; 105: 23–29.
43. Kupiec-Weglinski JW, Padberg W, Uhteg LC, Towpik E, Lord RH, Ma L et al. Anti-interleukin-2 receptor (IL-2R) antibody against rejection of organ grafts. *Transplant Proc*. 1987; 19: 591–593.
44. Larsen CP, Elwood ET, Alexander DZ, Ritchie SC, Hendrix R, Tucker-Burden C et al. Long-term acceptance of skin and cardiac allografts after blocking CD40 and CD28 pathways. *Nature*. 1996; 381: 434–437.
45. Qin S, Cobbold S, Benjamin R, Waldmann H. Induction of classical transplantation tolerance in the adult. *J Exp Med*. 1989; 169: 779–794.
46. Newell KA, He G, Guo Z, Kim O, Szot GL, Rulifson I et al. Cutting edge: blockade of the CD28/B7 costimulatory pathway inhibits intestinal allograft rejection mediated by CD4+ but not CD8+ T cells. *J Immunol*. 1999; 163: 2358–2362.
47. Tinubu SA, Hakimi J, Kondas JA, Bailon P, Familletti PC, Spence C et al. Humanized antibody directed to the IL-2 receptor beta-chain prolongs primate cardiac allograft survival. *J Immunol*. 1994; 153: 4330–4338.
48. Thomas JM, Hubbard WJ, Sooudi SK, Thomas FT. STEALTH matters: a novel paradigm of durable primate allograft tolerance. *Immunol Rev*. 2001; 183: 223–233.
49. Laub R, Brecht R, Dorsch M, Valley U, Wenk K, Emmrich F. Anti-human CD4 induces peripheral tolerance in a human CD4+, murine CD4-, HLA-DR+ advanced transgenic mouse model. *J Immunol*. 2002; 169: 2947–2955.
50. Kirk AD, Burkly LC, Batty DS, Baumgartner RE, Berling JD, Buchanan K et al. Treatment with humanized monoclonal antibody against CD154 prevents acute renal allograft rejection in nonhuman primates. *Nat Med*. 1999; 5: 686–690.
51. Gozzo JJ, Wood ML, Monaco AP. Use of allogenic, homozygous bone marrow cells for the induction of specific immunologic tolerance in mice treated with antilymphocyte serum. *Surg Forum*. 1970; 21: 281–284.
52. De Vries-van der Zwan A, Besseling AC, van Twuyver E, Boog CJP, de Waal LP. A substantial level of mixed chimerism is required for the induction of permanent transplantation tolerance. *Transplant Immunol*. 1996; 4: 232–240.
53. Wekerle T, Sykes M. Mixed chimerism and transplantation tolerance. *Annu Rev Med*. 2001; 52: 353–370.
54. Wekerle T, Blaha P, Koporc Z, Bigenzahn S, Pusch M, Muehlbacher F. Mechanisms of tolerance induction through the transplantation of donor hematopoietic stem cells: central versus peripheral tolerance. *Transplantation*. 2003; 75: 21S–25S.
55. Sharabi Y, Sachs DH. Mixed chimerism and permanent specific transplantation tolerance induced by a nonlethal preparative regimen. *J Exp Med*. 1989; 169: 493–502.
56. Down JD, Tarbell NJ, Thames HD, Mauch PM. Syngeneic and allogeneic bone marrow engraftment after total body irradiation: dependence on dose, dose rate, and fractionation. *Blood*. 1991; 77: 661–669.
57. Kripke ML. Antigenicity of murine skin tumors induced by ultraviolet light. *J Natl Cancer Inst*. 1974; 53: 1333–1336.
58. Aubin F, Mousson C. Ultraviolet light-induced regulatory (suppressor) T cells: an approach for promoting induction of operational allograft tolerance? *Transplantation*. 2004; 77 (1 Suppl): S29–31.
59. Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science*. 2003; 299: 1057–1061.
60. Wang R, Wang-Zhu Y, Grey H. Interactions between double positive thymocytes and high affinity ligands presented by cortical epithelial cells generate double negative thymocytes with T cell regulatory activity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Feb 19; 99 (4): 2181–2186.
61. Dieckmann D, Bruett CH, Ploettner H, Lutz MB, Schuler G. Human CD4(+)CD25(+) regulatory, contact-dependent T cells induce interleukin 10-producing, contact-independent type 1-like regulatory T cells. *J Exp Med*. 2002; 196: 247–253.
62. Cosmi L, Liotta F, Lazzeri E, Francalanci M, Angelelli R, Mazzinghi B et al. Human CD8+CD25+ thymocytes share phenotypic and functional features with CD4+CD25+ regulatory thymocytes. *Blood*. 2003; 102: 4107–4114.
63. Liu J, Liu Z, Witkowski P, Vlad G, Manavalan JS, Scotto L et al. Rat CD8+ FOXP3+ T suppressor cells mediate tolerance to allogeneic heart transplants, inducing PIR-B in APC and rendering the graft invulnerable to rejection. *Transpl Immunol*. 2004; 13: 239–247.
64. Rivas JM, Ullrich SE. The role of IL-4, IL-10, and TNF-alpha in the immune suppression induced by ultraviolet radiation. *J Leukoc Biol*. 1994; 56: 769–775.
65. Schwarz A, Beissert S, Grosse-Heitmeyer K, Gunzer M, Bluestone JA, Grabbe S et al. Evidence for functional relevance of CTLA-4 in ultraviolet-radiation-induced tolerance. *J Immunol*. 2000; 165: 1824–1831.
66. Tomimori Y, Ikawa Y, Oyaizu N. Ultraviolet-irradiated apoptotic lymphocytes produce interleukin-10 by themselves. *Immunol Lett*. 2000; 71: 49–54.

67. Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem.* 1995; 270: 26746–26749.
68. Maeda N, Shimomura I, Kishida K, Nishizawa H, Matsuda M, Nagaretani H et al. Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nat Med.* 2002; 8: 731–737.
69. Cook KS, Min HY, Johnson D, Chaplinsky RJ, Flier JS, Hunt CR et al. Adipsin: a circulating serine protease homolog secreted by adipose tissue and sciatic nerve. *Science.* 1987; 237: 402–405.
70. White RT, Damm D, Hancock N, Rosen BS, Lowell BB, Usher P et al. Human adipsin is identical to complement factor D and is expressed at high levels in adipose tissue. *J Biol Chem.* 1992; 267: 9210–9213.
71. Li Y, Totsune K, Takeda K, Furuyama K, Shibahara S, Takahashi K. Decreased expression of adrenomedullin during adipocyte-differentiation of 3T3-L1 cells. *Hypertens Res.* 2003; 26 Suppl: S41–44.
72. Shimosawa T, Ogihara T, Matsui H, Asano T, Ando K, Fujita T. Deficiency of adrenomedullin induces insulin resistance by increasing oxidative stress. *Hypertension.* 2003; 41: 1080–1085.
73. Cassis LA, Saye J, Peach MJ. Location and regulation of rat angiotensinogen messenger RNA. *Hypertension.* 1988; 11 (6 Pt 2): 591–596.
74. Kim HS, Krege JH, Kluckman KD, Hagaman JR, Hodgins JB, Best CF et al. Genetic control of blood pressure and the angiotensinogen locus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995; 92: 2735–2739.
75. Juge-Aubry CE, Somm E, Chicheportiche R, Burger D, Pernin A, Cuenod-Pittet B et al. Regulatory effects of interleukin (IL)-1, interferon-beta, and IL-4 on the production of IL-1 receptor antagonist by human adipose tissue. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89: 2652–2658.
76. Horai R, Saijo S, Tanioka H, Nakae S, Sudo K, Okahara A et al. Development of chronic inflammatory arthropathy resembling rheumatoid arthritis in interleukin 1 receptor antagonist-deficient mice. *J Exp Med.* 2000; 191: 313–320.
77. Chun HJ, Ali ZA, Kojima Y, Kundu RK, Sheikh AY, Agrawal R et al. Apelin signaling antagonizes Ang II effects in mouse models of atherosclerosis. *J Clin Invest.* 2008; 118: 3343–3354.
78. Plump AS, Smith JD, Hayek T, Aalto-Setälä K, Walsh A, Verstuyft JG et al. Severe hypercholesterolemia and atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice created by homologous recombination in ES cells. *Cell.* 1992; 71: 343–353.
79. Zhang SH, Reddick RL, Piedrahita JA, Maeda N. Spontaneous hypercholesterolemia and arterial lesions in mice lacking apolipoprotein E. *Science.* 1992; 258: 468–471.
80. Kuipers F, Lin Y, Havinga R, Bloks V, Verkade HJ, Jong MC et al. Impaired production of very low density lipid proteins by apolipoprotein E-deficient mouse hepatocytes in primary culture. *J Clin Invest.* 1997; 100: 2915–2922.
81. Murray I, Havel PJ, Sniderman AD, Cianflone K. Reduced body weight, adipose tissue, and leptin levels despite increased energy intake in female mice lacking acylation-stimulating protein. *Endocrinology.* 2000; 141: 1041–1049.
82. Xia Z, Sniderman AD, Cianflone K. Acylation-stimulating protein (ASP) deficiency induces obesity resistance and increased energy expenditure in ob/ob mice. *J Biol Chem.* 2002; 277: 45874–45879.
83. Wada J. Vaspin: a novel serpin with insulin-sensitizing effects. *Expert Opin Investig Drugs.* 2008; 17: 327–333, doi: 10.1517/13543784.17.3.327.
84. Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, Segawa K, Tanaka M, Kishimoto K et al. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science.* 2005; 307: 426–430.
85. Sawdey M, Loskutoff DJ. Regulation of murine type 1 plasminogen activator inhibitor gene expression *in vivo*. Tissue specificity and induction by lipopolysaccharide, tumor necrosis factor- α , and transforming growth factor- β . *J Clin Invest.* 1991; 88: 1346–1353.
86. Samad F, Yamamoto K, Loskutoff DJ. Distribution and regulation of plasminogen activator inhibitor-1 in murine adipose tissue *in vivo*. Induction by tumor necrosis factor- α and lipopolysaccharide. *J Clin Invest.* 1996; 97: 37–46.
87. Carmeliet P, Stassen JM, Schoonjans L, Ream B, Van den Oord JJ, De Mol M et al. Plasminogen activator inhibitor-1 gene-deficient mice. II. Effects on hemostasis, thrombosis, and thrombolysis. *J Clin Invest.* 1993; 92: 2756–2760.
88. Doglio A, Dani C, Fredrikson G, Grimaldi P, Ailhaud G. Acute regulation of insulin-like growth factor-I gene expression by growth hormone during adipose cell differentiation. *EMBO J.* 1987; 6: 4011–4016.
89. Liu J-P, Baker J, Perkins AS, Robertson EJ, Efstratiadis A. Mice carrying null mutations of the genes encoding insulin-like growth factor I (Igf-1) and type 1 IGF-I receptor (Igf1r). *Cell.* 1993; 75: 59–72.
90. Baker J, Hardy MP, Zhou J, Bondy C, Lupu F, Bellve AR et al. Effects of an IGF1 gene null mutation on mouse reproduction. *Mol Endocrinol.* 1996; 10: 903–918.
91. Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, Katz DR, Miles JM, Yudkin JS et al. Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor- α , *in vivo*. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997; 82: 4196–4200.
92. Kopf M, Baumann H, Freer G, Freudenberg M, Lammers M, Kishimoto T et al. Impaired immune and acute phase response in interleukin-6-deficient mice. *Nature.* 1994; 368: 339–342.
93. Dalrymple SA, Slattery R, Aud DM, Krishna M, Lucian LA, and Murray R. Interleukin-6 is required for a protective immune response to systemic *Escherichia coli* infection. *Infect. Immun.* 1996; 64: 3231–3235.
94. Fried SK, DiGirolamo M. Lipoprotein lipase secretion from isolated rat fat cells of different size. *Life Sci.* 1986; 39: 2111–2119.
95. Coleman T, Seip RL, Gimble JM, Lee D, Maeda N, Semenkovich CF. COOH-terminal disruption of lipoprotein lipase in mice is lethal in homozygotes, but heterozy-

- gotes have elevated triglycerides and impaired enzyme activity. *J Biol Chem.* 1995; 270: 12518–12525.
96. Weinstock PH, Bisgaier CL, Aalto-Setälä K, Radner H, Ramakrishnan R, Levak-Frank S et al. Severe hypertriglyceridemia, reduced high density lipoprotein, and neonatal death in lipoprotein lipase knockout mice. Mild hypertriglyceridemia with impaired very low density lipoprotein clearance in heterozygotes. *J Clin Invest.* 1995; 96: 2555–2568.
 97. McPherron AC, Lee SJ. Suppression of body fat accumulation in myostatin-deficient mice. *J Clin Invest.* 2002; 109: 595–601.
 98. Yang RZ, Lee MJ, Hu H, Pray J, Wu HB, Hansen BC et al. Identification of omentin as a novel depot-specific adipokine in human adipose tissue: possible role in modulating insulin action. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006; 290: E1253–E1261.
 99. Bradshaw AD, Graves DC, Motamed K, Sage EH. SPARC-null mice exhibit increased adiposity without significant differences in overall body weight. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003; 100: 6045–6050.
 100. Smas CM, Sul HS. Pref-1, a protein containing EGF-like repeats, inhibits adipocyte differentiation. *Cell.* 1993; 73: 725–734.
 101. Moon YS, Smas CM, Lee K, Villena JA, Kim KH, Yun EJ et al. Mice lacking paternally expressed Pref-1/Dlk1 display growth retardation and accelerated adiposity. *Mol Cell Biol.* 2002; 22: 5585–5592.
 102. Steppan CM, Brown EJ, Wright CM, Bhat S, Banerjee RR, Dai CY et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature.* 2001; 409: 307–312.
 103. Richardson RL, Campion DR, Hausman GJ, Wright JT. Transforming growth factor type beta (TGF-beta) and adipogenesis in pigs. *J Anim Sci.* 1989; 67: 2171–2180.
 104. Kulkarni AB, Huh CG, Becker D, Geiser A, Lyght M, Flanders KC et al. Transforming growth factor beta 1 null mutation in mice causes excessive inflammatory response and early death. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1993; 90: 770–774.
 105. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science.* 1993; 259: 87–91.
 106. Roach DR, Bean AG, Demangel C, France MP, Briscoe H, Britton WJ. TNF regulates chemokine induction essential for cell recruitment, granuloma formation, and clearance of mycobacterial infection. *J Immunol.* 2002; 168 (9): 4620–4627.

Статья поступила в редакцию 01.09.2014 г.



К 75-ЛЕТИЮ АКАДЕМИКА РАН ЛЕО АНТОНОВИЧА БОКЕРИЯ

Лео Антонович Бокерия родился 22 декабря 1939 года в городе Очамчира Абхазской АССР. Окончил I Московский медицинский институт в 1965 году и аспирантуру того же института в 1968 г. После защиты кандидатской диссертации вся его деятельность связана с Центром сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева, где он прошел путь от старшего научного сотрудника до директора.

Научная деятельность Л.А. Бокерия многогранна – это проблемы гипербарической оксигенации, хирургия аритмий, ишемической болезни, врожденных и приобретенных пороков сердца, критической сердечной недостаточности, минимально инвазивной хирургии сердца, применение лазера при операциях на сердце, целевое планирование и методология науки в сердечно-сосудистой хирургии. Особой заслугой является применение полностью имплантируемых искусственных желудочков сердца и искусственного сердца. Л.А. Бокерия был инициатором возобновления в Центре после длительного перерыва операций ортотопической трансплантации сердца.

Интенсивную хирургическую деятельность Л.А. Бокерия успешно сочетает с научно-педагогической и общественной работой. Он избран в действительные члены Американской Ассоциации торакальных хирургов, является членом Президиума (консул) Европейского общества грудных и сердечно-сосудистых хирургов, членом Правления международного кардиоторакального центра Монако; одним из немногих хирургов России избран почетным членом Американского Колледжа хирургов.

