

ISSN 1995-1191

ВЕСТНИК

ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ
И ИСКУССТВЕННЫХ
ОРГАНОВ



Russian Journal
of Transplantology
and Artificial Organs

ТОМ XVIII

№1–2016

ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ
ИМЕНИ АКАДЕМИКА В.И. ШУМАКОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ



Россия, 123182, Москва, ул. Щукинская, 1

ВЕСТНИК ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ



УЧРЕДИТЕЛЬ: ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ
ОРГАНИЗАЦИЯ ТРАНСПЛАНТОЛОГОВ
«РОССИЙСКОЕ ТРАНСПЛАНТОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО»

2016. Том XVIII. № 1

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

Главный редактор – С.В. Готье (Москва, Россия),
академик РАН, д. м. н., профессор

Заместитель главного редактора – О.П. Шевченко
(Москва, Россия), д. м. н., профессор

Ответственный секретарь – Б.Л. МIRONKOV (Моск-
ва, Россия), д. м. н., профессор. E-mail: mironkov@
rambler.ru

Ответственный секретарь – Я.Л. Поз (Москва, Рос-
сия), к. м. н. E-mail: dr.poz@list.ru

Заведующая редакцией – Е.В. Яновская (Москва,
Россия). E-mail: yanov05@list.ru

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Д.А. Гранов (Санкт-Петербург, Россия) – член-коррес-
пондент РАН, д. м. н., профессор

Ф. Дельмонико (Бостон, США) – профессор

В.М. Захаревич (Москва, Россия) – д. м. н.

И.М. Ильинский (Москва, Россия) – д. м. н., профессор

Г.П. Иткин (Москва, Россия) – д. б. н., профессор

П. Каличинский (Варшава, Польша) – профессор

А.В. Колсанов (Самара, Россия) – д. м. н., профессор

Я. Лерут (Брюссель, Бельгия) – профессор

Ж. Массард (Страсбург, Франция) – профессор

М.Г. Минина (Москва, Россия) – к. м. н.

Н.А. Онищенко (Москва, Россия) – д. м. н., профессор

Ю.П. Островский (Минск, Беларусь) – академик НАНБ,
д. м. н., профессор

Ки Донг Пак (Сеул, Южная Корея) – профессор

Д.В. Перлин (Волгоград, Россия) – д. м. н., профессор

В.Н. Попцов (Москва, Россия) – д. м. н., профессор

О.Н. Резник (Санкт-Петербург, Россия) – д. м. н., про-
фессор

Р.Ш. Сaitgareev (Москва, Россия) – д. м. н., профессор

В.И. Севастьянов (Москва, Россия) – д. б. н., профессор

М.Л. Семеновский (Москва, Россия) – д. м. н., профессор

О.М. Цирульников (Москва, Россия) – д. м. н.

А.В. Чжао (Москва, Россия) – д. м. н., профессор

А.О. Шевченко (Москва, Россия) – д. м. н., профессор

Д.В. Шумаков (Москва, Россия) – член-корреспондент
РАН, д. м. н., профессор

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

THE OFFICIAL JOURNAL OF ALL-RUSSIAN PUBLIC
ORGANIZATION OF TRANSPLANTOLOGISTS
"RUSSIAN TRANSPLANT SOCIETY"

2016. Vol. XVIII. № 1

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

Editor-in-Chief – S.V. Gautier (Moscow, Russia), MD, PhD,
professor, member of Russian Academy of Sciences

Deputy Chief Editor – O.P. Shevchenko (Moscow, Rus-
sia), MD, PhD, professor

Executive Editor – B.L. Mironkov, MD, PhD, professor.
E-mail: mironkov@rambler.ru

Executive Editor – I.L. Poz (Moscow, Russia), MD, PhD.
E-mail: dr.poz@list.ru

Managing Editor – E.V. Yanovskaya (Moscow, Russia).
E-mail: yanov05@list.ru

EDITORIAL BOARD

D.A. Granov (Saint Petersburg, Russia) – MD, PhD, professor,
corresponding member of Russian Academy of Sciences

F. Delmonico (Boston, USA) – MD, FACS, professor

V.M. Zakharevich (Moscow, Russia) – MD, PhD

I.M. Ilyinsky (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor

G.P. Itkin (Moscow, Russia) – PhD, professor

P.J. Kaliciński (Warsaw, Poland) – MD, PhD, professor

A.V. Kolsanov (Samara, Russia) – MD, PhD, professor

J. Lerut (Brussels, Belgium) – MD, PhD, FACS

G. Massard (Strasbourg, France) – MD, PhD, professor

M.G. Minina (Moscow, Russia) – MD, PhD

N.A. Onischenko (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor

Yu.P. Ostrovsky (Minsk, Belarus) – MD, PhD, professor, mem-
ber of National Academy of Sciences of Belarus

Ki Dong Park (Seoul, South Korea) – MD, PhD, professor

D.V. Perlin (Volgograd, Russia) – MD, PhD, professor

V.N. Poptsov (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor

O.N. Reznik (Saint Petersburg, Russia) – MD, PhD

R.Sh. Saitgareev (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor

V.I. Sevastianov (Moscow, Russia) – PhD, professor

M.L. Semenovskiy (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor

O.M. Tsirolnikova (Moscow, Russia) – MD, PhD

A.V. Chzhao (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor

A.O. Shevchenko (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor

D.V. Shumakov (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor, cor-
responding member of Russian Academy of Sciences

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

С.Ф. Багненко (Санкт-Петербург, Россия) – академик РАН, д. м. н., профессор

А.А. Баранов (Москва, Россия) – академик РАН, д. м. н., профессор

Л.С. Барбараш (Кемерово, Россия) – академик РАН, д. м. н., профессор

А.В. Ватазин (Москва, Россия) – д. м. н., профессор

Р.Х. Галеев (Казань, Россия) – д. м. н., профессор

Э.И. Гальперин (Москва, Россия) – д. м. н., профессор

А.М. Гранов (Санкт-Петербург, Россия) – академик РАН, д. м. н., профессор

Г. Данович (Лос-Анджелес, США) – профессор

А.М. Караськов (Новосибирск, Россия) – академик РАН, д. м. н., профессор

В.А. Порханов (Краснодар, Россия) – член-корреспондент РАН, д. м. н., профессор

Л.М. Рошаль (Москва, Россия) – д. м. н., профессор

О.О. Руммо (Минск, Беларусь) – д. м. н.

Г.Т. Сухих (Москва, Россия) – академик РАН, д. м. н., профессор

Н.А. Томилина (Москва, Россия) – д. м. н., профессор

М.Ш. Хубутия (Москва, Россия) – член-корреспондент РАН, д. м. н., профессор

В.П. Чехонин (Москва, Россия) – академик РАН, д. м. н., профессор

А.Г. Чучалин (Москва, Россия) – академик РАН, д. м. н., профессор

Е.В. Шляхто (Санкт-Петербург, Россия) – академик РАН, д. м. н., профессор

Т.И. Шраер (Кемерово, Россия) – д. м. н., профессор

П.К. Яблонский (Санкт-Петербург, Россия) – д. м. н., профессор

Журнал «Вестник трансплантологии и искусственных органов» включен ВАК РФ в перечень российских рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы результаты диссертационных работ

Журнал «Вестник трансплантологии и искусственных органов» размещен на платформе Web of Science – Russian Science Citation Index

EDITORIAL COUNCIL

S.F. Bagnenko (Saint Petersburg, Russia) – MD, PhD, professor, member of Russian Academy of Sciences

A.A. Baranov (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor, member of Russian Academy of Sciences

L.S. Barbarash (Kemerovo, Russia) – MD, PhD, professor, member of Russian Academy of Sciences

A.V. Vatazin (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor

R.H. Galeev (Kazan, Russia) – MD, PhD, professor

E. I. Galperin (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor

A.M. Granov (Saint Petersburg, Russia) – MD, PhD, professor, member of Russian Academy of Sciences

G. Danovich (Los Angeles, USA) – MD, PhD, professor

A.M. Karaskov (Novosibirsk, Russia) – MD, PhD, professor, member of Russian Academy of Sciences

V.A. Porkhanov (Krasnodar, Russia) – MD, PhD, professor, corresponding member of Russian Academy of Sciences

L.M. Roshal (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor

O.O. Rummo (Minsk, Belarus) – MD, PhD

G.T. Sukhih (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor, member of Russian Academy of Sciences

N.A. Tomilina (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor

M.Sh. Khubutiya (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor, corresponding member of Russian Academy of Sciences

V.P. Chehonin (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor, member of Russian Academy of Sciences

A.G. Tchuchalin (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor, member of Russian Academy of Sciences

E.V. Shliakhto (Saint Petersburg, Russia) – MD, PhD, professor, member of Russian Academy of Sciences

T.I. Shraer (Kemerovo, Russia) – MD, PhD, professor

P.K. Yablonsky (Saint Petersburg, Russia) – MD, PhD, professor

The Journal of Transplantology and Artificial Organs is included in the list of leading peer-reviewed scientific publications editions, produced in the Russian Federation and is recommended for publication of primary results of dissertation research (PhD. and Sc.D.)

Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs has been placed on platform Web of Science at Russian Science Citation Index

ISSN 1995-1191

Адрес для корреспонденции:

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

Address for correspondence:

1, Shchukinskaya st., Moscow 123182, Russia
Tel./Fax +7 (499) 193 87 62
E-mail: vestniktranspl@gmail.com
Journal's web site: <http://journal.transpl.ru>
Scientific eLibrary: <http://elibrary.ru>

Подписной индекс в каталоге «Газеты и журналы» – 80248

СОДЕРЖАНИЕ

СТРАНИЦА ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

30 лет научной специальности
«трансплантология и искусственные органы»
(К 30-летию диссертационного совета
при Федеральном научном центре
трансплантологии и искусственных органов
имени академика В.И. Шумакова)
О.П. Шевченко, Е.А. Волкова

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ОРГАНОВ

Опыт и перспективы трансплантации органов
в Свердловской области
С.В. Готье, Н.Ф. Климушева

Эмболизация селезеночной артерии у пациентов,
перенесших ортотопическую трансплантацию
печени
*Д.А. Гранов, П.Г. Таразов, А.А. Поликарпов,
В.В. Боровик, И.О. Руткин, И.И. Тилеубергенов*

ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ

Экспериментальные подходы к созданию
продолжительной формы ацетилсалициловой
кислоты
*В.И. Севастьянов, В.К. Попов, В.Ю. Белов,
С.В. Курсаков, Е.Н. Антонов, С.Э. Богородский*

РЕГЕНЕРАТИВНАЯ МЕДИЦИНА И КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

Выявление островкового потенциала донорской
поджелудочной железы с использованием
иммуноморфологического анализа
*Н.Н. Скалецкий, Л.А. Кирсанова, Г.Н. Бубенцова,
Н.В. Баранова, Г.Н. Скалецкая, В.И. Севастьянов*

Опыт перфузионной рециеллюляризации
биологического каркаса легких крысы
*Е.В. Кувда, Е.А. Губарева, А.С. Сотниченко,
И.С. Гуменюк, И.В. Гилевич, И.С. Поляков,
В.А. Порханов, С.Н. Алексеенко, П. Маккиарини*

Влияние мезенхимальных стволовых клеток
костного мозга на развитие
посттрансплантационных изменений в почке
*Н.А. Онищенко, С.С. Мещерин, И.М. Ильинский,
В.И. Севастьянов*

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

Случай острой такролимус-индуцированной
почечной недостаточности у больного
после ортотопической трансплантации
сердца
*Д.В. Доронин, А.М. Чернявский, А.В. Фомичев,
М.Н. Дерягин, В.Н. Горбатов*

CONTENTS

5 EDITORIAL

6 30 years of the scientific specialty
«Transplantation and artificial organs»
(To the 30th anniversary of the Dissertation Council
at V.I. Shumakov Federal Research Center
of Transplantation and Artificial Organs)
O.P. Shevchenko, E.A. Volkova

ORGAN TRANSPLANTATION

9 Solid organ transplantation in the Sverdlovsk Region:
experience and perspectives of development
S.V. Gautier, N.F. Klimusheva

17 Splenic artery embolization in patients undergoing
orthotopic liver transplantation
*D.A. Granov, P.G. Tarazov, A.A. Polikarpov,
V.V. Borovik, I.O. Rutkin, I.I. Tileubergenov*

ARTIFICIAL ORGANS

22 Creating a prolonged form of acetylsalicylic acid:
an experimental approach
*V.I. Sevastianov, V.K. Popov, V.Yu. Belov,
S.V. Kursakov, E.N. Antonov, S.E. Bogorodsky*

REGENERATIVE MEDICINE AND CELL TECHNOLOGIES

32 Identification of islet capacity in donor's pancreas
using immunomorphological analysis
*N.N. Skaletskiy, L.A. Kirsanova, G.N. Bubentsova,
N.V. Baranova, G.N. Skaletskaya, V.I. Sevastianov*

38 Experience of perfusion recellularization of biological
lung scaffold in rats
*E.V. Kuevda, E.A. Gubareva, A.S. Sotnichenko,
I.S. Gumenyuk, I.V. Gilevich, I.S. Polyakov,
V.A. Porhanov, S.N. Alekseenko, P. Macchiarini*

45 Influence of bone marrow MSCs on the development
of posttransplant changes in kidney
*N.A. Onishchenko, S.S. Meshcherin, I.M. Ilyinsky,
V.I. Sevastianov*

CASE REPORTS

53 Acute tacrolimus-induced kidney insufficiency
in patient after heart transplantation
*D.V. Doronin, A.M. Chernyavskiy, A.V. Fomichev,
M.N. Deryagin, V.N. Gorbatykh*

ТРАНСПЛАНТАЦИОННАЯ ИММУНОЛОГИЯ И ИММУНОГЕНЕТИКА

Генетические особенности популяции, проживающей на территории Республики Башкортостан

М.А. Логинова, И.В. Парамонов, В.Н. Павлов, Г.Ш. Сафуанова

ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ

Клиническое значение цитомегаловирусной инфекции у детей после трансплантации печени

О.М. Цирульников, И.В. Жилкин, Д.Г. Ахаладзе

Сочетанная трансплантация сердца и почки

В.Н. Попцов

Проблемы обеспечения инфекционной безопасности органного и тканевого донорства при лабораторной диагностике гемоконтактных вирусных инфекций

М.Ш. Хубутия, С.А. Солонин, М.А. Годков

ЮБИЛЕИ

Поздравляем президента Российской академии наук Владимира Евгеньевича Фортова

Поздравляем вице-президента Российской академии наук Ивана Ивановича Дедова

ИНФОРМАЦИЯ

VIII Всероссийский съезд трансплантологов

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

ТРЕБОВАНИЯ К ПУБЛИКАЦИЯМ

TRANSPLANTATION IMMUNOLOGY AND IMMUNOGENETICS

- 58 Genetic characteristics of the population living in the territory of the Republic of Bashkortostan
M.A. Loginova, I.V. Paramonov, V.N. Pavlov, G.Sh. Safuanova

LITERATURE REVIEWS

- 67 Clinical significance of cytomegalovirus infection in pediatric liver transplant recipients
O.M. Tsirolnikova, I.V. Zhilkin, D.G. Akhaladze
- 78 Combined heart-kidney transplantation
V.N. Poptsov
- 83 The problems of providing infectious disease safety for organ and tissue donation by screening blood-borne viral infections
M.Sh. Khubutiya, S.A. Solonin, M.A. Godkov

ANNIVERSARIES

- 91 Congratulation to Vladimir Yevgenievich Fortov
- 93 Congratulation to Ivan Ivanovich Dedov

INFORMATION

- 95 VIII All-Russian Congress of Transplantologists
- 97 On scientific and medical personnel training at V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation

INSTRUCTIONS TO AUTHORS



Глубокоуважаемые коллеги!

Мы с Вами переживаем замечательный период в становлении и развитии трансплантологии, нашей не легкой области науки и практической медицины. Можно с уверенностью сказать, что это период обретения результатов, когда длительные усилия по подготовке, становлению, определению целей и поиску путей их достижения, накоплению опыта etc. начали приносить плоды. Когда число спасенных пациентов, живущих с трансплантированными органами, исчисляется тысячами, продолжительность их жизни после трансплантации – годами и десятилетиями, а качество жизни приближается к таковому у здорового человека. Когда сформирован круг специалистов, единомышленников – ученых и врачей, и очередной всероссийский съезд трансплантологов собирает полный зал заинтересованных участников. Когда флагман и локомотив отечественной трансплатологии – Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов

имени академика В.И. Шумакова занял и удерживает лидирующие позиции в мире по числу выполняемых трансплантаций сердца, по числу трансплантаций печени детям раннего возраста.

О том, насколько долог и непрост путь от первых успехов до стабильного результата, напоминают даты: в прошлом, 2015 году исполнилось 50 лет первой трансплантации почки и 25 лет первой трансплантации печени в нашей стране. В следующем, 2017 году будем отмечать 30-летие успешной трансплантации сердца.

Нынешний, 2016 год также отмечен знаменательными датами – 30-летием научной специальности «трансплантология и искусственные органы» и непрерывного успешного функционирования диссертационного совета по этой специальности при Федеральном научном центре трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова.

Безусловно, особое событие, которое никак не может стоять в череде других юбилейных дат, – это 100-летие со дня рождения Владимира Петровича Демихова – всемирно известного ученого, своими смелыми экспериментами предвосхитившего появление современной клинической трансплантологии и придавшего мощный импульс ее развитию. В.П. Демихов сумел совершить прорыв в различных областях трансплантологии, выполнив первые в мире эксперименты по трансплантации жизненно важных органов – сердца, легкого, печени; проведению маммарокоронарного шунтирования; использованию «искусственного сердца» и многое другое.

Отдавая дань памяти этому уникальному ученому, Российское трансплантологическое общество объявило весь 2016 год годом В.П. Демихова. Под эгидой Общества пройдут научные, общественные мероприятия, в которых будут участвовать организаторы здравоохранения, научные и медицинские учреждения России, общественные организации, отечественные и зарубежные врачи и ученые различных специальностей. Мы приглашаем всех заинтересованных коллег вместе с нами прикоснуться к наследию ученого – подвижника и энтузиаста. Очередной, VIII Всероссийский съезд трансплантологов, который состоится 27–29 июня 2016 года, также будет посвящен 100-летию юбилею Владимира Петровича Демихова.

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

С.В. Готье

DOI: 10.15825/1995-1191-2016-1-6-8

30 ЛЕТ НАУЧНОЙ СПЕЦИАЛЬНОСТИ «ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ И ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ» (К 30-летию диссертационного совета при Федеральном научном центре трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова)

О.П. Шевченко^{1, 2}, Е.А. Волкова¹

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

² Кафедра трансплантологии и искусственных органов ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова», Москва, Российская Федерация

30 YEARS OF THE SCIENTIFIC SPECIALTY «TRANSPLANTATION AND ARTIFICIAL ORGANS» (To the 30th anniversary of the Dissertation Council at V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs)

O.P. Shevchenko^{1, 2}, E.A. Volkova¹

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, Department of transplantology and artificial organs, Moscow, Russian Federation

Решение об открытии специальности «трансплантология и искусственные органы» (14.00.41) и создании на базе Научно-исследовательского института трансплантологии и искусственных органов Министерства здравоохранения СССР диссертационного совета, принимающего к защите диссертации на соискание ученой степени доктора и кандидата наук по этой специальности, было принято в 1986 году.

Неоспоримая заслуга в формировании направления «трансплантология и искусственные органы» как научной специальности и в открытии совета принадлежит его первому председателю Валерию Ивановичу Шумакову. Академик В.И. Шумаков возглавлял диссертационный совет на протяжении 22 лет, до конца своих дней. Без преувеличения можно сказать, что за эти годы выросла целая плеяда, была создана отечественная школа кадров высшей квалификации, докторов и кандидатов наук, имеющих научную специальность «транспланто-

логия и искусственные органы». Нельзя не вспомнить еще одного крупного и яркого ученого, стоявшего у истоков и много сделавшего для создания нашей научной специальности – профессора Аверия Александровича Писаревского, первого ученого секретаря совета, выполнявшего эту функцию до 1996 года.

Начиная с 2008 года диссертационным советом Д 208.055.01 руководит академик РАН С.В. Готье, директор ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России (ФНЦТИО). С приходом нового лидера начался новый этап в развитии и российской трансплантологии, и ее локомотива – ФНЦТИО. С развитием научных исследований совершенствуется и уточняется содержание научной специальности, не стоит на месте деятельность по аттестации научных кадров, которой занимается диссертационный совет. Научная тематика диссертационных работ по специальности «Трансплантология и искусственные ор-

ганы» включает и клинические, и биомедицинские исследования, среди которых все большее место занимают работы в области клеточных технологий, тканевой инженерии, биоискусственных органов. Разработки по созданию искусственных органов уже реализованы в клинической практике.

В настоящее время паспорт специальности «трансплантология и искусственные органы» сформулирован следующим образом.

ФОРМУЛА СПЕЦИАЛЬНОСТИ

Трансплантология и искусственные органы – специальность, базирующаяся на изучении хирургических и патофизиологических проблем пересадки органов и тканей в клинике и эксперименте, изыскании способов преодоления реакций тканевой несовместимости, создании временной или постоянной толерантности организма к чужеродным антигенным структурам, а также включающая вопросы разработки и использования технических устройств для частичной или полной замены жизненно важных органов и их частей, утративших свою функцию.

ОБЛАСТИ ИССЛЕДОВАНИЙ

1. Исследования по разработке способов преодоления тканевой несовместимости путем углубленного изучения вопросов трансплантационной иммунологии и трансплантационной патофизиологии, основной системы гемосовместимости человека и животных и внедрение полученных данных в клиническую практику.
2. Экспериментальная и клиническая разработка, а также внедрение в практику методов пересадки органов, тканей, изолированных клеток. Трансплантационная хирургия. Оценка функции пересаженных органов и тканей.
3. Теоретическая и экспериментальная разработка и применение в клинической практике методов консервации органов, тканей, клеток.
4. Теоретическая и экспериментальная разработка и создание аппаратов и систем, заменяющих жизненно важные органы и отдельные их функции. Их клиническое применение. Исследования в области создания материалов для искусственных органов.
5. Разработка методов диспансеризации и реабилитации больных с пересаженными органами, а также с различными искусственными органами.

Диссертационный совет Д 208.055.01 при ФНЦТИО принимает к рассмотрению диссертации на соискание ученой степени доктора и кандидата наук по специальностям: 14.01.24 – трансплантология и искусственные органы (медицинские и био-

логические науки); 14.01.26 – сердечно-сосудистая хирургия (медицинские науки).

В течение многих лет диссертационный совет был единственным, где защищались диссертации по специальности «трансплантология и искусственные органы». И позднее, при открытии советов при других научных учреждениях нашей страны, не изменилось главное – через диссертационный совет при ФНЦТИО проходит подавляющее большинство всех диссертационных работ по нашей специальности. Более того, совет объединяет в своем составе большинство отечественных ведущих специалистов в этой области. В качестве официальных оппонентов также привлекаются наиболее авторитетные ученые в области трансплантологии, искусственных органов, сердечно-сосудистой хирургии, кардиологии не только из Москвы, но и Санкт-Петербурга, Новосибирска, Краснодара, Волгограда и других городов России. Диссертационный совет ФНЦТИО является своего рода научным центром, объединяющим ученых-трансплантологов и ученых смежных специальностей, которые собираются, чтобы обсудить, оценить, проанализировать результаты последних научных исследований в этой области.

В последние годы в нашей стране в процессе совершенствования организации и оптимизации сети диссертационных советов были внесены изменения в нормативную документацию по аттестации научных и научно-педагогических работников. В своей деятельности диссертационный совет руководствуется последними документами, регламентирующими порядок аттестации научных работников: приказ Министерства образования и науки РФ № 7 от 13.01.2014 г. «Об утверждении Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук» (зарегистрирован в Министерстве юстиции РФ 24.02.2014 г.); Постановление Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. «О порядке присуждения ученых степеней» (вступило в силу с 01.01.2014 г.); приказ Министерства образования и науки РФ № 326 от 16.04.2014 г. «Об утверждении порядка размещения в информационно-телекоммуникационной сети «Интернет» информации, необходимой для обеспечения порядка присуждения ученых степеней» (зарегистрирован в Министерстве юстиции РФ 27.05.2014 г.).

В соответствии с Постановлением Правительства РФ от 18.11.2013 г. № 1035 «О федеральной информационной системе государственной научной аттестации», приказом Министерства образования и науки Российской Федерации от 10.12.2013 г.

№ 1331 «О вводе в промышленную эксплуатацию единой государственной информационной системы мониторинга процессов аттестации научных и научно-педагогических кадров высшей квалификации» диссертационный совет центра подключен к Единой государственной информационной системе мониторинга процесса аттестации (ЕГИСМ). Для осуществления проверки текста диссертаций с целью выявления заимствованного материала на базе диссертационного совета функционирует система «Антиплагиат».

В настоящее время диссертационный совет функционирует в составе тридцати человек, двадцать три из которых являются штатными сотрудниками ФНЦТИО и семь – приглашенными членами диссертационного совета из шести научных организаций. В составе совета один академик и три члена-корреспондента РАН, двадцать девять докторов наук и один кандидат наук – ученый секретарь совета.

В период 2011–2015 гг. в диссертационном совете было рассмотрено 55 диссертаций (48 кандидатских и 7 докторских), из них 42 диссертации по специальности 14.01.24 – трансплантология

и искусственные органы, 13 – по специальности 14.01.26 – сердечно-сосудистая хирургия.

В 2015 году были рассмотрены и прошли успешную процедуру защиты девять кандидатских и две докторские диссертации, среди них 10 работ – по специальности 14.01.24 – трансплантология и искусственные органы.

Можно с удовлетворением констатировать, что за 30 лет своей истории относительно новая научная специальность «трансплантология и искусственные органы» оформилась и заняла достойное место на современном научном медицинском поле. Диссертационный совет Д 208.055.01 при ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, которому в 2016 году также исполняется 30 лет, все эти годы успешно выполнял свои функции и продолжает уверенно работать в условиях реформирования системы подготовки и государственной аттестации научных кадров.

*Статья поступила в редакцию 25.01.2016 г.
The article was submitted to the journal on 25.01.2016*

DOI: 10.15825/1995-1191-2016-1-9-16

ОПЫТ И ПЕРСПЕКТИВЫ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ОРГАНОВ В СВЕРДЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ

С.В. Готье^{1, 2}, Н.Ф. Климушева³

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

² Кафедра трансплантологии и искусственных органов ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова», Москва, Российская Федерация

³ ГБУЗ Свердловской области «Свердловская областная клиническая больница № 1», Екатеринбург, Российская Федерация

В статье обсуждаются вопросы развития трансплантации солидных органов в Свердловской области. Проанализированы клинические результаты учреждения практического здравоохранения – Свердловской областной больницы № 1 в трансплантации донорских органов: почки, печени, сердца. Показана клиническая эффективность трансплантации почки, печени, сердца при утрате функции органов. Дано обоснование перспективных направлений развития трансплантологии в регионе.

Ключевые слова: трансплантология, трансплантация донорских органов, клиническая эффективность трансплантации, экономические преимущества метода трансплантации, развитие трансплантологии в регионе.

SOLID ORGAN TRANSPLANTATION IN THE SVERDLOVSK REGION: EXPERIENCE AND PERSPECTIVES OF DEVELOPMENT

S.V. Gautier^{1, 2}, N.F. Klimusheva³

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, Department of transplantology and artificial organs, Moscow, Russian Federation

³ Sverdlovsk Regional Clinical Hospital № 1, Yekaterinburg, Russian Federation

The article discusses the development of solid organ transplantation in the Sverdlovsk Region Clinical Hospital № 1, a practical healthcare center. We have analyzed the clinical results and the practical feasibility of transplantation of donor organs: the kidney, liver and heart in the leading regional multi-profile clinic. The clinical efficacy of transplantation in patients with the irreversible decompensated phase of solid organs has been shown. We have substantiated the prospective directions of the development of transplantation practices in the region.

Key words: transplantation, organ transplantation, clinical efficacy of transplantation, economic advantages of transplantation methods, transplantation development in the region.

ВВЕДЕНИЕ

Трансплантационные технологии являются высокоэффективным современным методом медицинской помощи больным с необратимой стадией хронических заболеваний жизненно важных органов. Накопленный мировой опыт трансплантации органов более чем за пятидесятилетний период, совершенствование хирургической техники, анестезиологи-

ческого пособия и реанимации, достижения трансплантационной иммунологии, создание нормативной базы органного донорства позволили выработать основные принципы отбора доноров и реципиентов, варианты оперативного лечения, ведения больных в послеоперационном периоде. В большинстве развитых стран операции по пересадке донорских органов стали обычной медицинской практикой.

Для корреспонденции: Климушева Наталья Федоровна. Адрес: 620102, Екатеринбург, ул. Волгоградская, д. 185. Тел. (912) 270-43-89. E-mail: Klimushevanf@mail.ru.

For correspondence: Klimusheva Natalya Fedorovna. Address: 185, Volgogradskaya St., Yekaterinburg, 620102, Russian Federation. Tel. (912) 270-43-89. E-mail: Klimushevanf@mail.ru.

ОПЫТ ВНЕДРЕНИЯ ТРАНСПЛАНТАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В УРАЛЬСКОМ РЕГИОНЕ

Выполнение высокотехнологичных операций трансплантации донорских органов должно быть сосредоточено в ведущих федеральных центрах или в ведущих медицинских центрах регионального уровня, обладающих современной материально-технической базой, высококвалифицированными медицинскими кадрами [1]. Свердловская областная клиническая больница № 1 (СОКБ № 1, главный врач – д. м. н., профессор Ф.И. Бадаев) – единственное лечебное учреждение в Свердловской области, которое с 1990 года оказывает медицинскую помощь методом трансплантации пациентам с необратимой стадией заболеваний почек, печени, сердца. Начиная с 1990 года в СОКБ № 1 выполнено 454 трансплантации почек, с 2005 года – 110 трансплантаций печени, а с 2006 года – 36 трансплантаций сердца. Из общего числа: 73% трансплантации донорских органов выполнено жителям Свердловской области, 27% – жителям Уральского региона: Челябинской, Тюменской, Пермской, Курганской областей. В Уральском регионе сформирован единый регистр реципиентов почки, создана компьютерная программа подбора почки «реципиент–донор». Реальность эффективного сотрудничества по пересадке почки и печени доказана взаимодействием с Челябинской областной клинической больницей и Республиканской клинической больницей Башкортостана. Таким образом, СОКБ № 1 является достойным примером взаимодействия с другими

территориями в технологии донорства и трансплантации органов в России.

В столице Среднего Урала – Екатеринбурге (численность населения 1,46 млн человек) в последние десять лет количество доноров составляет от 13 до 20 человек на 1 млн населения, что практически соответствует среднеевропейским показателям. Такой показатель достигнут в результате использования различных вариантов работы с донорскими базами (дистанционный забор органов в медицинских учреждениях города, госпитализация в СОКБ № 1 больных с острой церебральной недостаточностью).

В то же время при пересчете на Свердловскую область (численность населения 4,5 млн человек) этот показатель ниже и составляет 5 доноров, а в целом в Уральском регионе равен общероссийскому показателю – 2 донора на 1 млн населения.

Деятельность СОКБ № 1 по развитию трансплантационных технологий позволила увеличить количество трансплантаций органов с 23 операций в 2005 году до 56 операций в 2014 году. Более чем двукратный рост произошел не столько за счет увеличения количества посмертных доноров (17 доноров в 2005 году и 23 донора в 2014 году), сколько за счет развития мультиорганного донорства (2 донора в 2005 году и 22 – в 2014 году). В настоящее время количество изъятых органов от одного донора составляет 3,2. Во всех случаях работа проводилась по констатации смерти мозга. Динамика роста трансплантаций органов и донорской активности отражена на рис. 1.

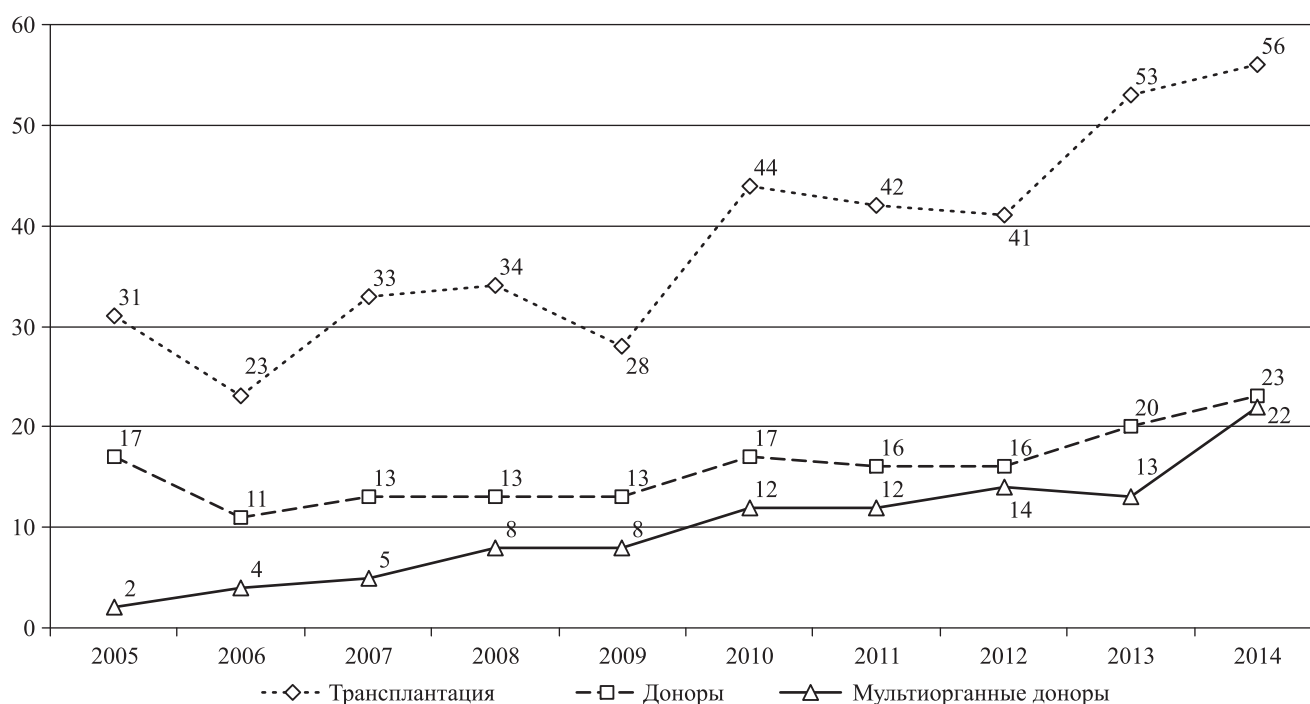


Рис. 1. Трансплантационная и донорская активность трансплантационного центра СОКБ № 1 в 2005–2014 гг.

Fig. 1. Transplant and donor activity of transplant center at Sverdlovsk regional clinical hospital № 1 in 2005–2014 years

Показатели выживаемости пациентов соответствуют показателям ведущих российских центров трансплантации донорских органов. Определенный вклад в достижение высоких качественных показателей трансплантологических операций СОКБ № 1 вносит система психологического сопровождения пациентов, как находящихся в листе ожидания, так и тех, кто получил донорский орган, а также их родственников [2–4].

Вместе с тем эпидемиологические данные о заболеваемости населения Свердловской области болезнями почек, печени, сердца, приводящими к развитию терминальной органной недостаточности, показывают, что потребность в трансплантологических операциях удовлетворена далеко не полностью. Анализ листов ожидания трансплантации органов указывает на необходимость выполнения, из расчета на 1 млн населения области в год, 54,4 трансплантации почки (в настоящее время – 9,4); 8,6 трансплантации печени (в настоящее время – 5,0); 10,5 трансплантации сердца (в настоящее время – 0,9). Рост количества пациентов с хроническими заболеваниями внутренних органов, осложненными терминальной органной недостаточностью, неизбежно связан с «удлинением» очереди на трансплантацию. Таким образом, реально выполняется не более трети требуемых операций трансплантации органов в год.

В ряде исследований доказано, что трансплантация органов как метод лечения эффективнее, чем консервативная терапия, как в отношении качества и продолжительности жизни пациентов, так и экономически [3–5].

Опыт внедрения трансплантационных технологий в СОКБ № 1 позволяет наметить пути дальнейшего развития трансплантологической помощи больным с терминальной стадией заболеваний ор-

ганов. Это, во-первых, введение административной ответственности для руководителей ЛПУ области за неисполнение работы по донорству на основании региональных приказов и инструкций, в соответствии с Российским законодательством. Во-вторых, формирование положительного отношения к трансплантации органов и донорству не только в обществе, но и в медицинской среде, постоянная работа со средствами массовой информации. В-третьих, работа по увеличению финансирования трансплантологии в целом, поскольку доказано, что расходы государства на лечение пациентов с терминальными заболеваниями внутренних органов, а также потери, связанные с выплатами по инвалидности и смерти трудоспособного населения в результате декомпенсации этих заболеваний, существенно превышают затраты, связанные с трансплантацией органов.

Опыт СОКБ № 1 по применению трансплантационных технологий при лечении больных с терминальной стадией болезней почек, печени и сердца представлен ниже.

АЛЛОТРАНСПЛАНТАЦИЯ ПОЧКИ

С 2002-го по 2014 г. лист ожидания трансплантации почки включал от 80 до 196 больных с терминальной стадией хронической почечной недостаточности (рис. 2).

Накопление клиникой опыта ведения пациентов до и после трансплантации почки, улучшение показателей выживаемости пациентов с трансплантатом сопровождалось увеличением количества больных в листе ожидания. Значительная часть больных с терминальной ХПН предпочитали трансплантацию почки заместительной терапии гемодиализом.

Возраст потенциальных реципиентов составил от 16 до 64 лет ($39,14 \pm 8,47$ года). Трансплантацию

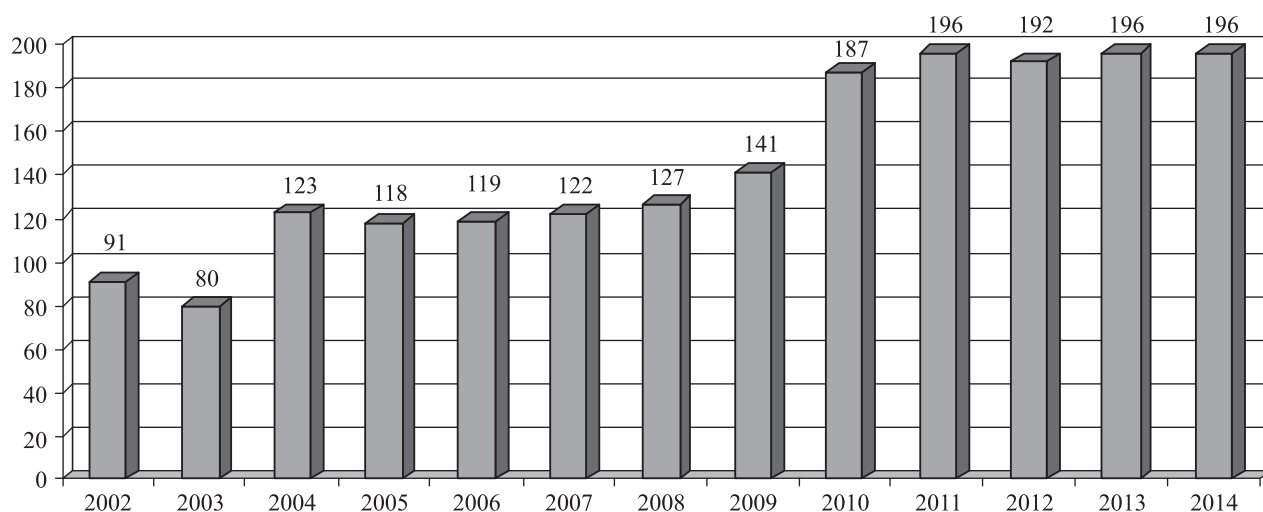


Рис. 2. Состояние листа ожидания трансплантации почки в 2002–2014 гг.

Fig. 2. Kidney transplantation waiting list in 2002–2014 years

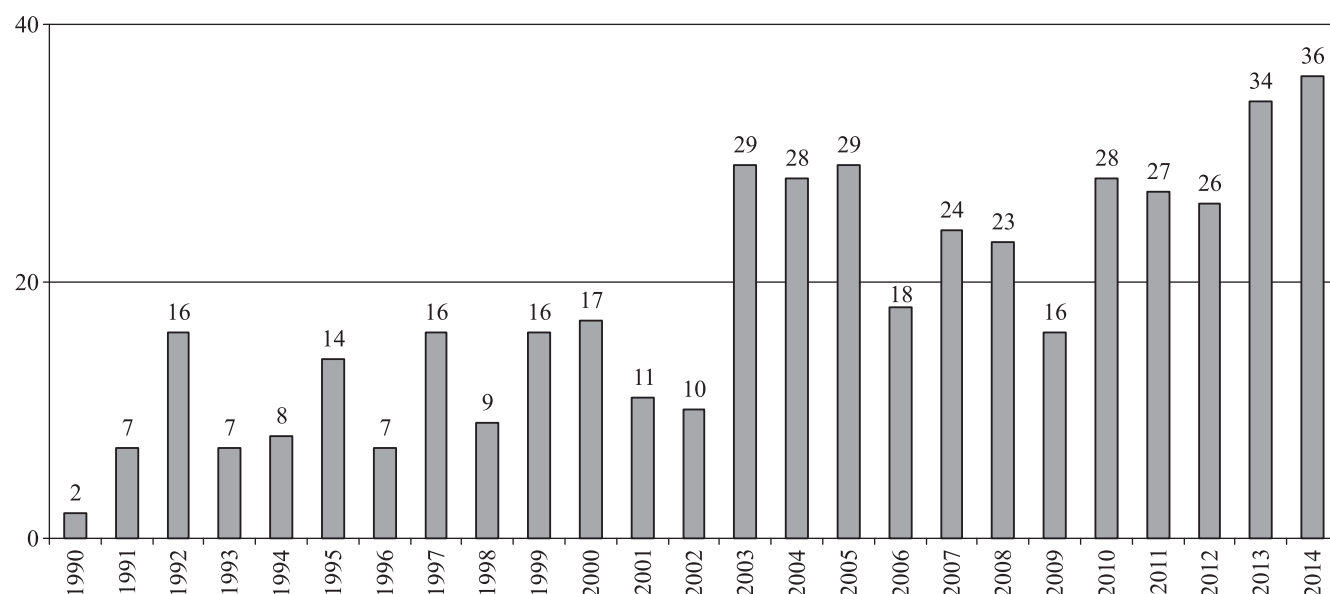


Рис. 3. Динамика числа трансплантаций почки в СОКБ № 1 в 1990–2014 гг.

Fig. 3. Kidney transplantations at Sverdlovsk regional clinical hospital № 1 in 1990–2014 years

почки ожидали преимущественно лица трудоспособного возраста, для которых важно сохранение прежнего (до болезни) качества жизни и восстановление трудоспособности; в листе ожидания преобладали мужчины (56,6% мужчин и 43,4% женщин). Средняя продолжительность периода диализа до аллотрансплантации почки (АТП) составляла $27,02 \pm 1,37$ мес. (около 2 лет). Максимальный срок диализа до АТП был 162 мес. (13,5 года).

Среди 454 пациентов, перенесших операцию АТП (1990–2014 гг.), было 278 мужчин (61,2,0%) и 176 (38,8%) женщин. Основное количество АТП выполнено с использованием почки трупных доноров – 446 случаев (98,2%); трансплантаций от живых родственных доноров – всего 8 (1,8%). Первичных трансплантаций почки было 442 (97,4%), повторных – 12 (2,6%).

Динамика числа трансплантаций почки, выполненных за анализируемый период, представлена на рис. 3.

Сравнение результатов трансплантации почки за два десятилетия (1992–2001 гг. и 2002–2011 гг.) показало, что во втором десятилетии количество трансплантаций почки от посмертного донора увеличилось почти в два раза; также увеличилось количество трансплантаций почки и от родственного донора (в 2,5 раза), хотя этого явно недостаточно для большого числа пациентов, стоящих в листе ожидания.

Выживаемость пациентов после трансплантации почки в клинике составила: 10-летняя – 64%, 20-летняя – 43%; выживаемость трансплантатов – соответственно 48 и 41%.

Основными причинами летальных исходов после аллотрансплантации почки были инфекционные

(37,7%) и кардиоваскулярные осложнения (21,7%). Основные причины потерь ренальных аллотрансплантатов – смерть пациента с функционирующим трансплантатом (37,3%) и хроническая трансплантационная нефропатия (35,3%).

Таким образом, при сравнении двух десятилетних периодов отмечается значимое улучшение результатов аллотрансплантации почки, выполненной во втором анализируемом десятилетии, что связано с улучшением иммунологического подбора пары «донор–реципиент», диагностики осложнений, современными схемами иммуносупрессивной терапии, накоплением хирургического опыта и опыта ведения пациентов с трансплантированными органами. Приоритетными направлениями для улучшения результатов трансплантации почки являются предупреждение инфекционных и кардиоваскулярных осложнений, дальнейшее совершенствование ведения пациентов в посттрансплантационном периоде. При планировании операции трансплантации почки следует учитывать также факторы, связанные с донором и являющиеся независимыми предикторами исхода трансплантации [6, 7].

ОРТОТОПИЧЕСКАЯ ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ПЕЧЕНИ

В структуре больных, госпитализированных в отделение гастроэнтерологии за последние десять лет, наблюдалась тенденция к неуклонному увеличению доли больных с патологией печени (рис. 4).

Среди пролеченных гепатологических больных возрастала доля пациентов с циррозом печени: с 2010-го по 2014 г. с 345 до 517 чел.; прирост составил 172 чел., или 33,3% (рис. 5). Количество про-

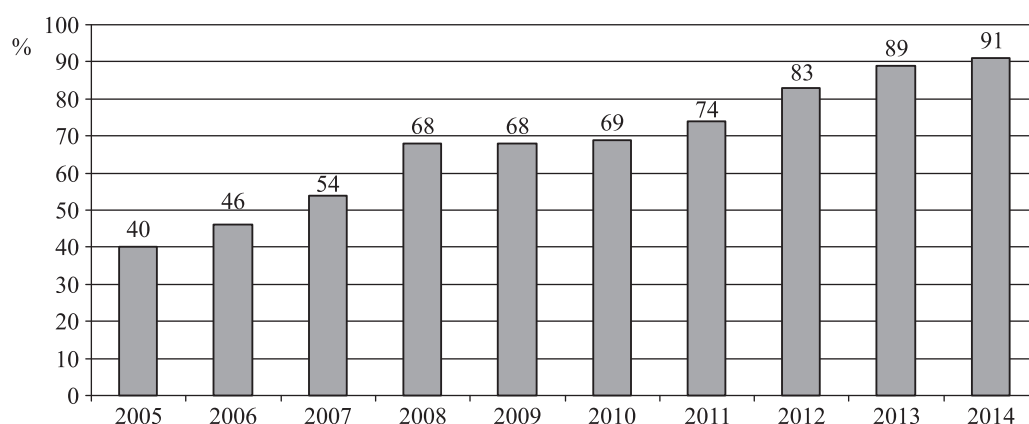


Рис. 4. Доля больных с заболеваниями печени среди пациентов, госпитализированных в отделение гастроэнтерологии в 2005–2014 гг.

Fig. 4. Percentage of patients with liver disease among all patients hospitalized in gastroenterology department in 2005–2014 years

леченных больных с другими болезнями печени (болезнь Вильсона–Коновалова, гемохроматоз, альвеококкоз, болезнь Гоше, первичный тромбоз воротной вены) существенно не изменилось: 139 чел. в 2010 г. и 147 в 2014 г.: прирост 8 чел., или 5,4%.

Лист ожидания пациентами трансплантации печени начал создаваться в 2004 г., в 2005-м выполнена первая операция. Для листа ожидания трансплантации печени характерны высокая смертность и регулярное его пополнение за счет новых больных. За период с 2005-го по 2014 г. из всех потенциальных кандидатов на трансплантацию после исключения пациентов, имевших противопоказания для операции, в листе ожидания осталось 504, что составило 44,8% от всех потенциальных кандидатов на включение в лист ожидания – 1125 чел.). Чаще в лист ожидания включались пациенты с вирусной природой заболевания (HCV, HBV, HBV+HDV) и криптогенным циррозом.