Л.А. Бокерия является действительным членом РАН, президентом Ассоциации сердечно-сосудистых хирургов России, президентом общероссийской «Лиги здоровья нации». Большую работу ведет на посту председателя комиссии по формированию здорового образа жизни в Общественной палате при Президенте Российской Федерации. С 2010 г. – член Совета Общественной палаты при Президенте РФ.

Выдающиеся заслуги Л.А. Бокерия перед наукой и отечественным здравоохранением были отмечены Ленинской и государственными премиями, орденами Преподобного Сергия Радонежского II степени и «За заслуги перед Отечеством» II–III и IV степеней. Как ведущему кардиохирургу мира ему присуждена международная премия «Золотой Гиппократ».

Коллектив сотрудников ФГБУ «ФНЦТИО им. академика В.И. Шумакова» и редколлегия журнала «Вестник трансплантологии и искусственных органов» вместе с главным редактором академиком РАН С.В. Готье поздравляют мэтра кардиохирургии с 75-летним юбилеем и желают счастья и здоровья, неиссякаемой энергии, больших творческих успехов в деле служения российскому здравоохранению и медицинской науке!

ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ ИМЕНИ АКАДЕМИКА В.И. ШУМАКОВА»

ОТДЕЛ ПОДГОТОВКИ НАУЧНЫХ И МЕДИЦИНСКИХ КАДРОВ

Лицензия ААА № 002365

Регистрационный № 2258 от 08.12.2011 г.

Россия, 123182, г. Москва, ул. Щукинская, д. 1, тел./факс +7 (499) 193 87 62

ФГБУ «ФНЦТИО имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, одно из ведущих научно-исследовательских медицинских учреждений, успешно развивает хирургическую науку, разрабатывает современные высокие лечебные и диагностические технологии, новейшие направления в трансплантологии, хирургии сердца, функциональной диагностике, иммунологии, применении искусственных органов и вспомогательного кровообращения в клинике, готовит врачебные и научные кадры.

На базе института проводится стажировка и повышение квалификации (очное обучение – от 1 до 2 месяцев) по направлениям деятельности института: трансплантация почки, трансплантация печени, трансплантация сердца, трансплантация поджелудочной железы, хирургия сердца, электрокардиостимуляция, перфузиология, реанимация и интенсивная терапия, гемодиализ, рентгенохирургия, функциональная диагностика, экспресс-диагностика, клиническая лабораторная диагностика, трансплантационная иммунология, донорство и консервация органов, реабилитация, диспансеризация больных после пересадки органов и др.

Обучение проводится по следующим темам:

1. Клиническая трансплантация почки.
2. Клиническая трансплантация печени.
3. Клиническая трансплантация сердца.
4. Донорство в клинической трансплантологии.
5. Гемодиализ в нефрологии.
6. Трансплантационная иммунология и иммуносупрессия.
7. Основы и техника экстракорпорального кровообращения.
8. Сердечно-сосудистая хирургия.
9. Основы трансплантологии и искусственных органов.
10. Нефрологические аспекты трансплантации почки.

11. Трансплантация печени у детей.
12. Лучевая диагностика и лучевая терапия.
13. Патологическая анатомия у больных после аллотрансплантации органов и имплантации искусственных органов.
14. Реконструктивная хирургия сердца и магистральных сосудов.
15. Анестезиологические пособия и интенсивная терапия при трансплантации жизненно важных органов.

Продолжительность циклов – 144 часа.

После окончания циклов выдается свидетельство о повышении квалификации.

В заявке указываются:

- Ф. И. О. врача,
- место работы,
- должность,
- адрес учреждения,
- продолжительность и сроки обучения,
- гарантия оплаты обучения,
- требуется ли гостиница.

Курсантов обеспечивают гостиницей, оплата за счет проживающих.

Питание в столовой института.

Заявки на обучение принимаются по адресу: 123182, г. Москва, ул. Щукинская, д. 1, отдел подготовки научных и медицинских кадров, руководитель отдела Великий Дмитрий Алексеевич:

e-mail: dim_vel@mail.ru;

тел. +7 910 435 27 01

После получения заявки будут отправлены путевка с указанием даты прибытия специалиста для прохождения курса повышения квалификации, стоимости обучения и договор.

ТРЕБОВАНИЯ К ПУБЛИКАЦИЯМ

Статьи должны содержать оригинальные данные, нигде ранее не опубликованные и не направленные на публикацию в другие редакции. Плата за публикацию рукописей не взимается.

Текстовый материал должен быть представлен в формате A4 (1 экземпляр, через 1,5 pt интервала, Times New Roman, 12 pt), а также в виде идентичного файла Microsoft Word на электронном носителе (лазерный диск, прикрепленный к электронному письму файл).

Схема построения статьи

1. Титульная страница

Должна быть представлена на русском и английском языках и соответствовать шаблону:

- **Название статьи**

Англоязычное название должно быть грамотным с точки зрения английского языка, при этом полностью соответствовать по смыслу русскоязычному названию.

- **Авторы статьи**

При написании авторов статьи инициалы имени и отчества указываются перед фамилией. Ф. И. О. на английском языке необходимо писать так, как в заграничном паспорте или как в ранее опубликованных статьях в зарубежных журналах.

- **Название учреждения**

- Полное официальное название учреждения, город, страна. Наиболее полный список названий учреждений на русском и английском языках можно найти на сайте РУНЭБ eLibrary.ru
- Если в написании рукописи принимали участие авторы из разных учреждений, необходимо соотнести их названия с Ф. И. О. авторов путем добавления цифровых индексов в верхнем регистре после фамилии и перед названием учреждения.

- **Для корреспонденции**

Полностью указать фамилию, имя, отчество автора, с которым будет вестись переписка, адрес (с почтовым индексом), телефон, факс, e-mail.

Пример титульной страницы

Применение покрытого нитинолового самораскрывающегося стента при лечении анастомотических билиарных стриктур после трансплантации печени: первый опыт

М.Н. Корнилов¹, В.В. Гвоздик², А.Н. Лотов³, Я.Г. Мойсюк^{1,4}

¹ ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава РФ, Москва, Российская Федерация

² ГУП «Медицинский центр Управления делами мэра и Правительства Москвы», Москва, Российская Федерация

³ НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, Москва, Российская Федерация

⁴ ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова», Москва, Российская Федерация

Для корреспонденции

Корнилов Максим Николаевич

Адрес: 123182, г. Москва, ул. Щукинская, д. 1.

Телефон: 8 (495) 190-35-62

E-mail: livertranspl@mail.ru

Use of covered self-expandable nitinol stent for anastomotic biliary stricture management after liver transplantation: first experience

M.N. Kornilov¹, V.V. Gvozdk², A.N. Lotov³, Y.G. Moysyuk^{1,4}

¹ V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantation and Artificial Organs of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

² Medical Center of Major Administration and Moscow Government, Moscow, Russian Federation

³ Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, Moscow, Russian Federation

⁴ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

For correspondence

Kornilov Maksim Nikolaevich

Address: 1, Shchukinskaya Str., Moscow, 123182, Russian Federation,

e-mail: livertranspl@mail.ru

2. Реферат

К каждой статье должен быть приложен реферат на русском и английском языках. Объем текста реферата для оригинальной статьи – не более 300 слов, для обзора литературы, клинического наблюдения – не более 200 слов. Реферат должен полностью соответствовать содержанию работы. Англоязычная версия реферата статьи должна по смыслу и структуре соответствовать русскоязычной и быть грамотной с точки зрения английского языка. Для перевода реферата не допускается ис-

пользование электронных программ-переводчиков (например, Google Переводчик) без последующей редакции.

В реферате не следует употреблять аббревиатуры без предварительного раскрытия.

Реферат **оригинальной статьи** должен содержать следующие разделы: **Цель** (*Aim*), **Материалы и методы** (*Materials and methods*), **Результаты** (*Results*), **Заключение** (*Conclusion*). В реферате следует представить наиболее существенные результаты проведенных исследований.

Нельзя писать: «Проведен сравнительный анализ чувствительности и специфичности...».

Следует писать: «Чувствительность составила ...% и ...%, $p =$, специфичность соответственно ...% и ...%, $p =$ ».

3. Ключевые слова

В конце реферата должны быть приведены ключевые слова (*key words*) на русском и английском языках. Для выбора ключевых слов на английском языке следует использовать тезаурус Национальной медицинской библиотеки США – Medical Subject Headings – MeSH. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh>).

4. Текст статьи

Оригинальная статья должна включать следующие разделы:

- Введение
- Материалы и методы
- Результаты
- Обсуждение
- Заключение
- Список литературы

Обзорная статья должна содержать анализ литературы с представлением современных источников (в основном за последние 5 лет).

Клиническое наблюдение должно быть хорошо иллюстрировано (отражать суть проблемы) и содержать обсуждение вопроса с использованием данных литературы.

Библиографические ссылки в тексте статьи обозначаются порядковым номером в квадратных скобках: [1], [2, 5], [14–18] и **в списке литературы представляются по порядку упоминания в тексте независимо от языка ссылки**.

Все величины, приведенные в статье, должны быть выражены или дублированы в единицах СИ.

5. Список литературы / References

Автор несет полную ответственность за точность данных, приведенных в приставленном списке литературы. В списке литературы ссылки на неопубликованные или находящиеся в печати работы не допускаются.

Список литературы представляется на отдельной странице. Ссылки на источники располагаются в порядке цитирования и приводятся на языке оригинала.

Названия журналов на русском языке в списке литературы не сокращаются. Если русскоязычный журнал имеет также название на английском языке, оно может быть указано в ссылке после транслитерированного названия. Названия иностранных журналов могут сокращаться в соответствии с вариантом сокращения, принятым конкретным журналом.

Если цитируемая статья имеет DOI (digital object identifier, цифровой идентификатор объекта) и/или PMID (PubMed), его/их необходимо указать в конце ссылки.

В ссылках на русскоязычные статьи, имеющие также название на английском языке, вначале приводится русское, а затем английское название. Если статья не имеет английского названия, ссылка приводится вначале на русском языке, а затем в транслитерированном виде, начиная на той же строке. Транслитерацию рекомендуется выполнять на сайте <http://www.translit.ru> в формате BGN.

В ссылке на неанглоязычные статьи после выходных данных необходимо указать язык публикации и наличие резюме на английском языке, например: [In Russ, English abstract].

Для составления описаний в списке литературы используется стандарт на библиографическую ссылку NLM – National Library of Medicine (http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html). Если количество авторов не превышает 6, в библиографическом описании указываются все авторы. Если количество авторов более 6, следует указать шесть первых авторов и добавить «и др.» (et al.).

Примеры библиографических описаний

1. Статья из русскоязычного журнала, имеющая англоязычное название

Готьё СВ, Мойсюк ЯГ, Ибрагимова ОС. Тенденции развития органного донорства и трансплантации в Российской Федерации в 2006–2008 гг. I сообщение (по данным регистра Российского трансплантологического общества). *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2009; XI (3): 8–16. Gautier SV, Moysyuk YG, Ibragimova OS. Trends in organ donation and transplantation in Russian Federation in 2006–2008 (I report of National Registry). *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov = Russian journal of transplantology and artificial organs*. 2009; XI (3): 8–16. [English abstract].

2. Статья из русскоязычного журнала, не имеющая англоязычного названия

Трапезникова МФ, Филипцев ПЯ, Перлин ДВ, Кулачков СМ. Лечение стриктур мочеочечника

после трансплантации почки. *Урология и нефрология*. 1994; 3: 42–45. *Trapeznikova MF, Filiptsev PYa, Perlin DV, Kulachkov SM*. Lechenie striktur mochetochnika posle transplantatsii pochki. *Urologiya i nefrologiya*. 1994; 3: 42–45.

3. *Статья из англоязычного журнала*
Goldstein DJ, Oz MC, Rose EA. Implantable left ventricular assist devices. *N Engl J Med*. 1998; 339: 1522–1533.
4. *Статья из журнала, имеющего DOI и PMID*
Gerada J, Ganeshanatham G, Dawwas MF, Winterbottom AP, Sivaprakasam R, Butler AJ. et al. Infectious aortitis in a liver transplant recipient. *Am J Transplant*. 2013; 13 (9): 2479–2482. doi: 10.1111/ajt.12353. PMID: 23919247.
5. *Англоязычная монография*
Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Medical microbiology. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002.
6. *Русскоязычная монография*
Готье СВ, Константинов БА, Цирульников ОМ. Трансплантация печени. М.: МИА (2008), 246 с. *Gautier SV, Konstantinov BA, Tsi-rulnikova OM*. Transplantatsiya pecheni. М.: МИА (2008), 246.
7. *Диссертация (автореферат диссертации)*
Орлова ОВ. Роль маркеров воспаления, тромбоза, неоангиогенеза и апоптоза в прогнозировании васкулопатии сердечного трансплантата:

дис. ... докт. мед. наук. М., 2009, 84 с. *Orlova OV*. Rol' markerov vospaleniya, tromboza, neoangiogeneza i apoptoza v prognozirovanii vaskulopatii serdechnogo transplantata. [Dissertation]. М., 2009, 84.

8. *Ресурс в сети Internet*
Cancer-Pain.org [Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01 [updated 2002 May 16; cited 2002 Jul 9]. Available from: <http://www.cancer-pain.org/>.

Требования к таблицам и иллюстрациям

Таблицы следует помещать в текст статьи, они должны иметь нумерованный заголовок и четко обозначенные графы, удобные и понятные для чтения. Данные таблицы должны соответствовать цифрам в тексте, однако не должны дублировать представленную в нем информацию. Ссылки на таблицы в тексте обязательны.

Иллюстрации и рисунки должны быть представлены в электронном виде (формат JPEG или TIF с разрешением не менее 300 точек на дюйм и размером не менее 6 × 9 см), в объеме, близком к 1 Мб. Рисунок должен содержать все авторские обозначения – стрелки, цифры, указатели и пр. Подписи к рисункам должны быть представлены в отдельном файле с расширением *.doc. Сначала дается название, а затем объясняются все цифровые и буквенные обозначения.

Статьи направлять в редакцию журнала по адресу:

123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1, ФГБУ «ФНЦТИО им. академика В.И. Шумакова»,
«Вестник трансплантологии и искусственных органов»
E-mail: vestniktranspl@gmail.com

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Articles should contain original information that has not been previously published and is not considered for publication in other editions. Fee for publication of manuscripts will not be charged.

Textual material should be presented in A4 format (1 copy, 1,5 pt spaced, font type Times New Roman, size 12 pt), as well as in Microsoft Word file of the identical content on electronic media (CD, attached to an e-mail file).

Structure of the article

The Title page should include:

- Initials (first name and patronymic) of the authors of the article should be specified before their respective last names.
- Full official name of the institution, city and country.
- If authors from different institutions participated in writing of the manuscript, it is necessary to correlate those with the names of the authors by adding a digital index uppercase after last name, and right before the name of the institution.

Information about the authors

For each author fully specify the last and the first name, patronymic and position in the relevant department/institution.

For correspondence

Fully specify the last and the first name, patronymic of the author, who will be holding correspondence, address (including postal code), telephone, fax number, e-mail.

Abstract

Each article must be accompanied by an abstract. The amount of text for the abstract of the original article should be of no more than 300 words, for a literature review, clinical observation – no more than 200 words. The abstract must fully comply with the content of the work. The abstract should not use abbreviations without prior expansion.

Abstract of *the original article* should contain the following sections: **Aim, Materials and methods, Results, Conclusion**. The abstract should present the most important results of the research.

Do not write: «*A comparative analysis of the sensitivity and specificity was conducted ...*»

Should write: «*The sensitivity was ... % and ...%, p = , specificity, respectively ...% and ...%, p =*».