Распределение больных, включенных в лист ожидания ортотопической трансплантации печени

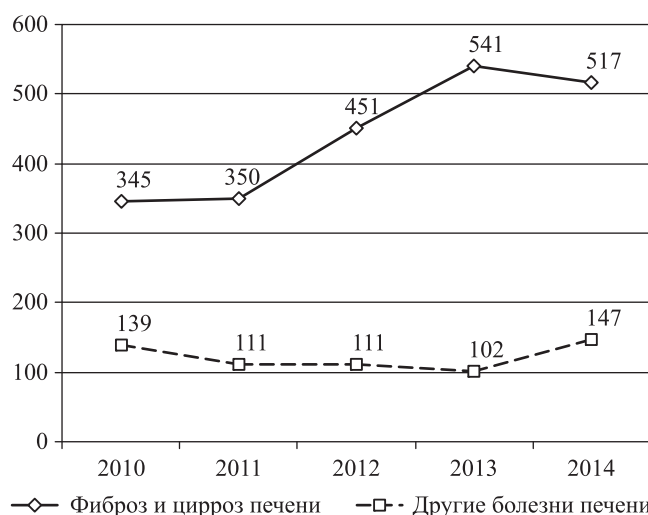


Рис. 5. Динамика числа пролеченных в гастроэнтерологическом отделении больных с циррозом и другими болезнями печени

Fig. 5. Patients with cirrhosis and other liver diseases treated in the gastroenterology department

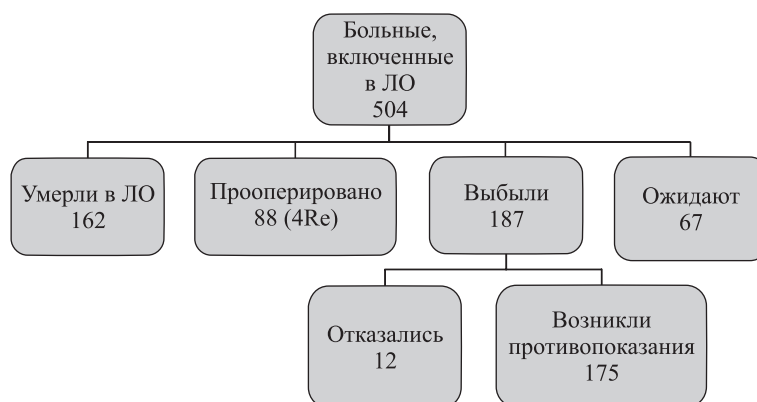


Рис. 6. Распределение больных, включенных в лист ожидания трансплантации печени, в 2005–2014 гг.

Fig. 6. Patients in liver transplantation waiting list in 2005–2014 years

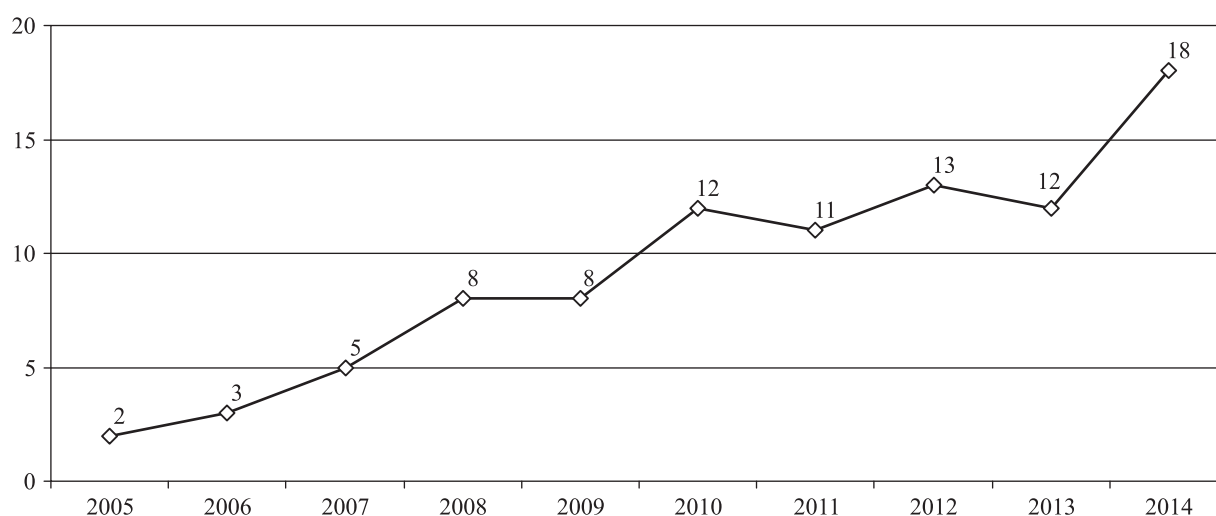


Рис. 7. Количество выполненных трансплантаций печени в период 2005–2014 гг.

Fig. 7. Liver transplantations in 2005–2014 years

за период 2005–2014 гг., по группам и движение их в листе ожидания представлено на рис. 6.

За анализируемый период умерло 162 больных из листа ожидания (32,1%): из них 158 чел. (97,5%) – от осложнений цирроза печени и четверо больных (2,5%) – от других причин.

Трансплантация печени была выполнена 88 пациентам (17,5%), из них четверым пациентам выполнена ретрансплантация. Динамика числа ОТП представлена на рис. 7.

За время ожидания трансплантации печени из листа ожидания выбыло 187 больных, что составило 37,1% от общего количества: у 175 чел. (34,7%) за время нахождения в листе ожидания появились осложнения основного заболевания или другая патология, ставшие противопоказаниями для трансплантации печени, и 12 больных (2,4%) отказались от операции в связи с сомнениями в прогнозе своего заболевания и эффективности предстоящей операции.

Средние сроки нахождения в листе ожидания были минимальными в подгруппе умерших пациентов (297,55 дня), что объясняется тяжестью их состояния. У них же при оценке тяжести печеночной недостаточности по шкале MELD были максимальные показатели среднего балла – 23,8. Приведенные данные показывают, что пациенты с максимальным уровнем MELD должны оперироваться в первую очередь, независимо от продолжительности их нахождения в листе ожидания.

Самыми частыми причинами смерти у пациентов, находящихся в листе ожидания, были терминальная печеночная недостаточность с развитием печеночной комы (45,3%) и кровотечение из варикозно расширенных вен пищевода, желудка (52,5%). Смерть 82,7% больных произошла по мес-

ту жительства (дома или в неспециализированном стационаре).

Сравнительный анализ результатов трансплантации печени больным, страдающим циррозом печени, за два пятилетних периода – 2005–2009 гг. и 2010–2014 гг. показал, что количественные и качественные показатели трансплантаций печени во втором пятилетии значительно улучшились. За период 2005–2009 гг. выполнено 26 пересадок печени, что составило 28,3% от всех подобных операций за время их выполнения в СОКБ № 1. За период 2010–2014 гг. трансплантаций печени выполнено 66, что на 43,4% превышает их количество за предыдущее пятилетие. С увеличением количества операций, накоплением хирургами опыта выполнения трансплантаций менялись и качественные показатели. Так, сократилось время оперативного вмешательства с $484,2 \pm 27,4$ до $436,0 \pm 61,6$ мин; уменьшилась интраоперационная кровопотеря с $1999,3 \pm 198,2$ до $1315,3 \pm 702,2$ мл, с 61,3 до 28,9% (на 32,4%) сократилось количество послеоперационных осложнений, с 16,5 до 9,8% снизилась послеоперационная летальность.

В структуре послеоперационных осложнений также видна положительная динамика. Билиарные осложнения (желчеистечение, биллома) сократились практически втрое: с 21,3 до 7,3%. Вдвое уменьшилось количество сосудистых осложнений (артериальные, венозные тромбозы) – с 18,0 до 9,1%. Другие хирургические осложнения послеоперационного периода (кровотечение, кишечная непроходимость) также сократились вдвое – с 22,0 до 12,5%.

Выживаемость пациентов после трансплантации печени в течение года составила 74,3%, в течение 5 лет – 56,7%. Максимальное время наблюдения пациентов, перенесших трансплантацию печени в клинике, составляет 9 лет.

Таким образом, эффективность операций трансплантации печени не отличается от таковой в других трансплантационных центрах со сходным объемом выполняемых трансплантаций печени. Высокий уровень смертности больных в листе ожидания (32,1%) говорит о тяжести их состояния, а также о необходимости увеличения количества выполняемых операций.

ОРТОТОПИЧЕСКАЯ ТРАНСПЛАНТАЦИЯ СЕРДЦА

С 2006 г. (начало технологии трансплантации сердца в клинике) по 2014 г. в лист ожидания трансплантации сердца было включено 189 пациентов.

В листе ожидания трансплантации сердца преобладали (90,5%) мужчины – лица трудоспособного возраста, что подчеркивает необходимость оптимальной социальной реабилитации.

Терминальная хроническая сердечная недостаточность была исходом ишемической кардиомиопатии (ИКМП) у 52,5% больных из листа ожидания, дилатационная кардиомиопатия (ДКМП) – у 42,5% и у 5% – исход клапанной болезни сердца.

Показанием для ОТС является терминальная стадия ХСН, резистентная к медикаментозной терапии – ХСН III ФК (по квалификации Нью-Йоркской ассоциации кардиологов, NYHA) с частыми декомпенсациями, требующими стационарного лечения и IV ФК (NYHA). По данным теста 6-минутной ходьбы, ХСН III ФК (NYHA) был у 24 человек (75%), IV ФК (NYHA) – у четырех человек (12,5%), четверым пациентам тест не проводился из-за тяжести состояния.

Летальность больных с терминальной стадией ХСН из листа ожидания высока: из 189 пациентов умерли 109 человек, что составило 57,7%. Каждый второй пациент не дожид до пересадки сердца. Срок пребывания в листе ожидания до момента операции составлял от 3 дней до 5 лет (в среднем – 19 месяцев). При выполнении в год 4–6 операций технология трансплантации сердца не решает проблемы лечения больных с терминальной ХСН. Основными причинами смерти больных из листа ожидания трансплантации сердца были: внезапная остановка сердца – 59 больных (54,1%), быстро прогрессирующая СН – 19 (7,4%), медленно прогрессирующая СН – 27 (24,8%), прочие причины – 4 больных (3,7%).

Из листа ожидания выбыли за весь период наблюдения 14 больных (7,4% от всех пациентов листа ожидания), которые отказались от операции. Максимальное количество отказов пришлось на первые три года выполнения трансплантаций сердца. Наиболее частыми причинами отказа от предлагаемого оперативного лечения со стороны паци-

ентов были: сомнение в эффективности операции, небольшой опыт проведения пересадки сердца на Урале, сомнение в неизбежности неблагоприятного исхода своего заболевания.

С 2006-го по 2014 г. выполнено 32 трансплантации сердца: 30 мужчинам (93,7%) и двум женщинам (6,3%). Предтрансплантационный статус (по UNOS) был IA у четверых пациентов и статус II – у 28 пациентов.

Донорами сердца стали 28 (87,5%) мужчин и 4 женщины (12,5%). Средний возраст доноров составил 35 лет. Причиной смерти мозга у 20 (62,5%) человек явилась тяжелая черепно-мозговая травма, у 12 (37,5%) – нарушение мозгового кровообращения.

В течение первого года после трансплантации сердца в структуре осложнений доминировали инфекционные и синдром слабости синусного узла (СССУ). Инфекционные осложнения наблюдались у 10 пациентов (31,2%): пневмония – у 8 (25,0%), остеомиелит грудины – у одного (3,1%), инфекционный эндокардит трикуспидального клапана – у одного пациента (3,1%). СССУ, потребовавший имплантации электрокардиостимулятора (ЭКС), был у 12 человек (37,5%), что может быть связано с методикой ТС и заставляет проанализировать влияние хирургической тактики операций.

Острое отторжение трансплантата наблюдалось у 6 пациентов (18,7%). Классическим методом диагностики отторжения является эндомиокардиальная биопсия (ЭМБ) трансплантата. В настоящее время существует тенденция к сокращению контрольных биопсий сердца с предпочтением неинвазивных критериев определения степени отторжения трансплантата.

В отдаленном послеоперационном периоде преобладали осложнения иммуносупрессивной терапии у 10 пациентов (31,3%): нарушение толерантности к глюкозе и развитие сахарного диабета – 5 чел. (15,6%), случай лекарственного гепатита (3,1%), случай остеопороза с компрессионными переломами (3,1%), развитие агранулоцитоза – у 3 пациентов (9,4%). Инфекционные осложнения отмечены у 5 пациентов (15,6%): пневмония – у 3 чел. (9,4%), инфекционный эндокардит трикуспидального клапана – у одного пациента (3,1%), и у одного пациента развился апостематозный нефрит (3,1%). Неврологические осложнения наблюдались у 4 пациентов (12,5%). На долю острого отторжения трансплантата, потребовавшего проведения пульс-терапии, пришлось 9,4% (3 чел.). У одного пациента (3,1%) выявлена болезнь коронарных артерий пересаженного сердца. У 28,1% (9 чел.) послеоперационный период протекал без осложнений.

Из 32 реципиентов сердца за период 2006–2014 гг. умерли 7 человек (21,9%), из них 6 паци-

ентов (18,7%) – в первый месяц после ТС. Причиной смерти в раннем послеоперационном периоде стали:

- дисфункция трансплантата – три случая (9,4%);
- сверхострое отторжение трансплантата – один случай (3,1%);
- острая сердечная недостаточность – один случай (3,1%);
- нарушение ритма сердца – у одного больного (3,1%).

Один пациент (3,1%) умер через 1 год и 4 месяца после трансплантации от инфекционного эндокардита и двусторонней внебольничной полисегментарной пневмонии.

Выживаемость пациентов после трансплантации сердца в течение года соответствовала результатам регистра Международного общества трансплантации сердца и легких (The international society for heart and lung transplantation, 74,9–86,8%) и составила 26 пациентов – 81,3%.

Через год после трансплантации сердца проводилась оценка тяжести сердечной недостаточности при помощи теста 6-минутной ходьбы. СН I ФК (NYHA) имели 20 человек (76,9%), СН II ФК (NYHA) – три человека (11,5%), и три пациента (11,5%) не имели сердечной недостаточности (расстояние за 6 минут – более 551 метра).

Отметим, что лист ожидания не отражает реального количества больных с ХСН, нуждающихся в трансплантации сердца, в связи с чем необходимо подчеркнуть важность и актуальность работы с кардиологами области для направления больных с ХСН в областную поликлинику с целью выявления среди них нуждающихся в трансплантации сердца. Одновременно следует активизировать оперативную активность с целью увеличения числа трансплантаций сердца нуждающимся в них больным.

ВЫВОДЫ

Анализ трансплантационных технологий свидетельствует об эффективности клинических результатов и значительных практических возможностях СОКБ № 1 Свердловской области в трансплантации донорских органов: почки, печени, сердца.

Потребность в трансплантологических операциях жителей Свердловской области, страдающих хроническими заболеваниями почки, печени, сердца в терминальной стадии, до сих пор намного превышает имеющиеся возможности в связи с недостатком донорских органов. Оптимальный путь устранения данной диспропорции – оптимизация работы по донорству стационаров области, развитие взаимодействия с другими территориями.

Наибольшая клиническая и экономическая эффективность внедрения трансплантационных технологий как метода лечения достигнута в СОКБ

№ 1 при лечении терминальной почечной недостаточности: снижение послеоперационных осложнений, увеличение продолжительности жизни после операции, улучшение качества жизни.

Развитие технологии ортотопической трансплантации печени на базе гепатологического центра СОКБ № 1 значительно увеличило шансы на выживание больных циррозом печени, в то же время поставило задачи совершенствования ведения пациентов, находящихся в листе ожидания, с целью уменьшения осложнений, препятствующих проведению операции.

Трансплантация сердца пациентам, страдающим терминальной сердечной недостаточностью, является высокотехнологичным методом медицинской помощи этой категории больных. Перспективными являются разработка и внедрение неинвазивных методов ранней диагностики отторжения сердечного трансплантата.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Гомье СВ. Клиническая трансплантология как самостоятельное направление медицины. *Медицинский альманах*. 2008; 5: 14–19. Gautier SV. Klinicheskaja transplantologija kak samostojatel'noe napravlenie mediciny. *Medicinskij al'manah*. 2008; 5: 14–19.
2. Климушева НФ, Баранская ЛТ, Шмакова ТВ. Психологические факторы развития трансплантологии. *Медицинская психология в России*: электрон. науч. журн. 2014; 4 (27) [Электронный ресурс]. – URL: <http://mprj.ru>. Klimusheva NF, Baranskaja LT, Shmakova TV. Psihologicheskie faktory razvitiya transplantologii. *Medicinskaja psihologija v Rossii*: jelektron. nauch. zhurn. 2014; 4 (27) [Jelektronnyj resurs]. – URL: <http://mprj.ru>.
3. Salmon P, Stanford C, Mikahil G et al. Hemodynamic and emotional responses to a psychological stressor after cardiac transplantation. *Psychosom. Med.* 2002; 63: 289–299.
4. Полежаева ТВ. Особенности психологического консультирования в отделении трансплантации костного мозга / ТВ Полежаева, МВ Власова. *Журнал практической психологии и психоанализа*. 2012; 3. Polezhaeva TV. Osobennosti psihologicheskogo konsul'tirovanija v otdelenii transplantacii kostnogo mozga / TV Polezhaeva, MV Vlasova. *Zhurnal prakticheskoj psihologii i psihoanaliza*. 2012; 3.
5. Gordon EJ, Ladner DP, Caicedo JC, Franklin J. Disparities in kidney transplant outcomes: A review. *Semin. Nephrology*. 2010; 30: 81–89.
6. Engle D. Psychosocial aspects of the organ transplant experience: what has been established and what we need for the future. *J. Clin. Psychol.* 2001; 57 (4): 521–549.
7. Wojtasiak E. How patients with end-stage renal disease manage their condition // *Annals Academia Medical Bialstocensis*. 2005; 50 (Suppl. 1): 129–132.

Статья поступила в редакцию 25.01.2016 г.
The article was submitted to the journal on 25.01.2016

DOI: 10.15825/1995-1191-2016-1-17-21

ЭМБОЛИЗАЦИЯ СЕЛЕЗЕНОЧНОЙ АРТЕРИИ У ПАЦИЕНТОВ, ПЕРЕНЕСШИХ ОРТОТОПИЧЕСКУЮ ТРАНСПЛАНТАЦИЮ ПЕЧЕНИ

Д.А. Гранов, П.Г. Таразов, А.А. Поликарпов, В.В. Боровик, И.О. Руткин,
И.И. Тилеубергенов

ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий» Минздрава РФ,
Санкт-Петербург, Российская Федерация

Цель: анализ результатов эмболизации селезеночной артерии у пяти пациентов после ортотопической трансплантации печени. **Материалы и методы.** Эмболизация селезеночной артерии выполнялась 6 раз пятерым (3,2%) пациентам из 158, перенесших ортотопическую трансплантацию печени, в сроки от 2 мес. до 10 лет после операции. Показаниями к эмболизации в 3 случаях послужили проявления синдрома гиперспленизма, в других 3 – синдром обкрадывания селезеночной артерией. **Результаты.** Из 3 случаев эмболизации селезеночной артерии, выполненной в связи с проявлениями гиперспленизма, в 2 – рецидив заболевания, в 1 – инфаркт селезенки. Во всех этих случаях потребовалась спленэктомия. В 3 случаях, когда эмболизация выполнялась в связи с проявлением синдрома обкрадывания селезеночной артерией, достигнута ремиссия, спленэктомия не потребовалась. **Заключение.** Эмболизация селезеночной артерии может рассматриваться как способ лечения больных с проявлением синдромов обкрадывания и гиперспленизма в посттрансплантационном периоде, при этом наиболее выраженный эффект достигается у пациентов с преобладанием явлений синдрома обкрадывания.

Ключевые слова: ортотопическая трансплантация печени, эмболизация селезеночной артерии, синдром обкрадывания селезеночной артерией, синдром гиперспленизма.

SPLENIC ARTERY EMBOLIZATION IN PATIENTS UNDERGOING ORTHOTOPIC LIVER TRANSPLANTATION

D.A. Granov, P.G. Tarazov, A.A. Polikarpov, V.V. Borovik, I.O. Rutkin, I.I. Tileubergenov

Russian Federal Research Center for Radiology and Surgical Technologies
of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation

Aim: to analyze the results of embolization of the splenic artery in five patients after orthotopic liver transplantation. **Materials and methods.** Embolization of the splenic artery was performed 6 times in five (3.2%) of 158 patients who underwent orthotopic liver transplantation in terms from 2 months up to 10 years after surgery. The indications for embolization in 3 cases were the manifestations of hypersplenism syndrome, in 3 others – splenic artery steal syndrome. **Results.** In 3 cases of splenic artery embolization, performed in connection with the manifestations of hypersplenism: 2 – recurrent disease, 1 – splenic infarction. In all these cases a splenectomy was required. In 3 cases when embolization was performed in connection with the display of the splenic artery steal syndrome remission was achieved, splenectomy was not required. **Conclusion.** Splenic artery embolization can be considered as a method of treating patients with manifestations of steal syndrome and hypersplenism after orthotopic liver transplantation. The most pronounced effect was achieved in patients with a predominance of manifestations of steal syndrome.

Key words: orthotopic liver transplantation, embolization of the splenic artery, splenic artery steal syndrome, syndrome of hypersplenism.

Выявление и прогрессирование синдрома обкрадывания селезеночной артерией (splenic artery steal syndrome, SASS), синдрома гиперспленизма в пост-

операционном периоде у пациентов после ортотопической трансплантации печени (ОТП) является показанием к спленэктомии, выполнение которой у

Для корреспонденции: Гранов Дмитрий Анатольевич. Адрес: 197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 70. Телефон: 8 (812) 439-66-69. E-mail: dmitriigranov@gmail.com.

For correspondence: Granov Dmitrii Anatolyevich. Address: 70, Leningradskaya st., p. Pesochny, St. Petersburg, 197758, Russia. Tel. 8 (812) 439-66-69. E-mail: dmitriigranov@gmail.com.

этой группы больных может приводить к серьезным осложнениям, таким как сепсис, коагуляционные расстройства, иммунологические нарушения [1–3].

Эффективной альтернативой спленэктомии может являться эмболизация селезеночной артерии (ЭСА) [4–6]. Результаты ЭСА при различных показаниях хорошо изучены [7–9], однако данные об ее эффективности у пациентов, перенесших ОТП, недостаточны и требуют дальнейшего изучения [10, 11].

ЦЕЛЬ

Цель настоящего исследования – анализ результатов ЭСА у пяти пациентов после ОТП.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В период с 1998-го по 2015 г. в РНЦРХТ выполнено 158 операций ОТП. У пятерых (3,2%) пациен-

тов (трое мужчин и две женщины) в сроки от 2 мес. до 10 лет после ОТП были установлены показания к выполнению ЭСА (табл. 1). В двух наблюдениях поводом к эмболизации послужил SASS, как причина ишемии трансплантата в сочетании с проявлениями синдрома гиперспленизма; еще в двух – нарастающие явления гиперспленизма; в одном случае эмболизация выполнялась дважды: через 2 мес. после ОТП в связи с синдромом обкрадывания и через 82 мес. вследствие гиперспленизма. Диагноз устанавливали на основании клинических и лабораторных данных, для оценки кровотоков использовали ультразвуковую доплерфлоуметрию и диагностическую ангиографию.

ЭСА выполняли следующим образом: после чрескожного доступа через бедренную артерию осуществляли диагностическую висцеральную ангиографию, включая артериографию селезенки (рис. 1, а, б).