Key words

At the end of the abstract keywords must be given. To select the keywords a thesaurus of U.S. National Library of Medicine should be used – Medical Subject Headings (MeSH) at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh>.

Text of article

Original article should include the following sections:

- Introduction
- Materials and methods
- Results
- Discussion
- Conclusion
- References

Review article should include an analysis of the literature with the presentation of modern sources (mainly in the last 5 years).

Clinical observation should be well illustrated (to reflect the essence of the problem) and include discussion with the use of literature data.

References in the text are indicated by number in square brackets: [1], [2, 5], [14–18] and **in the references section are presented in order of their appearance in the text**. All values given in the article should be expressed or duplicated in **SI** units.

References

The author is solely responsible for the accuracy of the data included in the references section of the article. References to unpublished papers or papers in print works are not allowed.

References are presented on a separate page.

The names of journals can be contracted in accordance with an embodiment of reduction adopted by the specific journal.

If the article quoted has DOI (a digital object identifier) or/and PMID (Pub Med identifier) they must be specified after the description of the article.

To compile descriptions in References section NLM bibliographic reference citation standard is used – U.S. National Library of Medicine (<http://www.nlm>).

nih.gov/bsd/uniform_requirements.html). If the number of authors does not exceed 6, the bibliographic description includes all the authors. If the number of authors is more, only the first six authors should be indicated and then add et al.

Requirements for tables and figures

Tables should be placed into the text; they should have numbered heading and clearly labeled graphs, convenient and simple to read. Table's data must com-

ply with the numbers in the text, but should not duplicate the information therein. Table references in the text are required.

Illustrations and drawings should be submitted in electronic format (JPEG or TIFF format with a resolution of at least 300 dpi and no smaller than 6×9 cm), in a volume of close to 1 MB. Drawings must include all copyright symbols – arrows, numbers, signs, etc. Figure captions should be submitted in a separate file with the extension *.doc. First, the name is given, then all arithmetic and alphabetical symbols (lettering) are explained.

Articles should be addressed to the Editor at:

Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs
V.I.Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs
1, Shchukinskaya ul., Moscow 123182, Russian Federation
E-mail: vestniktranspl@gmail.com

ПЕРЕЧЕНЬ МАТЕРИАЛОВ, ОПУБЛИКОВАННЫХ В 2014 ГОДУ В ЖУРНАЛЕ «ВЕСТНИК ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ»

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ОРГАНОВ

Ватазин А.В., Зулькарнаев А.Б., Крстич М., Подойницын А.А.

Сочетанная плазмофильтрация и адсорбция при гнойно-септических осложнениях у реципиентов почечного трансплантата..... № 1 (5–11)

Борзенко С.А., Онищенко Н.А., Тонаева Х.Д., Комах Ю.А., Ковшун Е.В., Струсова Н.А.

Сотрансплантация ММСК-подобных клеток лимба способствует местной иммунокоррекции и прозрачному приживлению трансплантата роговицы при кератопластике высокого риска № 1 (12–20)

Крстич М., Зулькарнаев А.Б.

Селективная адсорбция эндотоксина в лечении гнойно-септических осложнений у пациентов с урологическими заболеваниями после трансплантации почки..... № 1 (21–28)

Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Хомяков С.М.

Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2013 году. VI сообщение регистра Российского трансплантологического общества..... № 2 (5–23)

Хубутия М.Ш., Пинчук А.В., Дмитриев И.В., Лазарева К.Е., Балкаров А.Г.,

Сторожев Р.В., Шмарина Н.В.
Сочетанная трансплантация почки и поджелудочной железы: ранние послеоперационные осложнения № 2 (24–29)

Столяревич Е.С., Артюхина Л.Ю., Ким И.Г., Куренкова Л.Г., Томила Н.А.

Морфологические особенности позднего отторжения трансплантированной почки и их прогностическое значение № 2 (30–38)

Капишников А.В., Колсанов А.В., Пышкина Ю.С.

Возможности динамической реносцинтиграфии в диагностике посттрансплантационных осложнений у реципиентов почки № 2 (39–45)

Шевченко О.П., Цирульникова О.М., Цирульникова И.Е., Курабекова Р.М., Олефиренко Г.А.,

Степанова О.И., Готье С.В.
Динамика инсулиноподобного фактора роста 1 (ИФР-1) при трансплантации печени детям от донора, не совместимого по группе крови..... № 2 (46–51)

Малиновская Ю.О., Остроумов Е.Н., Котина Е.Д., Мойсюк Я.Г.

Изменения перфузии и функции миокарда после трансплантации печени у взрослых. Результаты перфузионной томосцинтиграфии, синхронизированной с ЭКГ..... № 2 (52–59)

Климушева Н.Ф., Идов Э.М., Иофин А.И., Левит А.Л., Серебряков И.Ю., Завершинский Ю.А.,

Быков А.Н., Пионтек А.А.
Оценка эффективности трансплантологической помощи пациентам с терминальной сердечной недостаточностью в Свердловской области..... № 2 (60–65)

Готье С.В., Попцов В.Н., Саитгареев Р.Ш., Шумаков Д.В., Захаревич В.М., Спирина Е.А.

Научно-технологические и организационные решения по повышению эффективности и своевременности выполнения трансплантации сердца № 3 (14–22)

Готье С.В., Шевченко А.О., Кормер А.Я., Попцов В.Н., Шевченко О.П.

Перспективы улучшения отдаленных результатов трансплантации сердца № 3 (23–30)

Миронков Б.Л., Честухин В.В., Саитгареев Р.Ш., Захаревич В.М., Попцов В.Н.,

Кормер А.Я., Акопов Г.А., Халилулин Т.А., Гольц А.М., Закирьянов А.Р., Голубицкий В.В., Захаревич Н.Ю., Готье С.В.
Трансмиссивный атеросклероз коронарных артерий трансплантата..... № 3 (31–38)

Семеновский М.Л., Акопов Г.А., Анискевич Г.В., Мехтиев Э.К., Тарабарко Н.Н., Белокуров Д.А.

Обобщение многолетнего опыта хирургии приобретенных пороков сердца..... № 3 (39–44)

Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Попцов В.Н., Корнилов М.Н., Ярошенко Е.Б., Погребниченко И.В.,

Мойсюк Л.Я., Сушков А.И., Малиновская Ю.О., Цой Д.Л.
Отдаленные результаты трансплантации трупной печени № 3 (45–53)

Готье С.В., Цирульникова О.М., Мойсюк Я.Г., Ахаладзе Д.Г., Цирульникова И.Е., Силина О.В.,

Хизроев Х.М., Монахов А.Р., Чеклецова Е.В., Пец В.А., Попцов В.Н.
Трансплантация печени детям: анализ шестилетнего опыта № 3 (54–62)

Мойсюк Я.Г., Сушков А.И., Шаршаткин А.В., Бикбов Б.Т., Азаренкова О.В.

Современные технологии и клинические исследования в трансплантации почки № 3 (63–75)

Миронков Б.Л., Честухин В.В., Тюняева И.Ю., Рядовой И.Г., Остроумов Е.Н.,

Шевченко А.О., Миронков А.Б., Кормер А.Я.
Клиническая эффективность реваскуляризации миокарда при васкулопатии сердечного трансплантата № 4 (5–10)

<i>Шевченко А.О., Халидуллин Т.А., Миронков Б.Л., Саитгареев Р.Ш., Захаревич В.М., Кормер А.Я., Муминов И.И., Готье С.В.</i>	
Оценка качества жизни пациентов с трансплантированным сердцем	№ 4 (11–16)
<i>Суджаева О.А., Давидович М.И., Суджаева С.Г., Островский Ю.П.</i>	
Отбор реципиентов для трансплантации сердца с учетом urgencyности	№ 4 (17–26)
<i>Курабекова Р.М., Шевченко О.П., Цирульникова О.М., Цирульникова И.Е., Олефиренко Г.А., Готье С.В.</i>	
Трансформирующий фактор роста $\beta 1$ при трансплантации печени детям раннего возраста	№ 4 (27–32)
<i>Гранов Д.А., Тилеубергенов И.И., Шаповал С.В., Майстренко Д.Н., Пожарисский К.М., Кудайбергенова А.Г., Боровик В.В., Руткин И.О.</i>	
Взаимосвязь объемной скорости кровотока по печеночной артерии и состояния микроциркуляторного русла трансплантированной печени после ее реваскуляризации	№ 4 (33–39)
<i>Порунова А.К., Морозова В.В., Цирульникова И.Е., Цирульникова О.М., Готье С.В.</i>	
Титрование изоагглютининов с использованием современных гелевых технологий при ABO-несовместимых трансплантациях	№ 4 (40–44)
<i>Габриэлян Н.И., Горская Е.М., Драпкина И.В., Спирина Т.С., Цирульникова О.М.</i>	
Возбудители бактериемий и микробиота кишечника у реципиентов донорской печени	№ 4 (45–54)
<i>Столяр А.Г., Будкарь Л.Н., Климушева Н.Ф., Лесняк О.М.</i>	
Улучшение результатов трансплантации почки	№ 4 (55–61)

РЕГЕНЕРАТИВНАЯ МЕДИЦИНА И КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

<i>Кирсанова Л.А., Баранова Н.В., Бубенцова Г.Н., Скалецкая Г.Н., Перова Н.В., Севастьянов В.И., Скалецкий Н.Н.</i>	
Влияние микроструктурированного коллагенсодержащего гидрогеля на культуры островковых клеток поджелудочной железы	№ 1 (29–33)
<i>Севастьянов В.И.</i>	
Технологии тканевой инженерии и регенеративной медицины	№ 3 (93–108)
<i>Ефимов А.Е., Агапов И.И.</i>	
Исследование нано- и микроструктуры биоматериалов для регенеративной медицины методом сканирующей зондовой нанотомографии	№ 3 (109–116)
<i>Федоренко Д.А., Мельниченко В.Я., Ионов Т.И., Ярошенко Е.Б.</i>	
Клиническая эффективность высокодозной иммуносупрессивной терапии с трансплантацией кроветворных стволовых клеток при рассеянном склерозе	№ 4 (68–71)
<i>Бондаренко Н.А., Лыков А.П., Ким И.И., Повещенко О.В., Повещенко А.Ф., Покушалов Е.А., Романов А.Б., Коненков В.И., Караськов А.М.</i>	
Эффект нитроглицерина на пролиферативный и миграционный потенциал мононуклеарных клеток периферической крови	№ 4 (72–77)
<i>Дюрягин Н.М., Степанов С.С., Семченко В.В., Гюнтер В.Э., Дюрягина Е.Н.</i>	
Результаты оптимизации процессов репаративной регенерации нижней челюсти и височно-нижнечелюстного сустава матриксами из никелида титана (Экспериментальное исследование)	№ 4 (78–88)
<i>Рыжикова В.А., Кузнецова Е.Г., Белов В.Ю., Саломатина Л.А., Севастьянов В.И.</i>	
Определение стабильности трансдермальной терапевтической системы местного анестетика бромкаина	№ 4 (89–95)

ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ

<i>Курилова О.А., Журавель С.В., Романов А.А., Маринин П.Н., Цурова Д.Х., Каллагов Т.Э., Тарабрин Е.А., Хубутия М.Ш.</i>	
Опыт применения экстракорпоральной мембранной оксигенации для обеспечения двусторонней трансплантации легких	№ 2 (66–74)
<i>Ватазин А.В., Зулькарнаев А.Б., Курчатова А.Н., Крстич М.</i>	
Влияние гемофильтрации и сочетанной плазмофильтрации и адсорбции на концентрацию такролимуса в крови у реципиентов почечного трансплантата	№ 2 (75–79)
<i>Ватазин А.В., Зулькарнаев А.Б., Кантария Р.О., Крстич М.</i>	
Традиционный и каскадный плазмаферез в снижении титра антител у реципиентов почечного трансплантата	№ 2 (80–87)
<i>Иткин Г.П.</i>	
Механическая поддержка кровообращения: проблемы, решения и новые технологии	№ 3 (76–84)

- Строков А.Г., Поз Я.Л., Копылова Ю.В., Крышин К.Н., Терехов В.А., Гаврилин В.А., Басиладзе И.В., Кутузова А.В.*
Конвективные методики в практике программного гемодиализа ФНЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова:
история и современность..... № 3 (85–92)
- Быков И.В., Иткин Г.П.*
Оценка состояния аортального клапана при механической поддержке кровообращения с использованием математической модели № 4 (62–67)

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

- Попцов В.Н., Мойсюк Я.Г., Спирина Е.А., Корнилов М.Н., Мойсюк Л.Я.*
Успешное применение вено-венозной экстракорпоральной мембранной оксигенации при тяжелой острой дыхательной недостаточности, развившейся в раннем периоде после трансплантации печени № 1 (34–40)
- Готье С.В., Иванов А.С., Попцов В.Н., Цирульникова О.М., Гламазда С.В., Родионов А.С., Лебедева А.В., Хизроев Х.М., Ахаладзе Д.Г., Луговский М.К., Жилкин И.В.*
Двухэтапное хирургическое лечение ребенка одного года с врожденным пороком сердца и билиарным циррозом..... № 1 (41–46)
- Ветчинникова О.Н., Щербакова Е.О., Полякова Е.Ю.*
Цинакалцет в лечении гиперпаратиреоза у реципиентов почечного трансплантата № 1 (47–53)
- Готье С.В., Иванов А.С., Цирульникова О.М., Гламазда С.В., Лебедева А.В., Сацюк О.В., Абрамова Н.Н.*
Редкий случай сочетанной патологии – аномальный дренаж портальной системы в коронарный синус, гипоплазия правой ветви воротной вены и высокая легочная гипертензия № 2 (88–94)
- Иванов А.С., Цирульникова О.М., Гламазда С.В., Лебедева А.В., Абрамова Н.Н., Кузьмин В.В., Галыкина Е.К.*
Радикальная коррекция сложного врожденного порока сердца у пациента с внепеченочной формой портальной гипертензии № 2 (95–102)
- Гордеев М.Л., Николаев Г.В., Баутин А.Е., Каширининов И.Ю., Даценко С.В., Таиханов Д.М., Яковлев А.С., Наймушин А.В., Малая Е.Я., Рубинчик В.Е., Сухова И.В., Федотов П.А.*
Трансплантация сердца у пациентки с посттравматической аневризмой легочной артерии..... № 4 (96–100)
- Чернявский А.М., Доронин Д.В., Фомичев А.В., Дерягин М.Н.*
Эффективная медикаментозная коррекция острой правожелудочковой недостаточности у реципиента с пограничной легочной гипертензией после ортотопической трансплантации сердца № 4 (101–105)
- Готье С.В., Цирульникова О.М., Ахаладзе Д.Г., Монахов А.Р., Хизроев Х.М., Цирульникова И.Е., Мецгеряков С.В., Джанбеков Т.А., Саранов Г.А., Абрамова Н.Н.*
Трансплантация левой доли печени от АВ0-несовместимого родственного донора с транспозицией внутренних органов (situs inversus) № 4 (106–110)
- Пурло Н.В., Ахметшин Р.Б., Буланов А.Ю., Лихачева Е.А., Бирюкова Л.С.*
Трансплантация аллогенной почки пациенту с гемофилией В..... № 4 (111–116)

В ПОМОЩЬ ИССЛЕДОВАТЕЛЮ

- Осетрова О.В.*
Особенности формирования методологического аппарата медицинской диссертации..... № 3 (117–125)

ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ

- Поз Я.Л., Строков А.Г., Копылова Ю.В.*
Гемодиализ. История, развитие и современные стандарты..... № 1 (54–64)
- Поз Я.Л., Строков А.Г., Копылова Ю.В.*
Онлайн-гемодиализ: клинические результаты и экономическая эффективность № 1 (65–75)
- Ватазин А.В., Зулфарнаев А.Б., Кильдюшевский А.В., Федулкина В.А., Крстич М.*
Некоторые механизмы действия экстракорпоральной фотохимиотерапии при трансплантации солидных органов..... № 1 (76–84)
- Бердичевский В.Б., Бердичевский Б.А., Султанбаев Р.А.*
Нейрофизиология уродинамики почечного трансплантата № 1 (85–88)

Гулай Ю.С., Крашенинников М.Е., Шагидулин М.Ю., Онищенко Н.А.