Таблица 1

Показания и результаты эмболизации селезеночной артерии у больных, перенесших ОТП
Indications and results of splenic artery embolization in patients after orthotopic liver transplantation

№	Возраст, лет	Пол	Показания	Время после ОТП, месяцев	Наблюдение, месяцев	Осложнения	Результат
1	32	ж	Гиперспленизм	125	1	Инфаркт селезенки	Спленэктомия
2	31	м	Гиперспленизм	7	12	Рецидив	Спленэктомия
3	53	м	Синдром обкрадывания, гиперспленизм	24	4	Боли, лихорадка	Ремиссия
4а	23	ж	Синдром обкрадывания	2	82	Боли, лихорадка	Ремиссия
4б	30	ж	Печеночная недостаточность, синдром обкрадывания	82	2	Рецидив	Спленэктомия
5	43	м	Синдром обкрадывания	4	5	Боли, лихорадка	Ремиссия

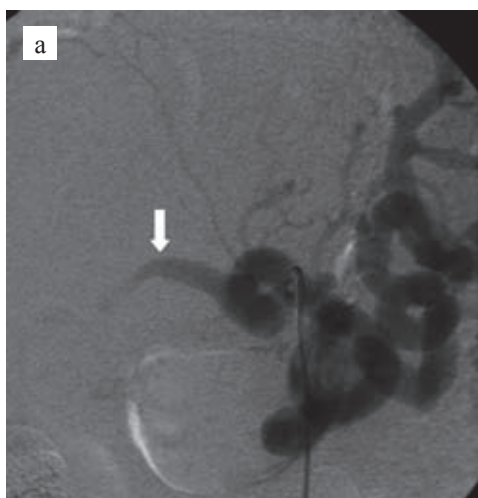


Рис. 1, а. Целиакография больного К., 23 г.: отсутствие контрастирования печеночных артерий при целиакографии вследствие синдрома обкрадывания

Fig. 1, a. Celiacography of patient K., 23 y.: no contrasting of hepatic artery during coeliacography due to steal syndrome

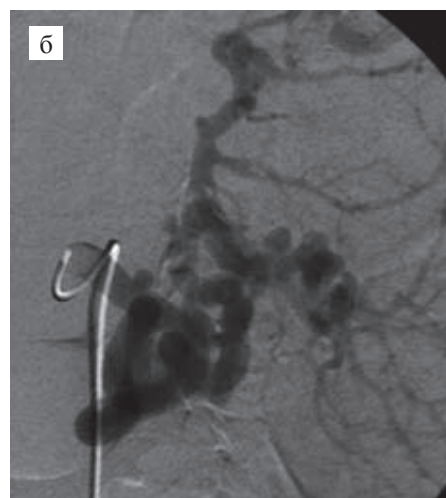


Рис. 1, б. Артериография селезенки больного К., 23 г.: расширение селезеночной артерии

Fig. 1, б. Arteriography of the spleen of patient K., 23 y.: dilatation of splenic artery

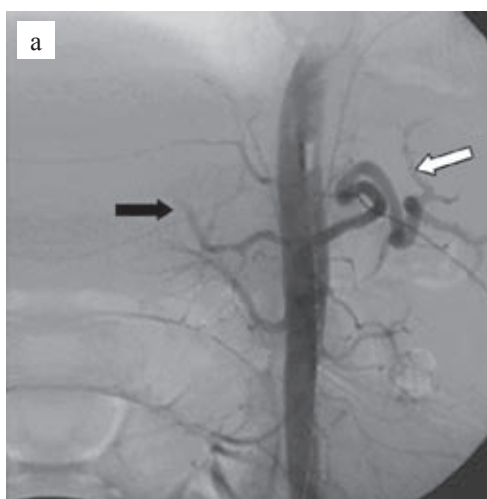


Рис. 2, а. Синдром обкрадывания селезеночной артерией

Fig. 2, a. Splenic artery steal syndrome

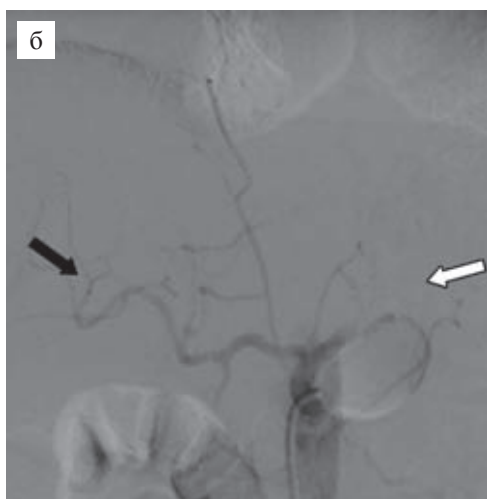


Рис. 2, б. Редукция кровотока по селезеночной артерии; усиление кровотока по печеночной артерии

Fig. 2, б. Reduced blood flow in splenic artery; increasing of hepatic artery blood flow

Используя микрокатетер, выполняли эмболизацию мини-спиралями и при необходимости желатиновой губкой в средней трети ствола селезеночной артерии. Операцию завершали выполнением целиакографии для визуализации изменений регионального кровотока (рис. 2, а, б). Кровоснабжение селезенки сохранялось за счет коротких желудочных, желудочно-сальниковых и панкреатических коллатералей, через ветви и дистальную часть ствола селезеночной артерии.

На рис. 2 представлены ангиограммы больного Л., 53 г., до и после ЭСА: редуцированный кровоток по печеночной артерии (рис. 2, а, черная стрелка) и усиление артериального притока к печени после эмболизации (рис. 2, б, черная стрелка); расширенная

селезеночная артерия, увеличенная скорость кровотока по ней (рис. 2, а, белая стрелка) и редукция кровотока по селезеночной артерии после эмболизации (рис. 2, б, белая стрелка).

У всех пациентов для предупреждения постэмболизационных осложнений использовали наркотические анальгетики и антибактериальные препараты. Проводили ежедневный мониторинг гематологических показателей: уровень лейкоцитов, тромбоцитов, международного нормализованного отношения (МНО), трансаминаз. Доплерографию и спиральную компьютерную томографию (СКТ) выполняли для оценки изменений регионарной гемодинамики и исключения развития осложнений (инфаркт и разрыв селезенки, абсцедирование).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В первом случае пациентка обратилась в клинику через 125 мес. после ОТП с жалобами на ухудшение самочувствия, слабость, увеличение живота, боли в верхних отделах и левой половине. По клиничко-лабораторным данным (доплерография, СКТ брюшной полости) выявлена спленомегалия, гиперспленизм, в анализах крови – лейкопения, тромбоцитопения (табл. 2). При диагностической целиакографии – усиленный кровоток по селезеночной артерии, выполнена ее эмболизация. В постэмболизационном периоде, несмотря на положительную динамику (нормализация уровня тромбоцитов и лейкоцитов, у пациентки через 1 мес. после ЭСА на фоне ишемии – признаки инфаркта селезенки, угроза развития сепсиса. В экстренном порядке выполнена спленэктомия.

Во втором случае пациент госпитализирован через 7 мес. после ОТП в связи с прогрессирующими проявлениями гиперспленизма, выраженной спленомегалией. При ангиографии также выявлено обкрадывание селезеночной артерией, выполнена ее эмболизация. Несмотря на успешно выполненную операцию, через 12 месяцев отмечена реканализация селезеночной артерии, рецидив симптомов. После повторной безрезультатной попытки эмболизации выполнена спленэктомия.

У третьего больного ЭСА выполнена в связи с развившимся SASS через 24 мес. после ОТП (рост трансаминаз, МНО 1% и менее, высокая скорость кровотока по селезеночной артерии и низкая по печеночной, по данным доплерографии). В послеоперационном периоде – умеренно выраженный постэмболизационный синдром. При наблюдении через 4 месяца после эмболизации, по клиничко-лабораторным данным, ремиссия (нормализация кровотока по печеночной артерии при доплерографии, уровней трансаминаз, МНО).

У четвертой пациентки выполнена парциальная ЭСА через 2 мес. после ОТП в связи с синдромом

Таблица 2

Динамика количества лейкоцитов и тромбоцитов до и в разные сроки после эмболизации селезеночной артерии (1, 7, 14 и 28-е сутки)

Changing of numbers of white blood cells and platelet counts before and after splenic artery embolization (1, 7, 14 and 28 day of follow-up)

№	Лейкоциты, 10 ⁹ /л					Тромбоциты, 10 ⁹ /л				
	до	1-е сут	7-е сут	14-е сут	28-е сут	до	1-е сут	7-е сут	14-е сут	28-е сут
1	2,7	–	4,7	10,8	11,6*	45	–	102	168	575*
2	10,8	8,2	6,3	7,2	6,8	44	55	48	62	74
3	2,7	2,9	3,4	3,3	3,7	95	111	129	139	145
4а	3,4	11,2	13,6	9,4	7,5	38	41	65	78	91
4б	6,2	5,1	4,9	4,4	4,2	118	120	125	111	113
5	4,4	7,6	14,7	9,1	5,6	131	158	170	203	190

Примечание. * – после спленэктомии.

Таблица 3

Динамика МНО и уровня трансаминаз до и в разные сроки после эмболизации селезеночной артерии (1, 7, 14 и 28-е сутки)

Changing in international normalized ratio and transaminase levels before and after splenic artery embolization (1, 7, 14 and 28 day of follow-up)

№	МНО, %					АЛТ/АСТ, ед./л				
	до	1-е сут	7-е сут	14-е сут	28-е сут	до	1-е сут	7-е сут	14-е сут	28-е сут
1	1,4	1,3	1,3	1,3	1,1*	10/16	7/11	6/12	7/14	18/22*
2	1,1	1,0	1,0	1,1	1,2	43/16	41/17	40/18	42/20	41/20
3	1,0	1,0	1,2	1,4	1,3	86/95	76/91	36/70	38/87	34/65
4а	1,0	1,0	1,1	1,1	1,3	111/93	96/91	74/68	51/59	43/48
4б	1,0	1,0	1,1	1,1	1,1	59/60	73/68	44/60	71/97	68/75
5	0,8	0,9	0,9	0,9	1,0	278/111	176/115	155/117	118/57	88/46

Примечание. * – после спленэктомии.

обкрадывания, достигнута стойкая ремиссия. Через 82 мес. после ОТП – для усиления артериального притока к печени в связи с прогрессированием цирроза печени, явлениями гиперспленизма, портальной гипертензией вследствие массивного сброса крови по селезеночной артерии. Через два месяца после эмболизации из-за отсутствия эффекта выполнена спленэктомия.

В пятом случае у пациента через 4 мес. после ОТП при плановом обследовании выявлен синдром обкрадывания (признаки ишемии трансплантата, данные доплерографии) на фоне умеренно выраженных проявлений гиперспленизма (тромбоцитопения). Выполнена ЭСА, через 5 мес. после процедуры – ремиссия.

Динамика изменений лабораторных показателей до и в разные сроки после эмболизации отражена в табл. 2 и 3. Признаки ишемии трансплантата как проявление синдрома обкрадывания – повышение уровня трансаминаз, низкий уровень МНО – наблюдались в случаях 3, 4а и 5. Проявления синдрома гиперспленизма (лейкопения, тромбоцитопения) в большей или меньшей степени были выявлены во всех случаях.

ОБСУЖДЕНИЕ

Выполнение спленэктомии пациентам, перенесшим ОТП, при проявлении гиперспленизма или SASS помимо рисков, связанных непосредственно с оперативным вмешательством, может приводить к таким серьезным осложнениям, как сепсис, коагуляционные расстройства (тромбозы и тромбоэмболии, в т. ч. сосудистых конструкций, выполненных во время ОТП), иммунологические нарушения [1–3]. ЭСА является альтернативой спленэктомии, по данным разных авторов выполняется у 1–3% пациентов, может выступать в качестве первого этапа лечения и при достижении клинического эффекта позволяет избежать необходимости спленэктомии [3, 4, 6]. Наиболее часто ЭСА сопровождается болями в левой половине живота и лихорадкой (пост-эмболизационный синдром) [3, 12]. В нашей серии эти симптомы в разной степени присутствовали у всех пациентов, что требовало проведения антибиотикопрофилактики, назначения анальгетиков, в т. ч. наркотических. Более серьезные осложнения, такие как абсцессы и разрывы селезенки, сепсис, тромбоз селезеночной и воротной вен, встречаются значительно реже [7, 12]. Инфаркт селезенки и уг-

роза сепсиса развились у одной нашей пациентки, что привело к необходимости выполнения срочной спленэктомии.

Мы располагаем опытом шести эмболизаций у пяти пациентов в разные сроки после ОТП. Проявления синдрома гиперспленизма в большей или меньшей степени встречались во всех случаях, в трех из них – в сочетании с SASS. ЭСА в этих случаях оказалась эффективной: явления ишемии трансплантата были купированы, достигнута ремиссия, удалось избежать выполнения спленэктомии. В остальных трех наблюдениях у пациентов с преобладанием явлений гиперспленизма эмболизация была малоэффективной.

Таким образом, в половине случаев (3 из 6) удалось избежать рисков, сопряженных со спленэктомией у пациентов, перенесших ОТП, достигнуть улучшения лабораторных показателей и субъективного самочувствия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ЭСА может рассматриваться как способ лечения пациентов с проявлением синдромов обкрадывания и гиперспленизма в посттрансплантационном периоде, при этом наиболее выраженный эффект достигается у больных с преобладанием явлений синдрома обкрадывания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Altaca G, Scigliano E, Guy SR, Sheiner P A, Reich DJ, Schwartz ME et al. Persistent hypersplenism early after liver transplant: the role of splenectomy. *Transplantation*. 1997 Nov; 64 (10): 1481–1483.
2. Neumann UP, Langrehr JM, Kaisers U, Lang M, Schmitz V, Neuhaus P. Simultaneous splenectomy increases risk for opportunistic pneumonia in patients after liver transplantation. *Transplant International*. 2002 May; 15 (5): 226–232.
3. Lüsebrink R, Blumhardt G, Lohmann R, Bachmann S, Knoop M, Lemmens HP. Does concomitant splenectomy raise the mortality of liver transplant recipients? *Transplant International*. 1994 Dec; 7 (S1): 634–636.
4. Palsson B, Hallen M, Forsberg AM, Alwmark A. Partial splenic embolization: long-term outcome. *Langenbecks Arch Surg*. 2003 Feb; 387 (11–12): 421–426.
5. Alvarez D, Gerona S, Waisburg Z, Ciardullo M, de Santibanes E, Mastai R. Splanchnic hyperemia after liver transplantation in patients with end-stage liver disease. *Liver Transpl Surg*. 1998; 4: 300–303.
6. Руткин ИО, Таразов ПГ, Гранов ДА, Осовских ВВ, Генералов МИ, Жеребцов ФК и др. Возможности эмболизации селезеночной артерии в лечении «синдрома обкрадывания» после ортотопической трансплантации печени. *Трансплантология*. 2010 Май; 1: 26–30. Rutkin IO, Tarazov PG, Granov DA, Osovskikh VV, Generalov MI, Zherebtsov FK et al. Capabilities of splenic artery embolization in the treatment of steal syndrome after orthotopic liver transplantation. *Transplantation*. 2010 May; 1: 26–30.
7. N'Kontchou G, Seror O, Bourcier V et al. Partial splenic embolization in patients with cirrhosis: efficacy, tolerance and long-term outcome in 32 patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2005 Feb; 17 (2): 179–184.
8. Murata K, Shiraki K, Takase K et al. Long term follow-up for patients with liver cirrhosis after partial splenic embolization. *Hepatogastroenterology*. 1996 Sep-Oct; 43 (11): 1212–1217.
9. Ohmoto K, Iguchi Y, Miyake I et al. Long-term evaluation of partial splenic embolization for liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma accompanied by hypersplenism. *Hepatology Research*. 1998 Jun; 11 (2): 73–83.
10. Herrero JJ, Sangro B, Quiroga J et al. Partial splenic embolization in the treatment of thrombocytopenia after liver transplantation. *Transplantation*. 1997 Feb; 63 (3): 482–484.
11. Sockrider CS, Boykin KN, Green J et al. Partial splenic embolization for hypersplenism before and after liver transplantation. *Clin Transplant*. 2002; 16 (7): 59–61.
12. Sakai T, Shiraki K, Inoue H et al. Complications of partial splenic embolization in cirrhotic patients. *Dig Dis Sci*. 2002 Feb; 47 (2): 388–391.

Статья поступила в редакцию 12.11.2015 г.
The article was submitted to the journal on 12.11.2015

DOI: 10.15825/1995-1191-2016-1-22-31

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ К СОЗДАНИЮ ПРОЛОНГИРОВАННОЙ ФОРМЫ АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ

В.И. Севастьянов¹, В.К. Попов², В.Ю. Белов³, С.В. Курсаков³, Е.Н. Антонов²,
С.Э. Богородский²

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

² ФГБУН «Институт проблем лазерных и информационных технологий РАН», Москва, Российская Федерация

³ АНО «Институт медико-биологических исследований и технологий», Москва, Российская Федерация

Цель. Разработка инкапсулированной в полимерные высокопористые микроносители пролонгированной формы ацетилсалициловой кислоты (АСК) с использованием сверхкритического диоксида углерода и последующим изучением методом ВЭЖХ кинетики высвобождения АСК *in vitro* и *in vivo*. **Материалы и методы.** В качестве полимерных носителей для инкапсуляции АСК были выбраны аморфные D,L-полилактиды (ПЛ) и полилактогликолиды (ПЛГ) марок PURASORB PDL02 и PDLG7502 («PURAC Biochem bv», Нидерланды). Инкапсуляцию АСК проводили с использованием процесса сверхкритического флюидного формирования методом PGSS (Particles from Gas Saturated Solutions) мелкодисперсных (20–50 мкм) биорезорбируемых порошков алифатических полиэфиров, содержащих 10 масс.% АСК. Кинетику высвобождения АСК из полимерных микрочастиц в физиологический раствор и фармакокинетические исследования *in vivo* (кролики) регистрировали методом ВЭЖХ. **Результаты.** Разработана методика количественного определения АСК и ее основного метаболита салициловой кислоты (СК) в модельном растворе и плазме крови методом ВЭЖХ с УФ-детектированием с улучшенной пробоподготовкой и селективностью. Аналитический диапазон методики без учета разбавления составил 0,05–5,0 мкг/мл для модельного раствора и 0,2–10,0 мкг/мл для плазмы крови; степень извлечения АСК СК из плазмы крови – 95,8 и 98,1% соответственно. Показано, что количество АСК, высвободившегося из ПЛ в течение первых 4 ч, примерно на 25% превышает массу АСК, выделившегося из ПЛГ, что может служить обоснованием выбора ПЛГ в качестве носителя для создания пролонгированной формы АСК. Фармакокинетические исследования (кролики, n = 3) показали постепенное высвобождение АСК из микрочастиц ПЛГ в течение 24 ч после внутримышечной имплантации инкапсулированной формы АСК в дозе 10 мг/кг. **Заключение.** Полученные методом PGSS экспериментальные образцы высокопористых мелкодисперсных порошков ПЛГ, содержащие до 10 масс.% АСК, могут служить исходными прототипами для разработки и создания на их основе пролонгированной формы АСК.

Ключевые слова: высокопористые полимерные микрочастицы, полиэфиры, инкапсуляция, ацетилсалициловая кислота, сверхкритический диоксид, кинетика высвобождения, плазма крови, ВЭЖХ.

Для корреспонденции: Севастьянов Виктор Иванович. Адрес: 123182, г. Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (499) 196-88-74. E-mail: viksev@yandex.ru.

For correspondence: Sevastianov Victor Ivanovich. Address: 1, Schukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Tel. (499) 196-88-74. E-mail: viksev@yandex.ru.

CREATING A PROLONGED FORM OF ACETYLSALICYLIC ACID: AN EXPERIMENTAL APPROACH

V.I. Sevastianov¹, V.K. Popov², V.Yu. Belov³, S.V. Kursakov³, E.N. Antonov², S.E. Bogorodsky²

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 Institute of Laser and Information Technologies of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

³ Institute of Biomedical Research and Technology (ANO), Moscow, Russian Federation

Aim. The development of a prolonged form of acetylsalicylic acid (ASA) encapsulated into polymeric highly porous microcarriers using supercritical carbon dioxide and the subsequent study of ASA release kinetics *in vitro* and *in vivo* using high-performance liquid chromatographic (HPLC). **Materials and methods.** As polymeric carriers for ASA encapsulation amorphous D,L-poly(lactides) (PLA) and poly(lactoglycolides) (PLGA) of PURASORB PDL02 and PDLG7502 series (PURAC Biochem BV, Netherlands) were selected. The ASA encapsulation was performed using the PGSS (Particles from Gas Saturated Solutions) method of supercritical fluid formation of microfine (20–50 µm) bioresorbable powders of aliphatic polyethers containing 10 wt.% ASA. The release kinetics of ASA from polymeric microparticles into saline solution as well as pharmacokinetic studies *in vivo* (rabbits) were registered by HPLC. **Results.** A method of quantitative determination of ASA and its main metabolite salicylic acid (SA) in model solution and blood plasma by HPLC-UV detection with enhanced sample preparation and selectivity was developed. The method's analytical range without accounting for dilution was 0.05–5.0 µg/ml for model solution and 0.2–10.0 µg/ml for blood plasma; the degree of extraction of ASA SA from blood plasma – 95.8 and 98.1%, respectively. It was demonstrated that the amount of ASA released from PLA during the first 4 h exceeds the mass of ASA released from PLGA by approximately 25% which may serve as a justification for the selection of PLGA as a carrier for the creation of a prolonged form of ASA. Pharmacokinetic studies (rabbits, n = 3) demonstrated a gradual release of ASA from PLGA microparticles during 24 h after intramuscular implantation of encapsulated form of ASA at the dose of 10 mg/kg. **Conclusion.** Test samples of highly porous microfine powders of PLGA obtained by PGSS containing up to 10 wt.% ASA may serve as source prototypes for the development and creation on their basis of a prolonged form of ASA.

Key words: highly porous polymeric microparticles, polyethers, encapsulation, acetylsalicylic acid, supercritical dioxide, release kinetics, blood plasma, HPLC.

ВВЕДЕНИЕ

Фармакологические препараты на основе ацетилсалициловой кислоты (АСК) обладают противовоспалительным, жаропонижающим и анальгетическим действием [1]. Способность АСК оказывать антиагрегационное действие, ингибировать спонтанную и индуцированную агрегацию тромбоцитов предопределило ее широкое использование как для профилактики острого коронарного синдрома и ишемического инсульта, так и после операций с использованием аппаратов искусственного и вспомогательного кровообращения [2–4]. Однако пероральное введение АСК вызывает местное раздражение слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта и при длительном приеме может привести к развитию язв желудка и двенадцатиперстной кишки [5]. Кроме того, при пероральном приеме ацетилсалициловая кислота быстро подвергается гидролизу с образованием фармакологически активного метаболита – салициловой кислоты (СК). Период полувыведения СК из организма составляет от 3 до 9 часов и удлиняется при увеличении дозы препарата [6]. В ограниченных количествах салици-

ловая кислота связывается с белками крови, но при длительном применении АСК в больших дозах она частично находится в свободном состоянии и может послужить причиной интоксикации организма.

В связи с этим в последнее время большое внимание уделяется совершенствованию уже существующих препаратов на основе АСК, а также созданию ее новых лекарственных форм пролонгированного действия [7–10]. К таким лекарственным средствам можно отнести трансдермальные терапевтические системы [10], а также инъекционные или имплантируемые формы, представляющие собой лекарственные субстанции (ЛС), инкапсулированные или диспергированные в биосовместимые резорбируемые или биостабильные полимерные носители в виде монолитов, губок и микрочастиц [8, 10].

К числу наиболее перспективных способов инкапсуляции ЛС относятся технологии, основанные на применении сверхкритического диоксида углерода (ск-СО₂) в качестве экологически чистого растворителя ЛС, легко пластифицирующего аморфные и частично-кристаллические полимеры [10–12]. Это позволяет избежать необходимости

использования токсичных органических растворителей (ацетон, хлороформ и др.) и высоких (более 100 °C) температур для формирования полимерных микрочастиц различной дисперсности [13]. Кроме того, sc-CO_2 может достаточно эффективно удалять растворимые в нем токсичные примеси (непрореагировавшие мономеры и низкомолекулярные олигомеры, инициаторы полимеризации, пластификаторы и т. д.), что также способствует повышению биологической безопасности получаемых лекарственных форм [14].

При создании новых лекарственных средств необходим надежный мониторинг концентрации ЛС и его метаболитов в модельных и биологических средах. Выбор того или иного метода анализа зачастую является компромиссом между скоростью и простотой пробоподготовки и требуемой селективностью и чувствительностью определения. На данный момент не существует надежного унифицированного метода количественного определения ацетилсалициловой кислоты и ее основного метаболита – салициловой кислоты (СК) в различных объектах.

Основными проблемами при подготовке проб и определении АСК и продуктов его метаболизма является нестабильность АСК, низкая молекулярная масса и высокая полярность определяемых веществ. Для предотвращения гидролиза АСК в образцы добавляют неспецифические ингибиторы холинэстеразы, например, фторид калия [15], снижают pH и температуру проб [16, 17]. Для подготовки проб образцов, содержащих АСК, используют методы осаждения белков [16, 17], жидкостной [18, 19] и твердофазной экстракции [20], а также сочетание этих методов.

Методы количественного определения АСК и СК сводятся в большинстве случаев к ВЭЖХ-детектированию в УФ-области спектра [17, 18]. Однако их отличает низкая степень извлечения определяемых веществ и недостаточная селективность.

Цель настоящей работы состоит в разработке инкапсулированной в полимерные высокопористые микроносители пролонгированной формы АСК с использованием сверхкритического диоксида углерода и последующим изучением методом ВЭЖХ кинетики высвобождения АСК и СК *in vitro* и *in vivo*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Реактивы

В работе использовали субстанции следующих веществ: ацетилсалициловая кислота («Шандонг Ксинхуа Фармасьютикал Ко. Лтд», Китай); салициловая кислота («Шандонг Ксинхуа Фармасьютикал Ко. Лтд», Китай). Для подготовки и анализа проб

применяли ацетонитрил (для ВЭЖХ), фосфорную кислоту (х. ч.), соляную кислоту (х. ч.), натрия сульфат (х. ч.), натрия хлорид (х. ч.), воду (для хроматографии).

Исходные стандартные растворы АСК и СК готовили растворением навесок субстанций в воде (pH 2,5, регулировали конц. H_3PO_4); рабочие стандартные растворы получали разведением исходных стандартных растворов водой (pH 2,5).

Модельный раствор готовили путем растворения натрия хлорида в воде до получения концентрации 0,9% (масс.). Модельный и стандартные растворы хранили в фармацевтическом холодильнике Pozis XF-400 (Россия) при температуре от 2 до 8 °C.

Образцы плазмы крови кроликов хранили в биомедицинском морозильнике Sanyo MDF-U5412 (Япония) при температуре от –34 до –38 °C. Перед подготовкой образцы размораживали при комнатной температуре.