Тканевая инженерия печени

(современное состояние проблемы по данным зарубежных источников) № 2 (103–113)

Алексеева Л.С., Ильинский И.М.

Этиология, патогенез и морфология эффекта Quilty № 4 (117–124)

Мусин Е.А., Буланин Д.С., Джеффрис Р.Дж., Жумадилов Ж.Ш.,

Олжаев Ф.С., Федерстил В.Дж.

Оценка возможности применения системы экстракорпорального
газообмена (Hemolung) в педиатрии № 4 (125–134/125*–132*)

ДИСКУССИИ

Абламунц В.Г., Клебанов С.Э.

Трансплантация жировой ткани с целью заместительной терапии № 4 (135–143)

Перепечатка опубликованных в журнале материалов допускается только с разрешения редакции.
При использовании материалов ссылка на журнал обязательна.

Присланные материалы не возвращаются.

Точка зрения авторов может не совпадать с мнением редакции.

Редакция не несет ответственности за достоверность рекламной информации.

Издание зарегистрировано в Госкомпечати РФ, № 018616 от 23.03.99 г.

Подписано к печати 13.01.15.

Тираж 1000 экз.

ООО «Издательство «Триада».

ИД № 06059 от 16.10.01 г.

170034, г. Тверь, пр. Чайковского, 9, оф. 504,

тел./факс: (4822) 42-90-22, 35-41-30

E-mail: triadatver@yandex.ru

<http://www.triada.tver.ru>

Отпечатано в ООО «Тверская фабрика печати».

170006, г. Тверь, Беляковский пер., 46.

Заказ 48.

НАЗНАЧЬТЕ СЕРТИКАН® СЕГОДНЯ

ОБЕСПЕЧЬТЕ УЛУЧШЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ЗАВТРА



Раннее назначение Сертикана позволяет значительно уменьшить дозу ингибиторов кальциневрика (ИКН) без снижения эффективности терапии и улучшить отдаленные результаты трансплантации¹

- Низкая частота тяжелых острых реакций отторжения трансплантата подтвержденных при биопсии на фоне снижения дозы ИКН более чем на 60%, на протяжении 12 и 24 месяцев наблюдения¹
- Улучшение функции почек уже на 3-й день и сохраняющееся на протяжении 12 и 24 мес. терапии¹
- Дополнительные преимущества: антипролиферативный и противовирусный эффект^{1,2}

СЕРТИКАН®/CERTICAN®

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ

Лекарственная форма. Эверолимус. Таблетки 0,25 мг, 0,5 мг, 0,75 мг, 1 мг; таблетки диспергируемые 0,1 мг, 0,25 мг.

Показания. Трансплантация почки и сердца. Профилактика отторжения трансплантата у взрослых реципиентов почки и сердца с низким и средним иммунологическим риском, получающих базовую иммуносупрессивную терапию циклоспорином в форме микроэмульсии и глюкокортикостероидами. **Трансплантация печени.** Профилактика отторжения трансплантата у реципиентов печени с низким и средним иммунологическим риском, получающих базовую иммуносупрессивную терапию такролимусом и глюкокортикостероидами.

Способ применения и дозы. Рекомендуемая начальная доза препарата для пациентов с трансплантатами почек и сердца составляет 0,75 мг 2 раза в сутки; следует начать применение препарата как можно скорее после трансплантации. Рекомендуемая начальная доза препарата для пациентов с трансплантатом печени составляет 1,0 мг 2 раза в сутки, терапию начинают примерно через 4 недели после трансплантации. У пациентов с печеночной недостаточностью следует тщательно мониторировать базальную концентрацию эверолимуса в цельной крови. У пациентов с печеночной недостаточностью легкой степени (Чайлд-Пью класс А) дозу препарата Сертикан® следует уменьшить приблизительно до 2/3 по сравнению с обычной дозой. У пациентов с печеночной недостаточностью средней степени тяжести (Чайлд-Пью класс В) доза эверолимуса должна быть уменьшена приблизительно в 2 раза по сравнению с обычной дозой. У пациентов с печеночной недостаточностью тяжелой степени (Чайлд-Пью класс С) доза эверолимуса должна быть уменьшена приблизительно до 1/3 по сравнению с обычной дозой. Опыт применения эверолимуса у детей ограничен.

Противопоказания. Повышенная чувствительность к эверолимусу, сиролимусу или другим компонентам препарата. Редкие наследственные нарушения, связанные с непереносимостью галактозы, тяжелой лактозной недостаточностью или глюкозо-галактозной мальабсорбцией. Возраст до 18 лет.

Меры предосторожности. У пациентов, прекративших применение циклоспорина через 4,5 месяца после трансплантации почки, отмечалось улучшение почечной функции, а также повышение риска острого отторжения трансплантата в сравнении с пациентами, продолжавшими применение циклоспорина. Следует соблюдать осторожность при применении индукционной терапии тимоглобулином (кроличий анти-тимочитарный глобулин) и схемы иммуносупрессии, включающей Сертикан®, циклоспорин и глюкокортикостероиды. Повышается риск развития лимфом и других злокачественных новообразований, особенно кожи. Гипериммунная реакция предрасполагает к развитию инфекций (бактериальной, грибковой, вирусной, протозойной), в том числе ВК вирус-ассоциированной нефропатии, приводящей к отторжению трансплантата почки, и потенциально фатальной JC вирус-ассоциированной прогрессирующей мультифокальной лейкоэнцефалопатии (ПМЛ). Пациентов, получающих Сертикан®, следует мониторировать с целью контроля уровня липидов в крови. Применение препарата совместно с ингибиторами АПФ может сопровождаться развитием ангионевротического отека. В подавляющем большинстве таких случаев пациенты одновременно получали ингибиторы АПФ в качестве сопутствующей терапии. Увеличение степени выраженности протеинурии может наблюдаться при полной отмене ингибитора кальциневрина (ИКН) на фоне терапии препаратом Сертикан® у реципиентов почки, получающих поддерживающую терапию и уже имеющих умеренную протеинурию. Требуется снижение дозы циклоспорина при совместном использовании с эверолимусом для того, чтобы избежать развития дисфункции почек. Применение препарата Сертикан® у пациентов после трансплантации печени в комбинации со сниженной дозой такролимуса не приводит к ухудшению функции почек по сравнению со стандартной дозой такролимуса. Рекомендуется регулярный мониторинг концентрации препаратов (эверолимуса и циклоспорина) в сыворотке крови, функции почек и протеинурии. Не рекомендуется совместное применение препарата Сертикан® с сильными ингибиторами и индукторами CYP3A4, за исключением тех случаев, когда ожидаемая польза такой терапии превышает потенциальный риск. В течение первых 30 дней после трансплантации отмечено увеличение риска развития тромбоза почечной артерии или вены, приводящего к отторжению трансплантата. Сертикан®, как и другие ингибиторы m-TOR, может ухудшать процесс заживления ран, приводить к возникновению пост-трансплантационных осложнений, особенно при наличии у пациента избыточной массы тела. Лимфоцеле – самое частое нежелательное явление, отмечающееся у реципиентов почки. У пациентов после трансплантации сердца возможно развитие перикардального и плеврального выпота. У пациентов после трансплантации печени повышена частота развития послеоперационных грыж. Совместное назначение препарата Сертикан® и ингибиторов кальциневрина (ИКН) может повышать риск возникновения ИКН-индуцированного гемолитико-уремического синдрома, тромбоцитопенической пурпуры, тромботической микроангиопатии. На фоне применения препарата Сертикан® отмечались случаи развития интерстициальной болезни легких (ИБЛ), иногда с летальным исходом. В большинстве случаев ИБЛ разрешалась после прекращения терапии препаратом Сертикан® и/или при применении глюкокортикостероидов. На фоне применения препарата Сертикан® повышается риск возникновения впервые диагностированного сахарного диабета, поэтому необходим тщательный мониторинг уровня глюкозы в сыворотке крови. Имеются данные о возникновении обратимой азооспермии у пациентов, получающих лечение ингибиторами m-TOR. Длительная терапия препаратом Сертикан® связана с риском развития мужского бесплодия. Женщинам детородного возраста следует рекомендовать использовать эффективные методы контрацепции в период лечения препаратом Сертикан® и в течение 8 недель после окончания терапии. Беременность: Не следует применять Сертикан® у беременных женщин за исключением тех случаев, когда ожидаемая польза от терапии превышает потенциальный риск для плода. Период лактации: При применении препарата Сертикан® следует отказаться от кормления грудью. Вспомогательные вещества: Сертикан® не следует применять у пациентов с редкими наследственными нарушениями, связанными с непереносимостью галактозы, тяжелой лактозной недостаточностью или глюкозо-галактозной мальабсорбцией.

Взаимодействие. Следует соблюдать осторожность при совместном применении эверолимуса с препаратами, являющимися субстратами изоферментов CYP3A4 и CYP2D6, и обладающими узким терапевтическим индексом. Следует соблюдать осторожность при совместном применении эверолимуса с рифампином, рифабутином или кетоконазолом, интраконазолом, кларитромицином, телитромицином или ритонавиром и при необходимости снижать дозу препарата. Также следует соблюдать осторожность при одновременном применении препарата с индукторами изофермента CYP3A4 (например, со Зверобоем продырявленным), противосудорожными средствами (например, карбамазепином), фенобарбиталом, фенитоином, противовирусными средствами, в том числе для лечения ВИЧ-инфекции (например, эфавиренц, невирапин), эритромицином, верапамилом, умеренными ингибиторами изофермента CYP3A4 и Р-гликопротеина (например, противогрибковые средства – флуконазол, блокаторы «медленных» кальциевых каналов – нифедипин, дилтиазем, ингибиторы протеаз – нелфинавир, индинавир, ампренавир), окрелитидом и мидазоламом. Следует избегать использования живых вакцин, употребления грейпфрутового сока и грейпфрута.

Побочное действие. Очень часто (>10%) отмечаются: вирусные, бактериальные и грибковые инфекции, инфекции нижних дыхательных путей, инфекции верхних дыхательных путей, инфекции мочевыводящих путей, анемия/эритропения, лейкопения, тромбоцитопения, гиперлипидемия (холестерин и триглицериды), впервые выявленный СД, гипокалиемия, бессонница, тревожность, головная боль, венозная тромбоз-боль, повышение АД, кашель, одышка, диарея, тошнота, рвота, боль в животе, перикардальный и плевральный выпот, периферические отеки, замедление репаративных процессов, повышение температуры тела. Часто [1–10%]: злокачественные и неопухолевые новообразования, новообразования кожи, раневые инфекции, сепсис, панцитопения, тромбоцитопеническая пурпура, гемолитико-уремический синдром, тахикардия, носовое кровотечение, лимфоцеле, тромбоз трансплантата почки, стоматит/язвы во рту, боль в ротоглотке, миалгия, ангионевротический отек, акне, артралгия, панкреатит, протеинурия, эректильная дисфункция, некроз почечных канальцев, послеоперационная грыжа, нарушения показателей функции печени. Нечасто [0,1–1%]: наблюдались: лимфома, гипогонадизм у мужчин, интерстициальная болезнь легких, гепатит (неинфекционный), желтуха. Редко [0,01–0,1%]: альвеолярный протеиноз, эритродермия, лейкоцитокластический васкулит.

Форма выпуска. Таблетки 0,25 мг, 0,5 мг, 0,75 мг, 1,0 мг: 10 таблеток в блистер ПА/Алюм./ПВХ. По 5, 6, 10 и 25 блистеров вместе с инструкцией по применению в картонной упаковке. Таблетки диспергируемые 0,1 мг, 0,25 мг: 10 таблеток в блистер ПА/Алюм./ПВХ. По 5, 6, 10 и 25 блистеров вместе с инструкцией по применению в картонной упаковке.

Примечание для врача. Прежде, чем назначить препарат, пожалуйста, прочтите также инструкцию по применению.

Новartis Фарма АГ, произведено Новartis Фарма Штейн АГ, Швейцария

Сертикан таблетки: №ЛС-002282 от 29-07-2011 Сертикан диспергируемые таблетки: № ЛС-002281 от 07-02-2012

Литература. 1. Cibrik D et al. Randomized Trial of Everolimus-Facilitated Calcineurin Inhibitor Minimization Over 24 Months in Renal Transplantation Transplantation. 2013, 95(7), 933-942. 2. Kauffman MN, Cherikh WS, Cheng Y, Hanto DW, Kahan BD. Maintenance immunosuppression with target-of-rapamycin inhibitors is associated with a reduced incidence of de novo malignancies. Transplantation. 2005; 8: 883-889.

Гамунекс® - 5 лет в России ¹

In the largest and longest clinical trial in CIDP
GAMUNEX significantly improved
CIDP patient outcomes



ГАМУНЕКС® - ОПТИМАЛЬНЫЙ ВЫБОР ПРИ ТЕРАПИИ ВНУТРИВЕННЫМИ ИММУНОГЛОБУЛИНАМИ



Высокая концентрация IgG в препарате Гамунекс® позволяет снизить гемодинамическую нагрузку в 2 раза по сравнению с 5% внутривенными иммуноглобулинами ²



Гамунекс® обладает оптимальными свойствами, что позволяет проводить безопасную терапию даже у пациентов с сопутствующими заболеваниями ^{2,4}



Гамунекс® значительно снижает частоту возникновения инфекций у пациентов с первичным иммунодефицитом ⁵



Гамунекс® обеспечивает быстрое повышение уровня тромбоцитов и его длительное сохранение в пределах нормы у пациентов с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой ⁶



Гамунекс® обеспечивает выраженный и длительный клинический эффект при терапии хронической воспалительной демиелинизирующей полиневропатии ³

Литература: 1. Государственный реестр лекарственных средств 2014;
2. Инструкция по медицинскому применению препарата Гамунекс. ЛСР-002531/08 04.04.2008; 3. Hughes RAC, Donofrio P, Bril V, et al. Intravenous immune globulin (10% caprylate/chromatography purified) for the treatment of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy (ICE study): a randomized Placebo-controlled trial. Lancet Neurol. 2008; 4. Data on file. Talecris Biotherapeutics inc.; 5. Roifman CM, Schroeder H, Berger M, et al, and the IGIV-C in PID Study Group. Comparison of the efficacy of IGIV-C, 10% (caprylate/chromatography) and IGIV-C, 10% replacement therapy in primary immune deficiency: a randomized double-blind trial. Int Immunopharmacol. 2003;3:1325-1333; 6. Bussel JB, Eldor A, Kelton JG, et al, and the IGIV-C in ITP Study Group. IGIV-C, a novel intravenous immunoglobulin: evaluation of safety, efficacy, mechanisms of action, and impact on quality of life. Thromb Haemost. 2004;91:771-778.



Р-ФАРМ
Инновационные
технологии
здоровья

GRIFOLS

ЗАО «Р-Фарм», 123317, Москва
ул. Тестовская, дом 10
тел: +7-495-956-79-37
факс: +7-495-956-79-38

Доказано наукой. Подтверждено пациентами.

гамунекс®



иммуноглобулин человека
нормальный 100 мг/мл

Реклама

В случае развития нежелательных явлений, пожалуйста, сообщите о них по электронной почте safety@rpharm.ru, либо по телефону +7(495)956-79-37, добавочные 1126 или 1506, либо по факсу +7(495)956-79-38.