На основе анализа данных литературы и результатов собственных исследований [13, 21, 22] в качестве наиболее подходящих полимерных кандидатов для инкапсуляции АСК были выбраны аморфные D,L-полилактиды (ПЛИ) и полилактогликолиды (ПЛИГ) (приведенная вязкость 0,2 dl/g) марок PURASORB PDL02 и PDLG7502 («PURAC Biochem bv», Нидерланды). Температуры стеклования этих полимеров лежат в диапазоне 55–60 °C.

Лабораторные животные

В качестве экспериментальных животных использовали кроликов породы «советская шиншилла» массой тела около 2500 г. Животные были получены из питомника ФГУП ОПХ «Манихино». Количество животных было достаточным для формирования репрезентативных экспериментальных групп и последующей статистической обработки полученных результатов. Была также предусмотрена возможность замены и исключения животных из эксперимента в результате форс-мажорных обстоятельств.

Все манипуляции с животными проводили согласно правилам, принятым Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследований и других научных целей (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123), Strasbourg, 1986).

Инкапсуляция АСК

Для проведения исследований процессов формирования порошков алифатических полиэфиров, содержащих АСК в различных концентрациях, использовали разработанную в ИПЛИТ РАН установ-

ку [23] для получения полимерных частиц методом PGSS (Particles from Gas Saturated Solutions). СКФ-инкапсуляцию АСК в полиэфирные микрочастицы методом PGSS, основанного на явлении пластификации (снижения вязкости) полимеров в результате их взаимодействия с ск-СО_2 [11], проводили по следующему алгоритму. Измельченную субстанцию АСК, предварительно перемешанную с измельченным порошком ПЛ или ПЛГ (средний размер частиц 40–80 мкм), загружали в камеру высокого давления объемом 75 см³. Температуру камеры поддерживали в диапазоне 40–50 °С, а температура сопел составляла 70–80 °С. Давление ск-СО_2 варьировалось в диапазоне от 10 до 20 МПа. Содержимое автоклава тщательно перемешивали с помощью магнитного смесителя (150 об/мин). Систему выдерживали в этих условиях в течение 120 минут. За это время происходила полная пластификация полимера и его тщательное перемешивание с АСК. После этого производился импульсно-периодический сброс полученной смеси и диоксида углерода через сопло в приемную камеру атмосферного давления. В экспериментах использовался диоксид углерода (ОСЧ, ГОСТ 8050-85) производства Балашихинского кислородного завода (г. Балашиха, Московская обл.) без какой-либо дополнительной очистки.

После выдержки полученного продукта в атмосферных условиях в течение 3 часов (необходимой для полного удаления СО_2 из частиц полимера и их окончательного затвердевания) проводилось его фракционирование по размерам частиц с помощью калиброванных сит (размер ячеек 200, 160, 100 и 50 мкм) с целью получения полимерных микрочастиц определенной дисперсности, пригодной для создания на их основе компонентов для инъекционных форм АСК пролонгированного действия. Затем частицы помещали в герметичные пластиковые пробирки и хранили при температуре –18 °С до их дальнейшего анализа. Получение контрольных образцов полимерных частиц, не содержащих субстанции АСК, осуществляли в аналогичных условиях.

Морфология поверхности и внутренняя структура мелкодисперсных порошков алифатических полиэфиров и полученных образцов биоактивных полимерных микроносителей исследовалась методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) на микроскопе LEO 1450 (Карл Цейс, Германия).

Исследование кинетики высвобождения АСК и СК из биосовместимых полимерных носителей в модельный раствор и плазму крови проводили на образцах в виде высокопористых мелкодисперсных (характерный размер частиц 20–50 мкм) порошков D,L-полилактида и полилактогликолида, содержащих 10% (масс.) АСК.

Пробоподготовка

Для пробоподготовки применяли мульти-вортекс V32 (Латвия), лабораторную центрифугу MPW-250 (Польша), встряхиватель ЛАБ-ПУ-01 (Россия), лабораторные аналитические весы Vibra-AF-R220CE (Япония), дозаторы переменного объема 0,5–10, 5–50, 20–200 и 100–1000 мкл (Россия).

Плазму крови объемом 500 мкл вносили в микроцентрифужную пробирку вместимостью 2 мл, прибавляли 500 мкл ацетонитрила и 500 мг безводного сульфата натрия. Смесь перемешивали на мульти-вортексе в течение 2 мин и центрифугировали при 13 000 об/мин в течение 10 мин. 400 мкл надосадочной жидкости переносили в виалу для ВЭЖХ.

Модельный раствор перед хроматографированием фильтровали через нейлоновый фильтр с размером пор 0,45 мкм.

Хроматографирование

Количественное определение АСК и ее основного метаболита СК проводили на жидкостном хроматографе Agilent 1200 (США) с УФ-детектором, автосамплером и термостатом колонок.

Хроматографическое разделение проводили в изократическом режиме на колонке Hypersil BDS C18 150×3,0 мм, 5 мкм (США) с предколонкой размером 8×4 мм, заполненной тем же сорбентом. Подвижная фаза – ацетонитрил : вода (рН 2,5, регулировали конц. H_3PO_4) (30 : 70). Подвижную фазу предварительно фильтровали и дегазировали на устройстве для фильтрования под вакуумом. Скорость потока подвижной фазы – 1,0 мл/мин. Температура термостата колонки – 25 °С. Детектирование проводили при длине волны 230 нм. Объем вводимой пробы – 20 мкл. Время удерживания АСК – около 4,8 мин, время удерживания СК – около 6,8 мин, продолжительность хроматографирования – 12 мин.

Регистрация и обработка хроматограмм выполнены с помощью программного обеспечения Chem Station (Agilent, США), статистическая обработка результатов – с помощью программного обеспечения Microsoft Office Excel 2003, $p < 0,5$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Образцы инкапсулированной формы АСК

На рис. 1 приведены результаты СЭМ-анализа полимерных микроструктур, полученных методом PGSS из чистого PDLG7502 при давлении диоксида углерода в камере высокого давления 10 МПа и температуре 50 °С.

Хорошо видно, что каждая отдельно взятая частица полученных мелкодисперсных порошков с характерным размером 20–100 мкм имеет сложную

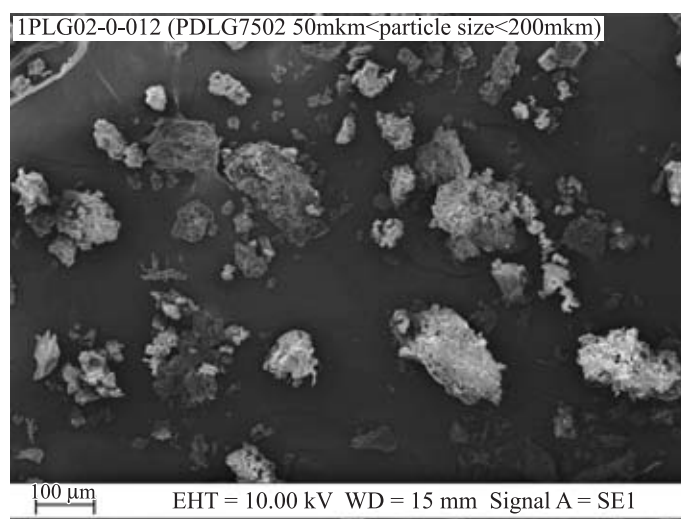


Рис. 1. СЭМ-изображения микрочастиц PDLG7502, полученных методом PGSS

Fig. 1. SEM images of PDLG7502 microparticles obtained by PGSS method

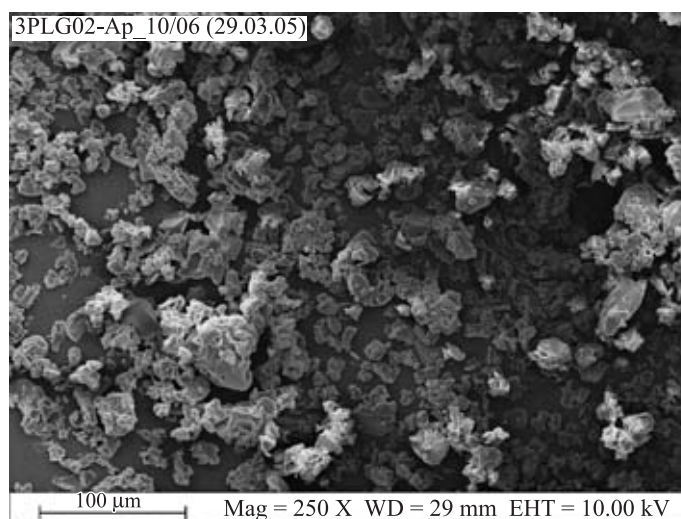


Рис. 2. СЭМ-изображения полученных методом PGSS микрочастиц PDLG7502, содержащих 10 масс.% АСК

Fig. 2. SEM images of PDLG7502 microparticles obtained by PGSS method, containing 10 wt.% ASA

составную структуру микронного масштаба. Это является свидетельством того, что в результате процессов СКФ-пластификации алифатического полиэфира и последующего «вспенивания» при резком сбросе давления CO_2 происходит эффективная микронизация полимера с образованием высокопористых микрочастиц. Важно отметить, что при этом происходит удаление растворимых в ск- CO_2 технологических примесей, а также низкомолекулярных олигомеров лактидов и/или гликолидов.

На рис. 2 показаны характерные СЭМ-изображения двух образцов, содержащих 10 масс.% АСК полимерных микрочастиц, полученных при давлении диоксида углерода в камере высокого давления 10 МПа и температуре 50 °С.

Видно, что в этом случае композитные микрочастицы имеют более плотную структуру. По всей

видимости, АСК оказывает стабилизирующее влияние на процесс СКФ-микронизации полимерной смеси. Подобное влияние ацетилсалициловой кислоты на процесс формирования полиэфирных микрочастиц методом PGSS требует отдельного детального исследования и выходит за рамки настоящей статьи.

В целом схожая картина наблюдалась и при использовании низкомолекулярного полилактида марки PURASORB PDL02 с молекулярной массой ~ 12 кДа.

Пробоподготовка

Для определения оптимального способа подготовки образцов плазмы крови, содержащих АСК и СК, были изучены различные техники пробоподго-

товки (осаждение белков, вымораживание, высаливание, жидкость-жидкостная экстракция и твердо-фазная экстракция).

По совокупности полученных данных был сделан выбор в пользу метода высаливания, показавшего наиболее оптимальные результаты в селективности, простоте, скорости и стоимости подготовки образцов плазмы. Степень извлечения ацетилсалициловой и салициловой кислот из плазмы крови составила 95,8 и 98,1% соответственно.

Хроматографический анализ

Были изучены обращенно-фазовый, ион-парный и нормально-фазовый режимы хроматографирования проб, содержащих АСК и СК. Проведенные эксперименты позволили установить, что наиболее подходящим режимом хроматографирования АСК и СК является обращенно-фазовый режим на колонке Hypersil BDS C18, условия которого были приведены выше. На рис. 3 представлены хроматограммы чистой плазмы и плазмы с добавлением стандартных растворов АСК и СК.

Основные параметры хроматографического анализа на колонке Hypersil BDS C18, характеризующие эффективность и селективность разделения в выбранных условиях, были рассчитаны из хрома-

Таблица

Основные параметры хроматографического анализа плазмы с добавлением стандартных растворов АСК и СК
($C = 20$ мкг/мл, $n = 6$, $p = 0,95$)

Basic parameters of plasma chromatographic analysis with the addition of ASA and SA standard solutions ($C = 20$ μ g/ml, $n = 6$, $p = 0,95$)

Параметр	Найденные значения	
	АСК	СК
Время удерживания, мин	4,83	6,78
Коэффициент емкости	2,0	3,2
Ширина пика на половине высоты, мин	0,29	0,36
Число теоретических тарелок, рассчитанное по ширине половины пика	1539	1966
Высота, эквивалентная теоретической тарелке (ВЭТТ), мкм	97,5	76,3
Коэффициент асимметрии пика	1,7	1,6
Коэффициент разделения (селективность)	1,6	
Разрешение	2,3	

тограмм плазмы с добавлением стандартных растворов АСК и СК и представлены в таблице.

Величина разрешения и полученные хроматограммы подтверждают полное разделение пиков АСК и СК до базовой линии, что говорит о высокой

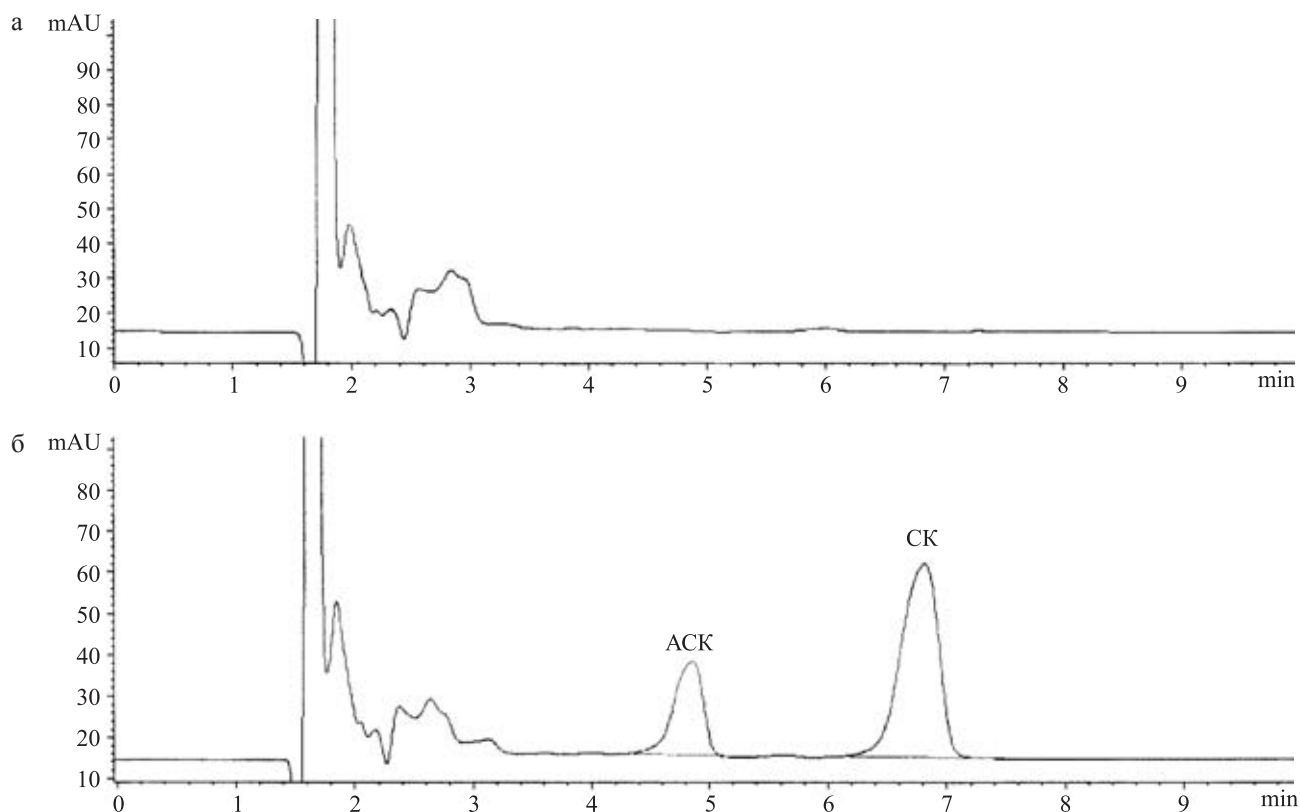


Рис. 3. Хроматограммы чистой плазмы (а) и плазмы с добавлением стандартных растворов АСК и СК (20 мкг/мл) (б)

Fig. 3. Chromatograms of contaminant-free plasma (a) and plasma with the addition of ASA and SA standard solutions (20 μ g/ml) (б)

селективности разработанной хроматографической системы.

Разработанная методика ВЭЖХ была применена для изучения кинетики высвобождения АСК и СК из биосовместимых полимерных носителей в модельный раствор и плазму крови. Количественное определение АСК и СК в модельном растворе и плазме крови проводили методом абсолютной градуировки по графикам, устанавливающим зависимость между концентрацией и площадью пиков определяемых веществ.

Градуировочные зависимости АСК и СК строили в области концентраций 0,05–5,0 мкг/мл для модельного раствора и 0,2–10,0 мкг/мл для плазмы крови. Полученные в этих диапазонах концентраций зависимости имеют линейный характер.

Пределколичественного определения (ПКО) АСК и СК определяли на основании данных линейности градуировочной зависимости как минимальную концентрацию, для которой величина относительного стандартного отклонения не превышает 20% [21, 22]. ПКО ацетилсалициловой и салициловой кислот в модельном растворе составил 0,05 мкг/мл, в плазме крови – 0,2 мкг/мл.

Исследование кинетики высвобождения АСК из биосовместимых полимерных носителей в модельный раствор

На модельном растворе была изучена кинетика высвобождения АСК из биосовместимых полимерных частиц с целью выбора оптимального носителя.

Для устранения мешающего влияния АСК, адсорбированной на поверхности частиц носителя, 100 мг полимера, содержащего 10% (масс.) инкапсулированной АСК, помещали в 100 мл модельного раствора и встряхивали в течение 5 минут. Затем раствор отстаивали 10 мин, повторно встряхивали в течение 5 минут и фильтровали через нейлоновый фильтр с размером пор 0,45 мкм.

Промытые частицы препарата вместе с фильтром помещали в емкость с 400 мл модельного раствора, термостатированную при 37 °С. Через 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 12; 24 ч отбирали пробы объемом 0,5 мл, которые фильтровали через нейлоновый фильтр с размером пор 0,45 мкм и хроматографировали.

Результаты изучения кинетики высвобождения АСК из D,L-полилактида PURASORB PDL02 и полилактогликолида PURASORB PDLG02 представлены на рис. 4.

Высвобождение АСК из частиц полилактида и полилактогликолида протекает по одному механизму. В течение 4 ч после начала экстракции происходит активное выделение АСК из полимерных микрочастиц, причем наибольшее увеличение кон-

центрации АСК происходит в первые 30 мин. Через 4 ч после начала экстракции начинается постепенное снижение концентрации АСК в модельном растворе, что объясняется гидролизом АСК с образованием салициловой кислоты (рис. 4, б).

Количество АСК, высвободившейся из D,L-полилактида PURASORB PDL02 в течение первых 4 ч, примерно на 25% превышает массу АСК, выделившейся из полилактогликолида PURASORB PDLG02, что может служить обоснованием полилактогликолида PDLG7502 в качестве носителя для создания пролонгированной формы АСК. В связи с этим фармакокинетические исследования были проведены только для АСК, инкапсулированной в микрочастицы из полилактогликолида.

Изучение фармакокинетики АСК, инкапсулированной в биосовместимый полимерный носитель

Анализ кинетики высвобождения АСК из порошка полилактогликолида PURASORB PDLG02 в кровь проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии по следующему алгоритму.

Для проведения исследования случайным образом была сформирована группа экспериментальных животных в количестве 3 шт. В группу отбирали кроликов без признаков отклонений внешнего вида, так чтобы индивидуальное значение массы тела каждого животного не отличалось от среднего более чем на 10%.

Аморфный полилактогликоolid PURASORB PDLG02, содержащий 10% (масс.) АСК, имплантировали в бедренную мышцу кроликов в дозе 10 мг АСК/кг. Образцы крови отбирали до имплантации препарата, а также через 0,5; 1; 6; 12; 24; 30; 48 ч после имплантации. Объем отбираемых образцов крови был достаточен для получения 0,5 мл плазмы. В полученных образцах плазмы определяли содержание АСК и СК.

Результаты изучения фармакокинетики АСК представлены на рис. 5.

Концентрация АСК в плазме крови возрастает в течение первых 6 часов, держится на одном уровне до 24 часов и плавно снижается до незначительных значений. Содержание СК в плазме достигает максимума через 1 ч после введения АСК в мышцу, после чего уменьшается в течение 24 ч до следовых количеств.

Полученные результаты свидетельствуют о постепенном высвобождении АСК в течение 24 ч после внутримышечной имплантации АСК, инкапсулированной в высокопористый полимерный носитель.

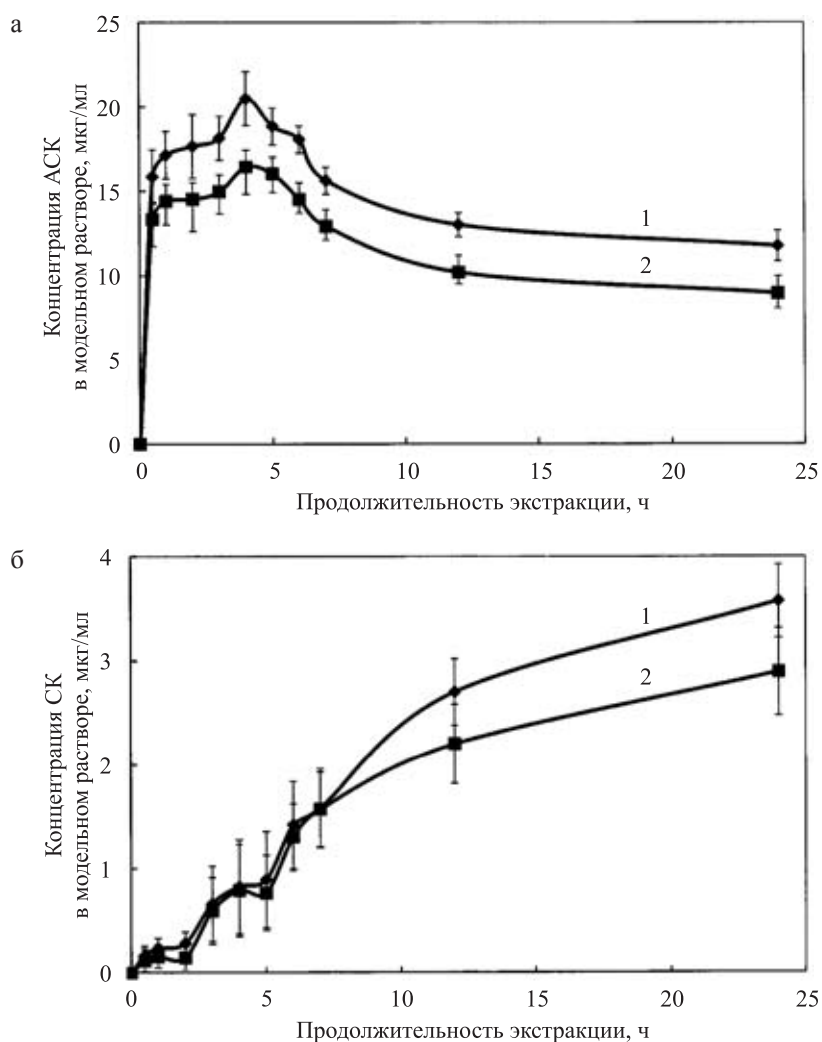


Рис. 4. Кинетика высвобождения АСК (а) и образования СК (б) из аморфного D,L-полилактида PURASORB PDL02 (1) и аморфного полилактогликолида PURASORB PDLG02 (2), содержащих 10% (масс.) АСК (n = 3)

Fig. 4. ASA release kinetics (a) and SA formation (b) from amorphous D,L-polylactide PURASORB PDL02 (1) and amorphous polylactoglycolide PURASORB PDLG02 (2) containing 10 wt.% ASA (n = 3)

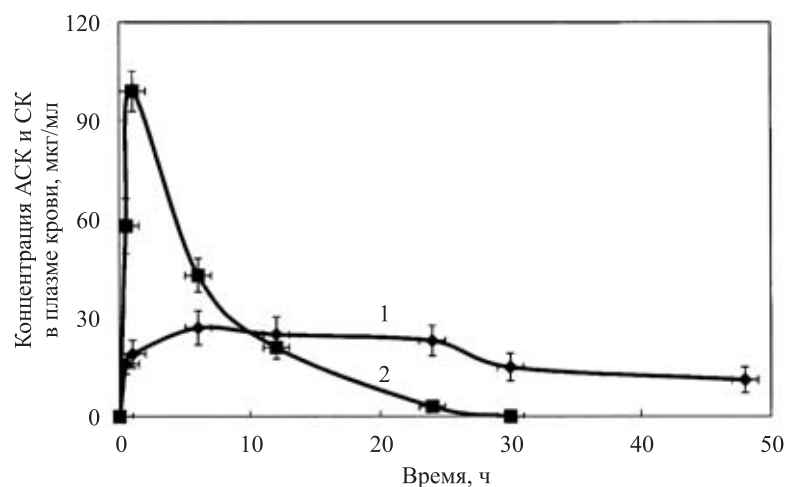


Рис. 5. Усредненные фармакокинетические кривые АСК (1) и СК (2) после однократной внутримышечной имплантации кроликам АСК в аморфном полилактогликолиде PURASORB PDLG02 в дозе 10 мг/кг (n = 3)

Fig. 5. Averaged pharmacokinetic curves for ASA (1) and SA (2) after single intramuscular implantation of ASA to rabbits in amorphous polylactoglycolide PURASORB PDLG02 at the dose of 10 mg/kg (n = 3)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, разработана методика количественного определения ацетилсалициловой и салициловой кислот в модельном растворе и плазме крови методом ВЭЖХ с УФ-детектированием. Аналитический диапазон методики без учета разбавления составил 0,05–5,0 мкг/мл для модельного раствора и 0,2–10,0 мкг/мл для плазмы крови; степень извлечения ацетилсалициловой и салициловой кислот из плазмы крови – 95,8 и 98,1% соответственно.

Наиболее оптимальным с точки зрения морфологических и физико-химических характеристик микрочастиц алифатических полиэфиров, содержащих терапевтически значимые концентрации АСК, получаемых методом PGSS, является полилактогликолид марки PURASORB PDLG7502, а полученные на его основе экспериментальные образцы мелкодисперсных порошков, содержащие 10 масс.% АСК, могут служить прототипами для разработки и создания на их основе пролонгированной формы ацетилсалициловой кислоты.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 13-02-12215).

Авторы выражают благодарность Л.И. Кротовой за проведение СЭМ-анализа образцов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Машковский МД. Лекарственные средства. М.: Медицина, 2012. *Mashkovskiy MD. Lekarstvennye sredstva. M.: Medizina, 2012.*
2. Скворцова ВИ, Чазова ИЕ, Стаховская ЛВ. Вторичная профилактика инсульта. М.: Медицина, 2006; 120. *Skvortsova VI, Chasova IE, Stakhovskaya LV. Vtorichnaya profilaktika insulta. M.: Medizina, 2006; 120.*
3. Бокарев ИН, Щепотин ВМ, Ена ЯМ. Внутрисосудистое свертывание крови. Киев: Здоровье, 1989; 240. *Bokarev IN, Schepotin VM, Ena YaM. Vnutrisosudistoye svertyvaniye krovi. Kiev: Zdorovie, 1989; 240.*
4. Панченко ЕП. Роль антитромботической терапии в профилактике ишемического инсульта. *Русский медицинский журнал*. 2002; 10: 33–37. *Panchevko EP. Rol' antitromboticheskoy terapii v prophylaktike ishemi-cheskogo insulta. Russkij meditsinskij zhurnal. 2002; 10: 33–37.*
5. Алехин ЕК. Аспирин: новая жизнь старого лекарства. *Соровский образовательный журнал*. 1999; 10: 3–5. *Alekhin EK. Aspirin: novaya zhizn starogo lekarstva. Sorovskiy obrasovatelnyy zhurnal. 1999; 10: 3–5.*
6. Метелица ВИ. Справочник по клинической фармакологии сердечно-сосудистых лекарственных средств. СПб.: Бином, 2002; 926. *Metelitsa VI. Spravochnik po klinicheskoy farmakologii lekarstvennykh sredstv. St-P.: Binom, 2002; 926.*
7. Li X, Justi BR. Design of Controlled Release Drug Delivery Systems. New York: McGraw-Hill, 2006; 437.
8. Тихобаева АА, Саломатина ЛА, Севастьянов ВИ. Имплантируемая система доставки аспирина на основе бактериального биodeградируемого полимера поли-β-оксибутирата. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2001; III (1): 42–44. *Tichobaeva AA, Salomatina LA, Sevastianov VI. et. al. Implantable system of aspirin delivery on the base of bacterial biodegradable polymer of poly-β-hydroxybutyrate. Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov = Russian journal of transplantology and artificial organs. 2001; 1: 42–44. [English abstract].*
9. Полухина ОС, Басок ЮБ, Саломатина ЛА, Севастьянов ВИ. Экспериментальное исследование фармакокинетики ацетилсалициловой кислоты при трансдермальном способе введения. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2009; 3: 29–32. *Polukhina OS, Basok YuB, Salomatina LA, Sevast'yanov VI. Experimental study of the pharmacokinetics of acetylsalicylic acid upon transdermal administration. Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya. 2009; 3: 29–32.*
10. Биосовместимые материалы. Под ред. Севастьянова ВИ. и Кирпичникова МП. М.: МИА, 2011; 544. *Bio-compatible materials (textbook). Ed. by: Sevastianov VI, Kirpichnikov MP. Moscow: MIA, 2011; 544.*
11. Pasquali I, Bettini R. Are pharmaceuticals really going supercritical? *Int. J. Pharm.* 2008; 364: 176–187.
12. Гумеров ФМ, Сабирзянов АН, Гумерова ГИ. Суб- и сверхкритические флюиды в процессах переработки полимеров. Казань: Фэн, 2000; 320. *Gumerov FM, Sabirzyanov AN, Gumerova GI. Sub- i sverkhkriticheskie flyudy v protsesakh pererabotki polimerov. Kazan': Fen, 2000; 320.*
13. Tai H, Popov VK, Shakesheff KM, Howdle SM. Putting the fizz into chemistry: applications of supercritical carbon dioxide in tissue engineering, drug delivery and synthesis of novel block copolymers. *Biochemical Society Transactions*. 2007; 35: 516–521.
14. Воложин АИ, Караков АГ, Суханов ЮП, Шехтер АБ, Попов ВК, Антонов ЕН, Карротт М. Тканевая реакция на акриловые пластмассы, модифицированные сверхкритической экстракцией двуокисью углерода. *Стоматология*. 1998; 77 (4): 4–8. *Volozhin AI, Karakov AG, Sykhanov YuP, Shekhter AB, Popov VK, Antonov EN, Karrot M. Tkanevaya reaktsiya na akrilovye plastmassy, modifitsirovannyye sverkhkriticheskoy ekstraktsiej dvuokisi ugleroda. Stomatologiya. 1998; 77 (4): 4–8.*
15. Xu X, Koetzner L, Boulet J. et al. Rapid and sensitive determination of acetylsalicylic acid and salicylic acid in plasma using liquid chromatography-tandem mass spectrometry: application to pharmacokinetic study. *Biomed. Chromatogr.* 2009; 23 (9): 973–979.
16. Liu JH, Smith PC. Direct analysis of salicylic acid, salicyl acyl glucuronide, salicyluric acid and gentisic acid in human plasma and urine by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. B. Biomed. Appl.* 1996; 675 (1): 61–70.

17. Kees F, Jehnich D, Grobecker H. Simultaneous determination of acetylsalicylic acid and salicylic acid in human plasma by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. B. Biomed. Appl.* 1996; 677 (1): 172–177.
18. Gaspari F, Locatelli M. Determination of aspirin and salicylic acid in uremic patients' plasma using reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Ther. Drug. Monit.* 1987; 9 (2): 243–247.
19. Mays DC, Sharp DE, Beach CA et al. Improved method for the determination of aspirin and its metabolites in biological fluids by high-performance liquid chromatography: applications to human and animal studies. *J. Chromatogr.* 1984; 311 (2): 301–309.
20. McMahon GP, Kelly MT. Determination of aspirin and salicylic acid in human plasma by column-switching liquid chromatography using on-line solid-phase extraction. *Anal. Chem.* 1998; 70 (2): 409–414.
21. Kolotova ES, Egorova SG, Ramonova AA, Bogorodskij SE, Popov VK, Agapov II, Kirpichnikov MP. Cytotoxic and immunochemical properties of viscumin encapsulated in polylactide microparticles. *Acta Naturae.* 2012; 4 (1): 105–110.
22. Bogorodskij SE, Krotova LI, Kursakov SV, Minaeva SA, Popov VK, Sevast'yanov VI. Supercritical fluid encapsulation of acizol into aliphatic polyether microparticles. *Russian Journal of Physical Chemistry B.* 2015; 9 (7): 1011–1017.
23. Антонов ЕН, Богородский СЭ, Фельдман БМ, Марквичева ЕА, Румш ЛД, Попов ВК. Получение биodeградируемых микрочастиц с биоактивными компонентами с помощью сверхкритического диоксида углерода. *Сверхкритические флюиды: теория и практика.* 2008; 3: 34–42. Antonov EN, Bogorodskij SE, Feldman BM, Markvicheva EA, Rumsh LD, Popov VK. Obtaining biodegradable microparticles with bioactive components by using supercritical carbon dioxide. *Sverkhkriticheskie flyuidy: teoriya i praktika.* 2008; 3: 34–42.

Статья поступила в редакцию 14.01.2016 г.
The article was submitted to the journal on 14.01.2016

DOI: 10.15825/1995-1191-2016-1-32-37

ВЫЯВЛЕНИЕ ОСТРОВКОВОГО ПОТЕНЦИАЛА ДОНОРСКОЙ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Н.Н. Скалецкий, Л.А. Кирсанова, Г.Н. Бубенцова, Н.В. Баранова, Г.Н. Скалецкая, В.И. Севастьянов

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

Целью работы было детальное морфологическое исследование донорской поджелудочной железы (ДПЖ) для изучения возможностей максимального получения островковой ткани, подходящей для трансплантации пациенту с сахарным диабетом 1-го типа. **Материалы и методы.** Восемь ПЖ были получены в результате мультиорганного донорского забора. Морфологические исследования проводились с помощью гистологических и специальных иммуногистохимических методов. **Результаты.** Большинство островков было выявлено в хвостовой части ДПЖ. Помимо расположенных интралобулярно типичных островков Лангерганса с преобладанием мозаично расположенных бета-клеток, в междольковых прослойках соединительной ткани выявлены скопления островковых клеток, формирующих так называемые интерлобулярные (перилобулярные) островки. Кроме того, в клетках эпителия протоков ДПЖ был выявлен нестин, который является маркером прогениторных клеток. **Заключение.** Для получения максимального потенциала островковой ткани из ДПЖ необходимо использовать интралобулярно расположенные островки, а также клетки-предшественники поджелудочной железы, которые имеют способность к трансдифференцировке в островковые клетки.

Ключевые слова: донорская поджелудочная железа, морфологические исследования, интерлобулярные островки, прогениторные клетки.

IDENTIFICATION OF ISLET CAPACITY IN DONOR'S PANCREAS USING IMMUNOMORPHOLOGICAL ANALYSIS

N.N. Skaletskiy, L.A. Kirsanova, G.N. Bubentsova, N.V. Baranova, G.N. Skaletskaya, V.I. Sevastianov

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

The aim of the work was detailed morphological investigations of donor pancreas (DP) for the study of possibilities of maximal selection of islet tissue suitable for transplantation to a patient of diabetes mellitus type 1. **Materials and methods.** Eight DPs were received as a result of multiorgan donation. Morphological investigations were performed by means of histological and special immunohistochemical methods. **Results.** The Majority of islets were revealed in the tail part of the DP. Besides typical Langerhans islets with predominance of mosaicly located beta cells, the accumulations of islet cells forming so-called interlobular (perilobular) islets were revealed in the layers of interlobular connecting tissue. In addition, in the cells of ductal epithelium nestin which is a marker of progenitor cells was revealed. **Conclusion.** To obtain the maximal potential of islet tissue from DP it is necessary to use interlobular located islets as well as to use progenitor cells of pancreas, which have the ability to transdifferentiate into islet cells.

Key words: donor pancreas, immunomorphological investigations, interlobular islets, progenitor cells.

Для корреспонденции: Скалецкий Николай Николаевич. Адрес: 123182, г. Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел.: (499) 190-42-66; 8-903-790-95-39. E-mail: NSkaletsky@mail.ru.

For correspondence: Skaletskiy Nikolay Nikolaevich. Address: 1, Shchukinskaya St., Moscow, 123182, Russian Federation. Tel.: (499) 190-42-66, 8-903-790-95-39. E-mail: NSkaletsky@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация островков поджелудочной железы (ПЖ) считается наиболее действенным и перспективным направлением в лечении сахарного диабета типа 1, с постепенным улучшением клинических результатов, как следует из данных Международного регистра трансплантации островков [1, 2]. Основным показанием применения этого метода являются резкая лабильность уровня гликемии с развитием тяжелых гипогликемических состояний, а также выраженная резистентность к действию препаратов инсулина. Анализ клинических данных, собранных во всем мире в течение последних 5 лет, подтверждает положительную тенденцию в этой области, с интегрированным управлением ключевых факторов, которыми являются получение адекватного количества островков, совершенствование протоколов иммуносупрессии, применение дополнительной противовоспалительной терапии, оценка аллогенного иммунитета перед пересадкой. Инсулинонезависимость наблюдалась в нескольких клинических испытаниях на различных сроках после трансплантации у 65–100% пациентов; поддержание этого состояния во время последующих наблюдений постепенно уменьшалось, составляя в среднем 44% через 3 года после последней инфузии. Рекордной длительностью посттрансплантационной инсулинонезависимости является 13-летний срок. Непосредственными результатами функционирования трансплантации островков являются устранение гипогликемических состояний и снижение уровня гликозилированного гемоглобина, характеризующего степень компенсации сахарного диабета. Кроме того, многие исследования показали влияние успешной трансплантации островков на хронические осложнения сахарного диабета, такие как периферическая нейропатия, ретинопатия, и макроангиопатии. Однако самое грозное осложнение – диабетическая нефропатия – по-прежнему остается критерием исключения, так как иммуносупрессивная терапия может привести к ухудшению почечной функции. Поэтому проблемы, связанные с неизбежным применением иммуносупрессии при трансплантации островков для лечения сахарного диабета типа 1 должны быть рассмотрены в каждом случае для правильной оценки соотношения риск/польза.

Дефицит донорских органов не позволяет выполнять аллотрансплантации островков ПЖ в значимом количестве, тем более что для проведения эффективной пересадки (с достижением инсулинонезависимости реципиента) требуется последовательное использование в качестве источника островков от 2 до 4 донорских ПЖ. Поэтому актуальны исследования по разработке методических приемов, которые могли бы обеспечить увеличе-

ние массы выделяемых островков и проведение большего числа пересадок при использовании того же количества донорских желез. Из-за постоянной нехватки донорских ПЖ человека проведение необходимого объема морфологических исследований панкреатической ткани с целью определения более рациональных способов получения островковой ткани возможно лишь при использовании ПЖ животных. Поэтому нами для отбора и отработки наиболее информативных общегистологических и иммуногистохимических методов идентификации островковых клеток в качестве доступной донорской модели была использована ПЖ кроликов [3]. В частности, для выявления основных типов островковых клеток применяли специфическое иммуногистохимическое окрашивание, а для выявления протокового эпителия препараты обрабатывали антителами к цитокератину-19, а также антителами к нестину как маркеру прогениторных клеток. Эти морфологические исследования были применены при изучении донорских ПЖ человека как потенциальных источников островков для трансплантации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Поджелудочные железы получали в результате мультиорганного забора. Донорами явились трупы 8 человек (7 мужчин и 1 женщина, возраст 18–45 лет, в среднем 38,5 года). Длительность холодовой ишемии органа составила от 6 до 9 часов (в среднем 7 часов 40 минут). Из хвоста каждой ПЖ вырезали по 2 образца, из головки и тела органа – по 1 образцу, каждый размерами 0,5×1×1 см, которые помещали в раствор соответствующего фиксатора.

Образцы донорских ПЖ подвергали морфологическому исследованию с помощью рутинных гистологических и специальных иммуногистохимических методов окрашивания. Материал, зафиксированный в 10%-ном забуференном растворе формалина и частично в жидкости Буэна, обезживали в спиртах восходящей концентрации, хлороформе и заливали в парафин. Срезы толщиной 4–5 мкм получали на микротоме Leica RM 2245 и использовали для дальнейшей обработки.

Для выявления протокового эпителия окрашивание препаратов антителами к цитокератину-19 (Novocastra) осуществляли с использованием Concentrated Peroxidase Detection System (RE 7130-K, Leica Microsystem), следуя инструкции производителя. Предварительно перед окрашиванием депарафинированные срезы подвергали ретривизации инкубацией в 0,1%-ном растворе трипсина при температуре 37°C в течение 40 минут. Идентификацию клеток, экспрессирующих маркер прогениторных клеток нестин (Abcam), в паренхиме железы осуществляли с предварительной ретривизацией антигена кипячением в цитратном буфере в течение 20 минут с последующим охлаждением при комнат-

ной температуре и дальнейшей визуализацией по стандартной методике с пероксидазой хрена. Кроме того, используя антитела к инсулину и глюкагону (Cell Marque), проводили окрашивание основных типов эндокринных клеток островков Лангерганса. При этом использовали систему визуализации Reveal-Biotin-Free Polyvalent DAB (Spring).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Иммуноморфологическое исследование препаратов образцов донорской поджелудочной железы выявило преимущественное расположение островковой ткани в хвостовой части ПЖ (рис. 1). Интрапаренхиматозно расположенные островки Лангерганса имели, как правило, округлую и реже неправильную вытянутую форму и демонстрировали классическую картину распределения основных

типов инсулоцитов [4]. В островках преобладали мозаично расположенные инсулинпозитивные бета-клетки (рис. 2, а). Глюкагонпозитивные аль-

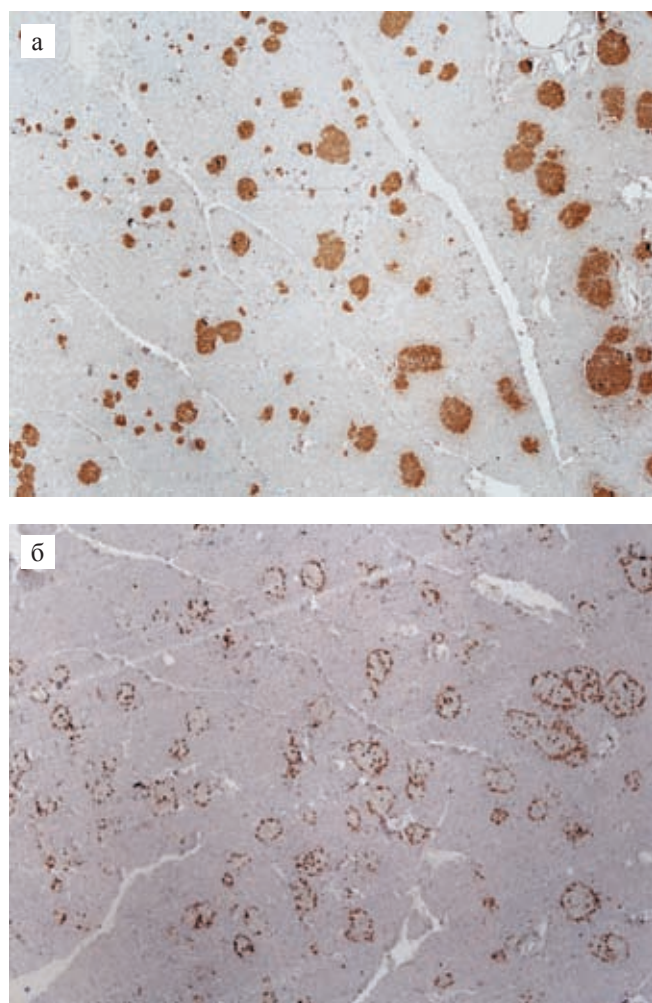


Рис. 1. Островки Лангерганса в хвостовой части донорской поджелудочной железы. Иммуногистохимическое окрашивание β -клеток антителами к инсулину (а) и α -клеток – к глюкагону (б). $\times 40$

Fig. 1. Islets of Langerhans in the tail part of donor pancreas. Immunohistochemical staining of β -cells with insulin antibodies (а) and α -cells with glucagon antibodies (б). $\times 40$

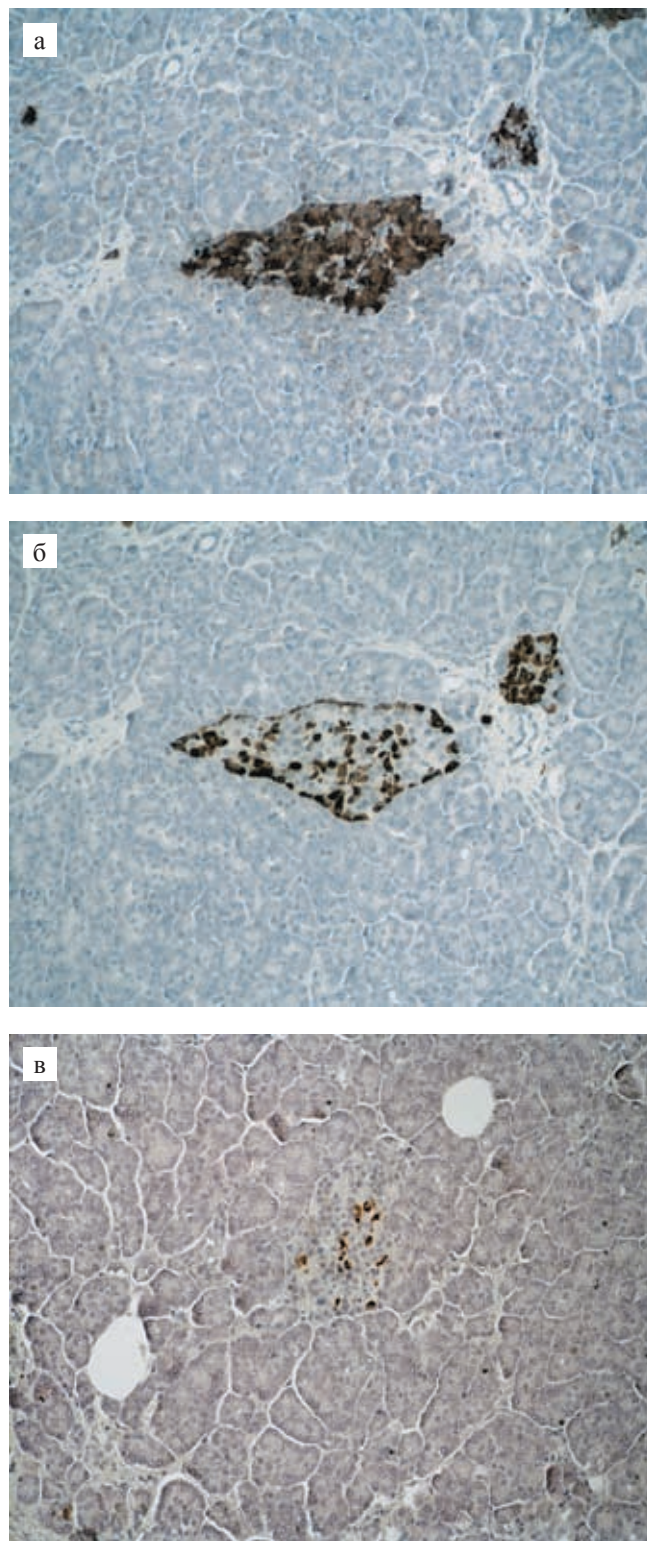


Рис. 2. Интралобулярные островки Лангерганса. Инсулинпозитивные (а), глюкагонпозитивные (б), соматостатинпозитивные (в) клетки. $\times 200$

Fig. 2. Intralobular islets of Langerhans. Insulin-positive (а), glucagon-positive (б) and somatostatin-positive (в) cells. $\times 200$

фа-клетки обнаруживались как на периферии островков, так и в центральной их части (рис. 2, б). Редкие соматостатинпозитивные дельта-клетки распределялись в островках без четкой локализации (рис. 2, в). Кроме описанных выше типичных

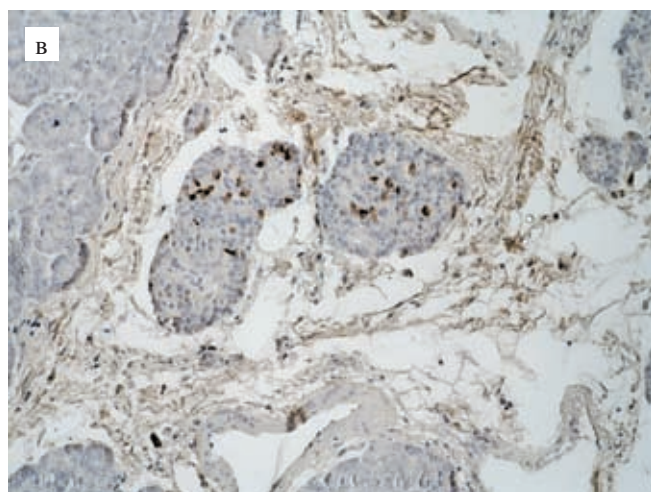
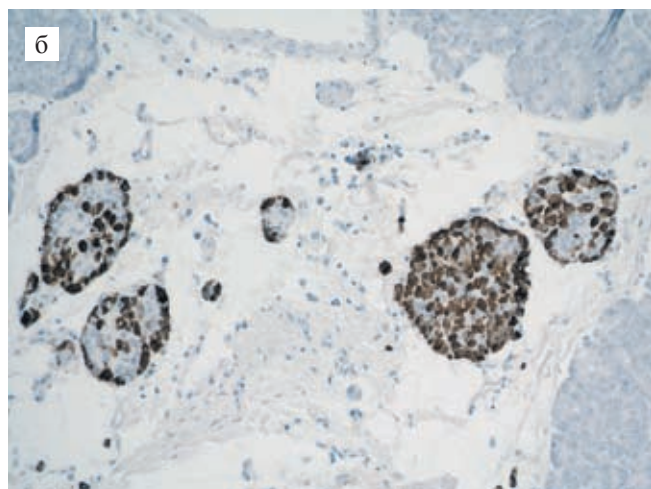
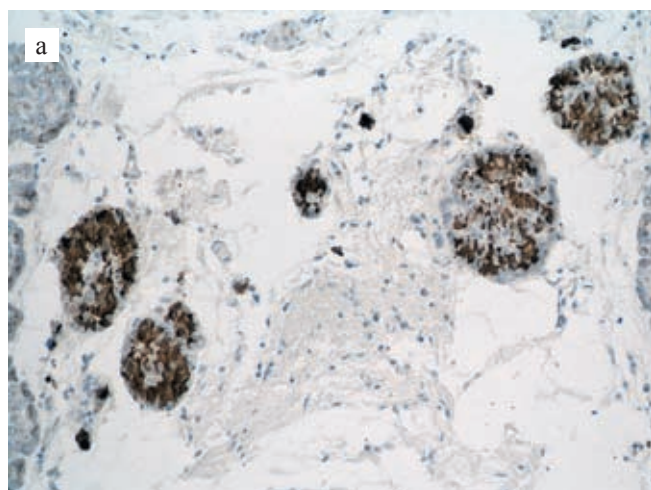


Рис. 3. Интерлобулярные островки. Иммуногистохимическое окрашивание антителами к инсулину (а), глюкагону (б), соматостатину (в). $\times 200$

Fig. 3. Interlobular islets. Insulin-positive (a), glucagon-positive (б) and somatostatin-positive (в) cells. $\times 200$

островков Лангерганса в междольковых прослойках рыхлой соединительной ткани обнаруживались сферической формы клеточные скопления, демонстрировавшие характерное окрашивание на инсулин, глюкагон и соматостатин (рис. 3). Скорее всего, они представляют собой так называемые интерлобулярные (перилобулярные) островки, выявляемые как раз между дольками ПЖ. Отличительной чертой таких островков являются прежде всего их топографические характеристики, тогда как клеточный состав и локализация инсулоцитов практически не отличаются от таковых в островках Лангерганса. Интерлобулярные островки описаны у некоторых видов животных [5], однако их функциональная значимость и происхождение остаются неясными. Как известно, эпителий мелких выводных протоков рассматривается как основной источник региональных прогениторных клеток. Проведенное иммуногистохимическое окрашивание антителами к цитокератину-19, обычно выявляемому в клетках протокового эпителия [6], оказывалось позитивным в клетках протоков донорской ПЖ разного калибра и демонстрировало их мощную разветвленную трубчатую сеть (рис. 4). Экспрессия нестина, являющегося маркером прогениторных клеток [7–9], наблюдалась в разбросанных в паренхиме железы одиночных клетках и реже – в группах, состоящих из 3–4 клеток (рис. 5). Как правило, эти клетки были локализованы в области мелких выводных протоков, а также в ацинусах (вероятно, в составе вставочного отдела протока). При этом непосредственно в островках нестинпозитивные клетки не обнаруживались.

Следующим этапом наших исследований будет разработка наиболее рационального и продуктив-

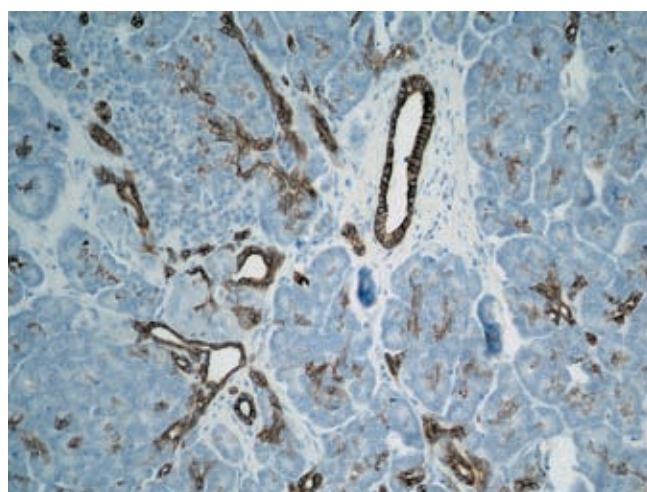


Рис. 4. Позитивное окрашивание антителами к цитокератину-19 в клетках протокового эпителия донорской поджелудочной железы. $\times 200$

Fig. 4. Positive staining by antibodies to cytokeratin-19 in ductal epithelial cells of the donor pancreas. $\times 200$

ного метода выделения островков из донорской ПЖ. Как известно, островковая ткань составляет лишь около 2% от общей массы ПЖ, поэтому ее выделение (изоляция) является крайне сложной задачей. Существующие методы изоляции островков представляют собой целый набор последовательно осуществляемых процедур, основными из которых являются перфузия панкреатических протоков ферментом коллагеназного действия (обычно это либеразы для человеческих островков) с целью диссоциации панкреатической ткани и последующее очищение островков от экзокринной ткани путем центрифугирования с использованием непрерывных градиентов фиколла [10]. Для того чтобы минимизировать риск повреждающего действия холодной ишемии, трансплантируют чаще всего свежеприготовленные островки сразу после их сбора, исключая таким образом возможность их культивирования. Однако несмотря на все предосторожности, в процессе изоляции островков возможна существенная потеря их количества, а также происходит снижение функциональных способностей пересаживаемых бета-клеток. Поэтому для достижения инсулинонезависимости у реципиентов с сахарным диабетом 1-го типа требуется использование, как правило, двух и более донорских ПЖ. При этом в изолированных указанным образом островках содержатся клетки эндотелия, лейкоциты, которые способны инициировать иммунную реакцию реципиента, что делает необходимым применение иммуносупрессивной терапии. Последняя, оказывая токсическое действие на бета-клетки пересаженных островков, в свою очередь, способствует снижению антидиабетического эффекта проводимых трансплантаций. В связи с этим целесообразно, по нашему мнению, после деликатной ферментной диссоциации измельченной донорской ПЖ проводить достаточно длительное ее культивирование с целью максимально возможного устранения экзокринных клеток и избавления от эндотелиоцитов, лейкоцитов и других иммуногенных клеток. Это предположительно устранил или максимально уменьшит необходимость проведения посттрансплантационной иммуносупрессии реципиентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенное иммуноморфологическое исследование донорских ПЖ человека подтвердило преимущественное расположение островковой ткани в хвостовой части органа. При этом помимо типичных островков Лангерганса, разбросанных в паренхиме ПЖ, между дольками были выявлены группы островкоподобных структур, также состоящих из бета-, альфа- и дельта-клеток – интерлобулярные островки, которые могут рассматриваться как дополнительный источник эндокрин-

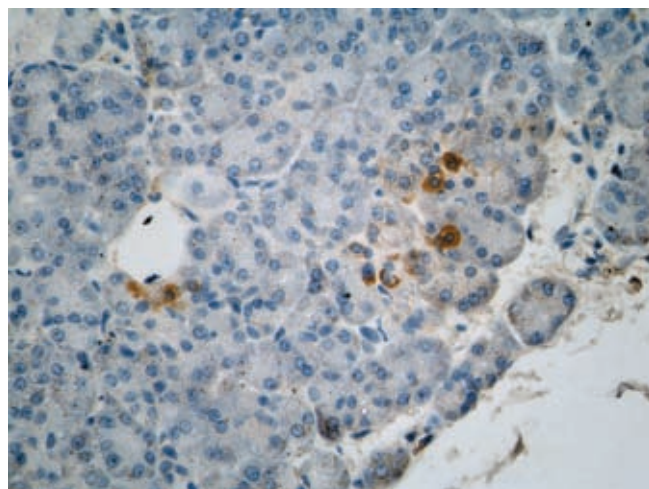


Рис. 5. Нестинпозитивные клетки в составе мелких выводных протоков донорской поджелудочной железы. $\times 400$

Fig. 5. Nestin-positive cells in the part of the small excretory ducts of the donor pancreas. $\times 400$

ной ткани. Можно также сделать вывод о том, что популяция клеток, экспрессирующих нестин, связана именно с протоковым эпителием и представляет собой резервный пул клеток-предшественников, сохраняющихся в онтогенезе, и способных стать потенциальным источником островковых клеток.

Работа выполнена при поддержке государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации (от 28.01.2015 г. ч. 1, раздел 1) «Разработка и экспериментальное исследование тканеинженерной конструкции поджелудочной железы человека; № гос. регистрации 115102010015.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Barton FB, Rickels MR, Alejandro R, Hering BJ, Wease S, Naziruddin B et al. Improvement in outcomes of clinical islet transplantation: 1999–2010. *Diabetes Care*. 2012 Jul; 35 (7): 1436–1445. doi: 10.2337/dc12-0063.
2. Balamurugan AN, Naziruddin B, Lockridge A, Tiwari M, Loganathan G, Takita M et al. Islet product characteristics and factors related to successful human islet transplantation from the Collaborative Islet Transplant Registry (CITR) 1999–2010. *Am J Transplant*. 2014 Nov; 14 (11): 2595–2606. doi: 10.1111/ajt.12872. Epub 2014 Oct 2.
3. Скалецкий НН, Кирсанова ЛА, Севастьянов ВИ. Разработка и экспериментальное исследование тканеинженерных конструкций поджелудочной железы из культур островковых клеток поджелудочной железы и биodeградируемых носителей с целью стимуляции регенерации β -клеток у больных сахарным диабетом. *Трансплантология: итоги и перспективы*. 2013; V: 140–152. Skaletskiy NN, Kirsanova LA, Sevastyanov VI. Development and experimental research cell-enginee-

- ring constructs from cultures of pancreatic islet cells and biodegradable scaffolds in order to stimulate the regeneration of β -cells in patients with diabetes. *Transplantation: results and prospects*. 2013; V: 140–152.
4. Тимофеев АВ. Клеточно-популяционная организация поджелудочной железы и применение клеточных технологий в лечении сахарного диабета. *Биология стволовых клеток и клеточные технологии*. 2009; 2: 253–310. *Timofeev AV*. A cell-population structure of the pancreas and the use of cellular technology in the treatment of diabetes. *Stem cell biology and cellular technologies*. 2009; 2: 253–310.
 5. Merkwitz C, Blaschuk OW, Schulz A. The ductal origin of structural and functional heterogeneity between pancreatic islets. *Prog. Histochem. Cytochem*. 2013 Oct; 48 (3): 103–140. DOI: 10.1016/j.proghi. 2013.09.001. PMID: 24100070.
 6. Shimoda M, Chen S, Noduchi H, Matsumoto S, Grayburn PA. Neurogenic differentiation of cytokeratin-19-positive human pancreatic nonendocrine cells into insulin-producing cells. *Transplantation Proceedings*. 2010; 42 (6): 2071–2074. DOI: 10.1016/j.transproceed. 2010.05.114. PMID: 20692411.
 7. Lardon J, Rومان I, Bouwens L. Nestin expression in pancreatic stellate cells and angiogenic endothelial cells. *Histochem. Cell Biol*. 2002; 117 (6): 535–540. PMID: 12107504.
 8. Zulewski H, Abraham EJ, Gerlach MJ, Daniel PhB, Moritz W, Muller B. Multipotential nestin-positive stem cells isolated from adult pancreatic islets differentiate *ex vivo* into pancreatic endocrine, exocrine, and hepatic phenotypes. *Diabetes*. 2001; 50 (3): 521–533. PMID: 11246871.
 9. Mari-Engler SS, Correa-Giannella ML, Labriola L, Krogh K, Colin C. Co-localization of nestin and insulin and expression of islet cell markers in long-term human pancreatic nestin-positive cell cultures. *J Endocrinol*. 2004; 183 (3): 455–467. PMID: 15590972.
 10. Fiorina P, Shapiro AMJ, Ricordi C, Secchi A. The clinical impact of islet transplantation. *Am J of Transplantation*. 2008; 8 (8): 1990–1997. DOI: 10.1111/j.1600-6143. 2008.02353.x. PMID: 18828765.

Статья поступила в редакцию 11.11.2015 г.
The article was submitted to the journal on 11.11.2015

DOI: 10.15825/1995-1191-2016-1-38-44

ОПЫТ ПЕРФУЗИОННОЙ РЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗАЦИИ БИОЛОГИЧЕСКОГО КАРКАСА ЛЕГКИХ КРЫСЫ

Е.В. Куевда¹, Е.А. Губарева¹, А.С. Сотниченко¹, И.С. Гуменюк¹, И.В. Гилевич^{1, 2},
И.С. Поляков², В.А. Порханов², С.Н. Алексеенко¹, П. Маккиарини¹

¹ Международный научно-исследовательский клиничко-образовательный центр регенеративной медицины, Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Российская Федерация

² ГБУЗ «Научно-исследовательский институт – Краевая клиническая больница № 1 имени профессора С.В. Очаповского» Министерства здравоохранения Краснодарского края, Краснодар, Российская Федерация

Цель исследования – оценить перспективы использования процессов децеллюляризации и рецеллюляризации легких крысы как начального этапа создания тканеинженерных конструкций. **Материалы и методы.** Децеллюляризацию легких крысы выполняли перфузионным детергент-энзиматическим методом при сопутствующей вентиляции трахеи атмосферным воздухом. Качество проведенной децеллюляризации оценивали с использованием рутинных гистологических и иммуногистохимических методов исследования, количественное содержание ДНК определяли спектрофотометрически. Для статической рецеллюляризации и перфузионной рецеллюляризации целого органа в качестве модели для изучения поведения клеток на каркасе использовали мезенхимальные мультипотентные стромальные клетки с последующей оценкой метаболической активности клеток колориметрическим методом и их жизнеспособности – путем окрашивания кальцеином и гомодимером этидия. Для качественной оценки матрикса легких после рецеллюляризации использовали иммуногистохимический анализ. **Результаты.** 92% аллогенной ДНК удалено при проведении децеллюляризации. Гистологическое окрашивание не выявило остаточных клеток и клеточных ядер при сохранности волокон внеклеточного матрикса, что подтверждалось иммуногистохимической реакцией матрикса с антителами к ламинину, эластину, фибронектину, коллагенам I и IV типов до и после проведения децеллюляризации. Каркас при заселении клетками не проявляет токсических свойств, поддерживает жизнеспособность и метаболическую активность клеток. **Заключение.** Полученный опыт децеллюляризации и рецеллюляризации легких крысы является перспективной основой для разработки протоколов создания тканеинженерных легких.

Ключевые слова: децеллюляризация, рецеллюляризация, тканеинженерные легкие крысы.

EXPERIENCE OF PERFUSION RECELLULARIZATION OF BIOLOGICAL LUNG SCAFFOLD IN RATS

Е.В. Kuevda¹, Е.А. Gubareva¹, А.С. Sotnichenko¹, И.С. Gumenyuk¹, И.В. Gilevich^{1, 2},
И.С. Polyakov², В.А. Porhanov², С.Н. Alekseenko¹, P. Macchiarini¹

¹ International Research, Clinical and Education Center of Regenerative Medicine, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

² Scientific Research Institution – S.V. Ochapovsky Regional Clinical Hospital № 1, Krasnodar, Russian Federation

Aim. The main aim of our research is to evaluate the process of rat lung decellularization and recellularization as the initial step of tissue-engineered organs creation. **Materials and methods.** Rat lung decellularization was performed by perfusion with detergents and enzymes with concomitant atmospheric air ventilation through the trachea. The quality of decellularization was analyzed with routine histological and immunohistochemical staining techniques, DNA content was determined quantitatively by spectrophotometer. For static and whole organ

Для корреспонденции: Куевда Елена Вячеславовна. Адрес: 350063, г. Краснодар, ул. Седина, д. 4.
Тел. 8 (918) 935-17-60. E-mail: elenakuevda@yandex.ru.

For correspondence: Kuevda Elena Vyacheslavovna. Address: 4, Sedin St., Krasnodar, 350063, Russian Federation.
Tel. 8 (918) 935-17-60. E-mail: elenakuevda@yandex.ru.

reseeding as a model of cells' behavior mesenchymal multipotent stromal cells were used. Recellularization was followed by assessment of the cellular metabolic activity by colorimetric method; cell viability was analyzed by calcein and ethidium homodimer staining. Matrix qualitative evaluation after recellularization was performed using immunohistochemical staining methods. **Results.** 92% of allogeneic DNA was eliminated after decellularization. Histological staining revealed no residual cells and cell nuclei; preservation of the fibers of extracellular matrix was confirmed by immunohistochemical staining for laminin, elastin, fibronectin, collagen types I and IV before and after decellularization. The scaffold does not exhibit toxic properties after reseeding; cell viability and metabolic activity were proved after cultivation. **Conclusion.** The experience of rat lung decellularization and recellularization can be the prospective basis for protocols of organ recellularization and tissue engineered lungs creation.

Key words: decellularization, recellularization, rat tissue-engineered lungs.

ВВЕДЕНИЕ

Органная трансплантация на настоящий момент остается методом выбора при лечении пациентов с заболеваниями легких в терминальной стадии. Невозможность обеспечить донорским материалом одновременно всех пациентов в листе ожидания и этические проблемы, связанные с пересадкой трупных органов, приводят к росту летальности, обусловленной патологией со стороны легких и дыхательной системы в целом. Более того, в настоящее время описаны эффекты развивающейся хронической дисфункции пересаженных органов, снижающих пятилетнюю выживаемость после проведенной операции почти у 50% прооперированных больных [1]. На фоне постоянного увеличения числа больных в терминальной стадии дыхательной недостаточности перспективным методом лечения является пересадка тканеинженерных легких, децеллюляризованных, а затем засеянных аутологичными клетками реципиента [2].

Техническая сложность выполнения процесса децеллюляризации с последующей рецеллюляризацией требует проведения продолжительных доклинических исследований на мелких и крупных животных моделях с соблюдением установленных этических норм и правил. На настоящий момент предпочтение отдается децеллюляризованным биологическим каркасам, полностью лишенным клеточного и ядерного материала, не обладающим иммуногенностью и не требующим применения пожизненной иммуносупрессивной терапии [3, 4]. В качестве клеточного ресурса для рецеллюляризации легких широко используются как эндотелиальные и эпителиальные клетки, так и эмбриональные стволовые клетки, мезенхимальные мультипотентные стромальные стволовые клетки (ММСК), индуцированные плюрипотентные стволовые клетки [5].

В данной статье представлен опыт проведения децеллюляризации и рецеллюляризации легких крысы в качестве доклинического этапа создания тканеинженерных легких на модели мелких лабораторных животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Децеллюляризация легких крысы с последующей оценкой качества каркаса

Децеллюляризацию легких выполняли перфузионным детергент-энзиматическим методом в сочетании с вентиляцией атмосферным воздухом через трахею, согласно разработанной нами методике, на 30 взрослых беспородных крысах-самцах весом 200 ± 20 г. [3]. Процедуру забора органокомплексов «сердце-легкие» и последующие исследования на животных проводили в лаборатории Международного научно-исследовательского клиничко-образовательного центра регенеративной медицины на базе Кубанского государственного медицинского университета после одобрения протокола исследования локальным этическим комитетом (протокол № 21/1). После эксплантации органокомплекс очищали от жировой клетчатки, промывали раствором фосфатного буфера, канюлировали на расстоянии 2,5–3 см от устья легочной артерии и фиксировали в биореакторе для последовательной перфузии растворами детергентов и ферментов. Процесс децеллюляризации легких начинали с использования 1% раствора пенициллина-стрептомицина в фосфатном буфере в течение 1 часа; затем органокомплекс перфузировали деионизированной водой 1 час; 1% водным раствором дезоксихолата натрия с добавлением 0,002М натриевой соли ЭДТА – 2 часа; деионизированной водой – 30 мин; 0,1% раствором Тритона X-100 в течение 1 часа; 1% раствором пенициллина-стрептомицина в фосфатном буфере – 1 час, свиной панкреатической ДНКазой I (2000 ЕД фермента на 200 мл фосфатного буфера с добавлением кальция и магния) – 3 часа. Общая продолжительность децеллюляризации составила 23 часа [6]. Вентиляцию легких атмосферным воздухом через трахею выполняли одновременно с перфузией легочной артерии с помощью системы Harvard Inspira Advanced Safety Ventilator (Harvard Apparatus, Масачусетс, США). Качество проведенной децеллюляризации оценивали при проведении гистологи-

ческого окрашивания и иммуногистохимического анализа, а также путем количественного определения содержания ДНК до и после проведения перфузии. Содержание гликозаминогликанов и эластических волокон внеклеточного матрикса (ВКМ) после децеллюляризации оценивали качественно после окрашивания срезов альциановым синим и пикрофуксином по Ван-Гизону. Содержание остальных белков ВКМ определяли при проведении иммуногистохимического анализа. Первичными антителами были выбраны мышинные моноклональные антитела к ламинину (1:100, ab 11575, Abcam, Англия), эластину (1:100, ab 21610, Abcam, Англия), фибронектину (1:100, ab 6328, Abcam, Англия) коллагену IV типа (1:100, ab 6586, Abcam, Англия), коллагену I типа (1:100, ab 34710, Abcam, Англия). Количественное определение содержания ДНК выполняли на спектрофотометре NanoDrop ND-1000 (Thermo Fisher Scientific Inc., США) с использованием набора реагентов (Dneasy Blood and Tissue Kit, Qiagen, Швеция) по протоколу фирмы-изготовителя.

Рецеллюляризация легких крысы с последующей оценкой качества каркаса

Для оценки биосовместимости каркаса использовали статический метод рецеллюляризации с последующим выполнением ХТТ-теста через 48 часов культивирования в CO₂-инкубаторе. Способность каркаса поддерживать клеточный рост также изучали при статическом заселении каркасов легких крысы после проведения дифференциального окрашивания живых и погибших клеток с использованием набора LIVE/DEAD® Viability/Cytotoxicity Kit (Molecular Probes, США) согласно инструкции производителя. Рецеллюляризацию целого органа проводили в модифицированном биореакторе Harvard Apparatus (Harvard Apparatus, Массачусетс, США), обеспечивающем стерильные условия для проведения процедуры. Однако указанный прибор не позволяет поддерживать постоянную концентрацию CO₂ на протяжении всей рецеллюляризации. В целях обеспечения необходимых условий для жизнедеятельности клеток биореактор помещали в CO₂-инкубатор. Непосредственно перед перфузией питательной среды проводили асептическую обработку каркаса последовательной перфузией через легочную артерию 10% этанола в фосфатном буфере, собственно фосфатным буфером PBS +/- с 1% раствором антибиотика-антимикотика и средой для культивирования ММСК в течение 7 ч. Для моделирования поведения клеток на биологических каркасах легких были выбраны ММСК, полученные из костного мозга крыс. Указанные

клетки культивировали до получения 4-го пассажа, снимали с флакона, центрифугировали и получали суспензию клеток согласно стандартным методикам [7, 8]. Суспензию клеток вводили однократно в общий объем 100 млн клеток. Смену среды производили каждые трое суток, общее время рецеллюляризации составило 7 дней. Принадлежность к ММСК клеток, использованных при заселении каркасов, была верифицирована путем индукции дифференцировки в три клеточные линии с помощью специализированных сред StemPro (Gibco, Thermo Fisher Scientific Inc., США) по стандартному протоколу производителя с последующей качественной детекцией [9]. Адипогенную дифференцировку выявляли с помощью красителя Oil Red O, хондрогенную – при окрашивании толуидиновым синим сульфатированных гликозаминогликанов, кальцификацию ВКМ при остеогенной дифференцировке определяли при окрашивании ализариновым красным. Морфологическую характеристику рецеллюляризованного матрикса проводили после окрашивания гематоксилином и эозином и флуорофором (4',6-диамидино-2-фенилиндола) DAPI. Иммуногистохимическое окрашивание с флуорохромной детекцией позволило качественно определить содержание эндотелиального маркера VEGF и актина в образцах засеянного матрикса легких. В качестве первичных были использованы антитела к VEGF (1:200, ab 46154, Abcam, UK) и актину (1:100, ab 14128, Abcam, UK), в качестве вторичных – поликлональные козы антитела к кроличьему иммуноглобулину (Alexa Fluor® 488, Life Technologies, NY, USA) в разведении 1:500 (ab 150077, Abcam, UK). Детекцию флуоресценции производили на микроскопе Olympus IX51 (Токио, Япония). Количество клеток, прикрепившихся к каркасу в процессе рецеллюляризации, определяли и верифицировали с помощью программы CellProfiler [10].

Статистический анализ

Статистическая обработка полученного материала произведена с использованием пакета программ MS Excel, v6.0, GraphPadPrism version 6.04 (источник www.graphpad.com). Результаты исследований оценены с использованием t-критерия Стьюдента. Доверительный интервал рассчитывался по таблице распределения Стьюдента. Достоверными признавались различия при значениях $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Морфологическое исследование образцов децеллюляризованных легких не выявило значимого повреждения альвеолярной структуры после проведения децеллюляризации. При окраске гематок-

силином и эозином интактные клетки и клеточные ядра не визуализировались, что подтверждалось данными, полученными при окраске флуорофором DAPI. Окрашивание пикрофуксином по Ван-Гизону показало сохранность коллагеновых волокон ВКМ без патологических изменений структуры. Позитивное окрашивание срезов как нативных, так и децеллюляризированных легких свидетельствует о наличии слабокислых сульфатированных гликозаминогликанов даже после воздействия растворов детергентов. Иммуногистохимическое окрашивание не выявило качественных изменений структуры компонентов ВКМ по сравнению с нативными образцами: коллаген I типа и эластин выявлялись преимущественно в строме, в то время как коллаген IV типа, фибронектин и ламинин представлены в базальных мембранах сосудов и бронхов. Количественное определение содержания остаточной ДНК подтверждало высокое качество децеллюляризации: около 92% ДНК элиминируется в процессе обработки (от $581,03 \pm 18,42$ нг/мг в нативной ткани до $24,73 \pm 0,82$ нг/мг – в децеллюляризированных образцах, $p = 0,0467$).

Клетки, использованные для рецеллюляризации децеллюляризированных биологических каркасов легких, при культивировании в специализирован-

ных средах позитивно окрашивались красителями Oil Red O, толуидиновым синим и ализариновым красным, что характерно для морфологической характеристики прошедшей дифференцировки в три клеточные линии [11]. Указанная способность индуцированной дифференцировки является неотъемлемым признаком ММСК, что позволяет верифицировать принадлежность использованных в процессе рецеллюляризации клеток к мезенхимным клеткам (рис. 1).

Количественное определение наличия живых, метаболически активных клеток на засеянном каркасе выполнено с использованием набора для оценки пролиферации клеток, содержащего раствор соли 2,3-бис-(2-метокси-4-нитро-5-сульфопенил)-2Н-тетразолия-5-карбоксанилида (ХТТ). Каркас не является токсичным, поддерживает клеточный рост и пролиферацию ($p = 0,0024$) (рис. 2). Наличие жизнеспособных клеток после культивирования на децеллюляризированном каркасе также выявляли при дифференциальном окрашивании кальцеином (живые клетки) и гомодимером этидия (погибшие клетки) (рис. 3). Гистологические исследования после завершения процесса рецеллюляризации целого органа позволили оценить равномерность распределения клеток. Согласно результатам окрашивания

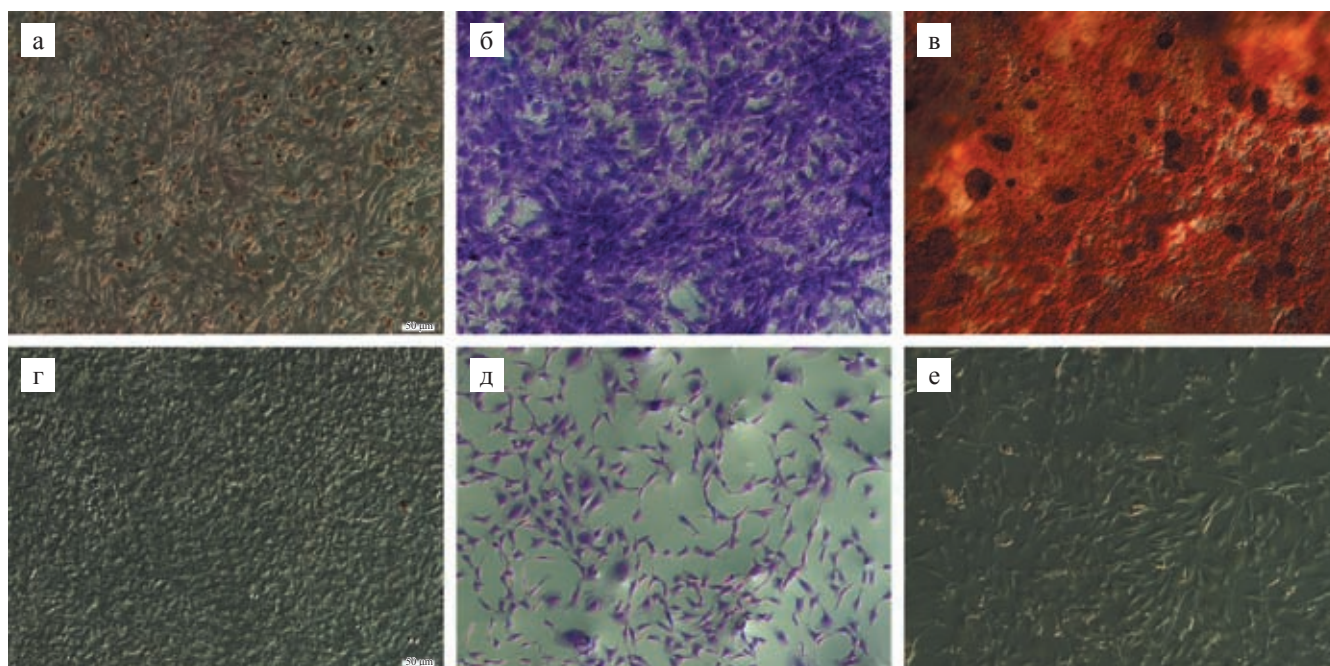


Рис. 1. Адипогенная, хондрогенная и остеогенная дифференцировка ММСК, пассаж 9. Липидные капли окрашены красным с использованием Oil Red O (а); толуидиновый синий окрашивает ВКМ в фиолетовый цвет в процессе хондрогенной дифференцировки (б); кальциевые депозиты визуализируются ализариновым красным в виде красных пятен (в); контроль спонтанной дифференцировки в адипоциты (г), хондроциты (д), остеобласты (е). Увеличение: об. $\times 10$; ок. $\times 10$

Fig. 1. Adipogenic, chondrogenic and osteogenic differentiation of MSCs, passage 9. The lipid droplets stained red with Oil Red O (a); toluidine blue stains ECM violet in chondrogenic differentiation (b); calcium deposits visualized as red spots with Alizarin red (v); control of spontaneous differentiation into adipocytes (r), chondrocytes (д), osteoblasts (е). Magnification $\times 10$

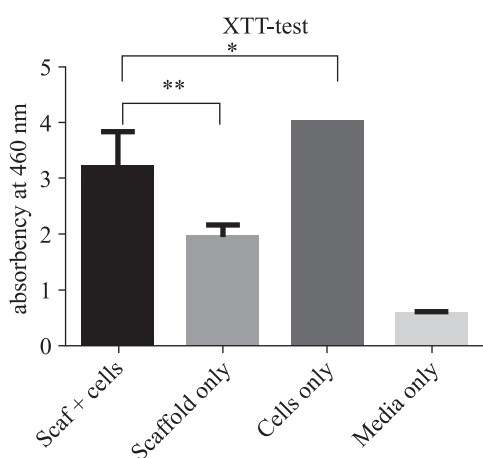


Рис. 2. Результаты ХТТ-теста. Метаболическая активность клеток, заселенных на каркас, сопоставима с пролиферацией клеток в контрольном образце и достоверно отличается от результатов исследования каркаса без клеток ($p = 0,0024$)

Fig. 2. Results of XTT assay. Metabolic activity of the cells seeded on the scaffold is comparable to the proliferation of cells in a control group and is significantly different from the results of the investigation of the scaffold without cells ($p = 0.0024$)

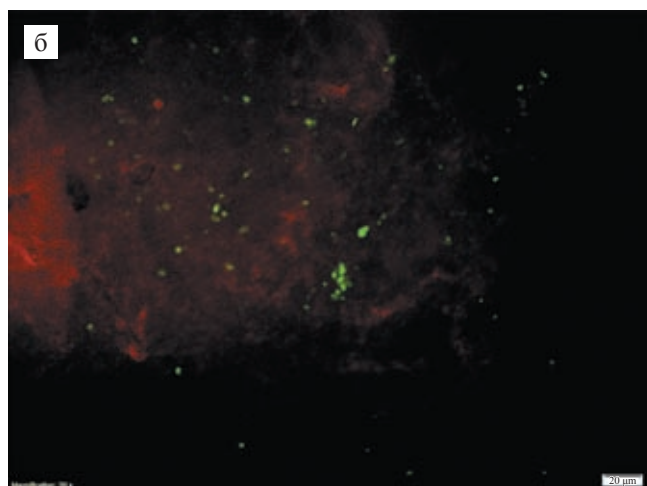
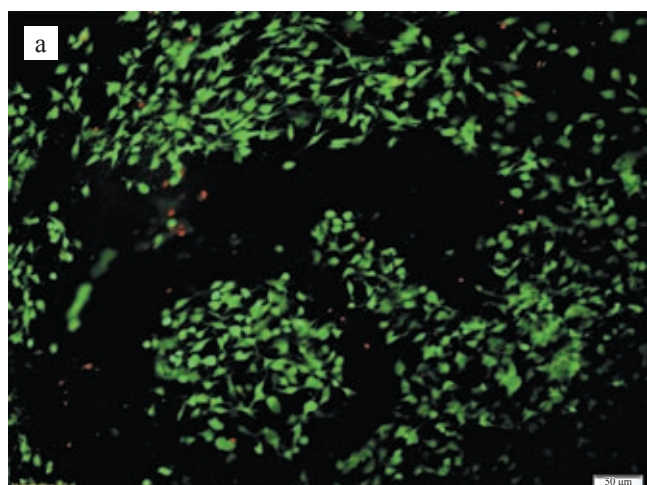


Рис. 3. Оценка жизнеспособности клеток на биологическом каркасе легкого крысы. Окрашивание кальцеином (зеленый) и гомодимером этидия (красный). Увеличение: а – об. $\times 10$; ок. $\times 10$; б – об. $\times 20$; ок. $\times 10$

Fig. 3. Estimation of cell viability on rat lung biological scaffold. Calcein staining (green) and ethidium homodimer staining (red). Magnification: а – об. $\times 10$; ок. $\times 10$; б – об. $\times 20$; ок. $\times 10$

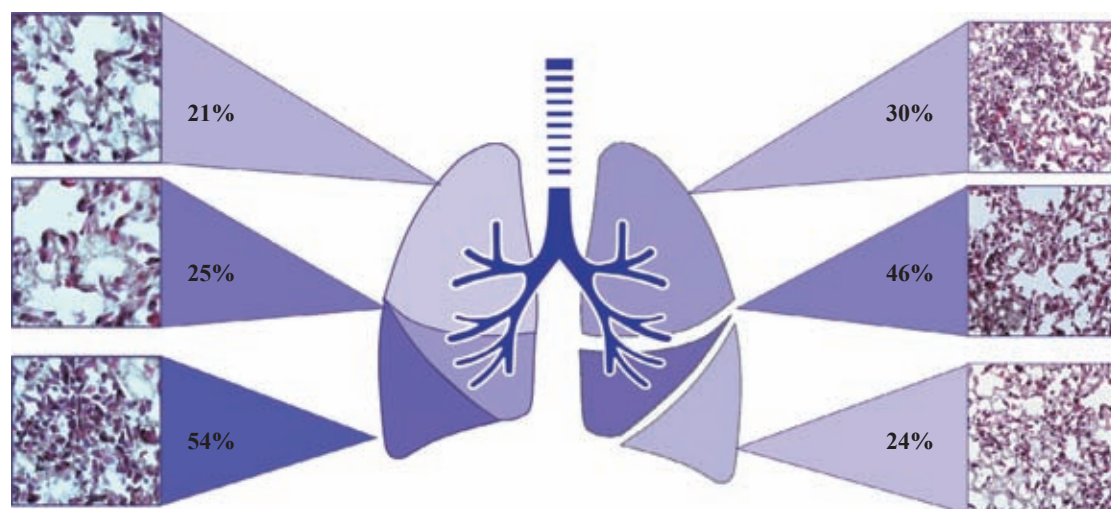


Рис. 4. Распределение клеток при заселении целого органа после 7 дней культивирования

Fig. 4. Cells distribution in whole organ reseeding process after 7 days of cultivation

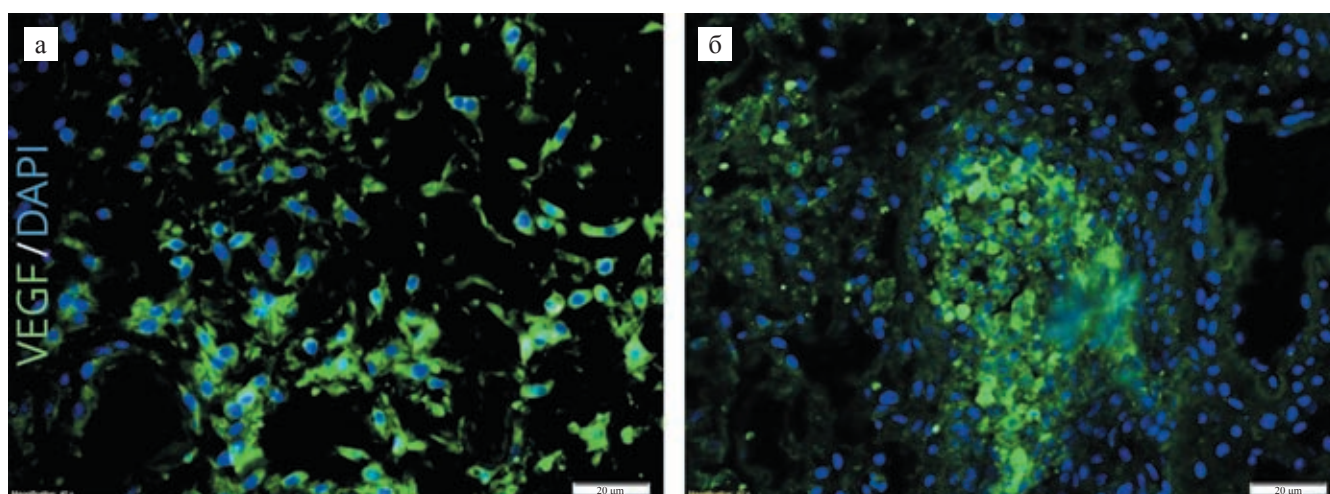


Рис. 5. Содержание VEGF в левом (а) и правом (б) легком после 7 суток рецеллюляризации. Увеличение: об. $\times 40$; ок. $\times 10$

Fig. 5. VEGF content in the left (a) and right (б) lungs after recellularization. Magnification $\times 40$

гематоксилином и эозином, клетки проникли вглубь каркаса с преимущественным заселением базальных отделов легких (рис. 4). Распределение клеток верифицировано подсчетом количества клеточных ядер в программе CellProfiler. Флуоресцентное иммуногистохимическое окрашивание цитоскелета после рецеллюляризации позитивно для актина и маркера ангиогенеза VEGF.

ОБСУЖДЕНИЕ

Создание тканеинженерного органа основывается на децеллюляризации биологического каркаса с последующей рецеллюляризацией аутологичными клетками реципиента. Обязательным результатом первого этапа является максимально полное удаление клеток с целью снижения иммуногенности каркаса при сохранении биохимического состава, морфо-биомеханических свойств и трехмерной структуры [12]. Рутинные гистологические и иммуногистохимические методы окрашивания, а также количественное определение содержания ДНК в нашем исследовании подтверждают отсутствие клеточных ядер и ядерного материала в децеллюляризованном матриксе легких крысы. Основные структурные белки ВКМ (ламинин, фибронектин, эластин и коллагены I и IV) сохраняются после обработки детергентами без качественного изменения состава. Статистически значимое снижение содержания ДНК в образцах после децеллюляризации полностью соответствует предложенным критериям оценки качества полученного каркаса (содержание остаточной ДНК – менее 50 нг/мг ткани) [13].

Успешное завершение первого этапа исследования позволило приступить к рецеллюляризации

полученного биологического каркаса легких как в статичных условиях (тестирование токсических свойств каркаса и способности поддерживать пролиферативную активность клеток), так и при заселении целого органа с использованием аллогенных ММСК костного мозга крыс. Результаты ХТТ-теста и исследования пролиферативной способности клеток на каркасе позволили сделать вывод об отсутствии цитотоксических свойств полученного матрикса. Более того, клетки не только прикрепляются к волокнам ВКМ, но и сохраняют жизнеспособность в процессе культивирования, проявляя метаболическую активность. Рецеллюляризация целого органа демонстрирует относительную равномерность распределения клеток на каркасе с некоторым преобладанием в базальных отделах легких. Результаты иммуногистохимического окрашивания позволяют говорить о некотором увеличении содержания маркера VEGF после рецеллюляризации каркаса, что говорит о его проангиогенных свойствах (рис. 5).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленный опыт децеллюляризации легких крысы подтверждает перспективность использования данного метода получения для биологических каркасов, потенциально не обладающих иммуногенностью, но сохраняющих трехмерную структуру, качественный и количественный состав ВКМ нативных органов. Успешная рецеллюляризация децеллюляризованных легких свидетельствует о биосовместимости и способности указанных каркасов обеспечивать надлежащее микроокружение и поддерживать клеточный рост на примере заселения их ММСК. Представляется целесообразным

продолжить исследование с использованием дифференцированных клеточных линий или индукцией клеточной дифференцировки для воссоздания структуры нативных легких.

Работа выполнена при поддержке государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации (от 28.01.2015 г., ч. 1, раздел 1) «Разработка экспериментальных образцов тканеинженерных конструкций на основе децеллюляризованных матриц для применения в регенеративной медицине».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Gilpin SE, Ott HC. Using Nature's Platform to Engineer Bio-Artificial Lungs. *Annals ATS*. 2015; 12 (1): 45–49.
2. Badylak SF, Taylor D, Uygun K. Whole-organ tissue engineering: decellularization and recellularization of three-dimensional matrix scaffolds. *Annu Rev. Biomed. Eng.* 2011; 13: 27–53.
3. Кувда ЕВ, Губарева ЕА, Сотниченко АС, Гилевич ИВ, Гуменюк ИС, Поляков ИС и др. Детергентно-энзиматический метод децеллюляризации легких крысы. Морфологическая оценка матрикса. *Современные проблемы науки и образования*. 2015; 3; URL: www.science-education.ru/123-17759. Kuevda EV, Gubareva EA, Sotnichenko AS, Gilevich IV, Gumenyuk IS, Polyakov IS et al. Detergent-enzymatic method of rat lung decellularization. Matrix morphological evaluation. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern problems of science and education*. 2015; 3; URL: www.science-education.ru/123-17759. [In Russ, English abstract].
4. O'Neill JD. Decellularization of human and porcine lung tissues for pulmonary tissue engineering. *Ann Thorac Surg*. 2013; 96: 1046–1056.
5. Tsuchiya T, Sivaramapana A, Rocco K, Nanashima A, Nagayasu T, Niklason LE. Future prospects for tissue engineered lung transplantation. Decellularization and recellularization-based whole lung regeneration. *Organogenesis*. 2014; 10 (2): 196–207.
6. Patent RF № 2547799 / 16.03.2015. P Macchiarini, EA Gubareva, EV Kuevda, IV Gilevich, Ph Jungebluth. Sposob sozdaniya bioinzhenernogo karkasa legkogo krysy // Patent Rossii № 2547799. 24.12.2013.
7. Jungebluth Ph, Haag JC, Sjöqvist S, Gustafsson Y, Rodríguez AB, Del Gaudio C et al. Tracheal tissue engineering in rats. *Nature protocols*. 2014; 9 (9): 2164–2179.
8. Baiguera S, Del Gaudio C, Lucatelli E, Kuevda E, Boieri M, Mazzanti B et al. Electrospun gelatin scaffolds incorporating rat decellularized brain extracellular matrix for neural tissue engineering. *Biomaterials*. 2014; 35: 1205–1214.
9. Shachpazyan NR, Astrelina TA, Yakovleva MV. Mesenchymal stem cells from various human tissues: biological properties, assessment of quality and safety for clinical use. *Kletochnaja transplantologiya i tkanevaya inzheneriya = Cells transplantation and tissue engineering*. 2012; 7 (1): 23–33. [In Russ, English abstract].
10. Lamprecht MR, Sabatini DM, Carpenter AE. CellProfiler: free, versatile software for automated biological image analysis. *Biotechniques*. 2007; 42 (1): 71–75; PMID: 17269487.
11. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006; 8 (4): 315–317; doi:10.1080/14653240600855905; PMID: 16923606.
12. Gilbert TW, Sellaro TL, Badylak SF. Decellularization of tissues and organs. *Biomaterials*. 2006; 27: 3675–3683.
13. Gilbert TW. Strategies for tissue and organ decellularization. *J. Cell Biochem*. 2012; 113 (7): 2217–2222.

*Статья поступила в редакцию 25.11.2015 г.
The article was submitted to the journal on 25.11.2015*

DOI: 10.15825/1995-1191-2016-1-45-52

ВЛИЯНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА НА РАЗВИТИЕ ПОСТТРАНСПЛАНТАЦИОННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ПОЧКЕ

Н.А. Онищенко¹, С.С. Мещерин¹, И.М. Ильинский^{1, 2}, В.И. Севастьянов¹

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

² Кафедра трансплантологии и искусственных органов ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова», Москва, Российская Федерация

Цель исследования: на модели аутотрансплантации почки (АТП) изучить влияние различных доз аутологичных МСК КМ на развитие хронической трансплантационной нефропатии в децентрализованной почке. **Материалы и методы.** На 105 крысах породы Вистар выполнено 5 групп экспериментов. В I, II и III группах была создана модель аутотрансплантации единственной почки путем ее хирургической децентрализации (денервация – делимфатизация) и индукции воспаления почечным аутоантигеном и адьювантом Фрейнда. I группа служила контролем децентрализации (контроль 1). Во II и III группах через 35–40 суток после операции внутривенно однократно вводили аутологичные МСК КМ: во II группе – высокую дозу ($3,0\text{--}5,0 \times 10^6$ клеток), а в III группе – низкую дозу ($0,3\text{--}0,5 \times 10^6$ клеток). IV группа – интактный контроль; V группа – интактный контроль + МСК КМ в той же дозе, как во II группе. В течение 3, 5 и 7–10 месяцев контролировали выделительную функцию почек (диурез, креатинин, мочевины, белок в крови и моче, экскреция натрия) и их морфологическое состояние. **Результаты.** Во всех 5 группах животных в исследуемых сроках эксперимента азотовыделительная функция почек не была нарушенной. При введении высоких доз МСК КМ после моделирования АТП, начиная с 3 мес., у всех крыс наблюдали резко выраженную протеинурию (в 3–3,5 раза больше, чем в I группе) и постепенное снижение диуреза; гистологически определялась выраженная очаговая клеточная инфильтрация, скопление белковых масс в просвете клубочков и канальцев. К 10-му месяцу развивался очаговый тубулоинтерстициальный склероз и склероз клубочков. При введении низких доз МСК КМ после моделирования АТП, начиная с 3 мес., протеинурия постепенно снижалась, достигая исходных значений к 5 и 7 мес. наблюдения; гистологически выявлялись редкие очаги клеточной инфильтрации вокруг клубочков. **Заключение.** Малые дозы МСК КМ при однократном применении способны оказать защитное десенсибилизирующее воздействие на ткань децентрализованной почки и пролонгировать сроки нормального функционирования почки без признаков выраженной деструкции, тогда как при тех же условиях высокие дозы аутологичных МСК КМ приводят к ускоренному развитию симптомов хронической трансплантационной нефропатии.

Ключевые слова: аутотрансплантация почки, моделирование децентрализации почки, хроническая трансплантационная нефропатия, МСК костного мозга.

INFLUENCE OF BONE MARROW MSCs ON THE DEVELOPMENT OF POSTTRANSPLANT CHANGES IN KIDNES

N.A. Onishchenko¹, S.S. Meshcherin¹, I.M. Ilyinsky^{1, 2}, V.I. Sevastianov¹

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, Department of transplantology and artificial organs, Moscow, Russian Federation

Aim: to study of influence of various doses of autologous BM MSCs on the development of chronic transplant nephropathy in a decentralized kidney using kidney autotransplantation model (KAT). **Materials and methods.**

Для корреспонденции: Мещерин Сергей Сергеевич. Адрес: 123182, г. Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. +7-963-644-96-36. E-mail: ssergeevi4@mail.ru.

For correspondence: Meshcherin Sergey Sergeevich. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Tel. +7-963-644-96-36. E-mail: ssergeevi4@mail.ru.

Five groups of experiments were performed on 105 Wistar rats. The model of kidney autotransplantation by means of surgical decentralization (denervation – delymphatization) and inflammation induction with kidney antigen and Freund's adjuvant was created in groups I, II and III. Group I served as a decentralization control (control 1). In groups II and III autologous BM MSCs were injected intravenously once 35–40 days after surgery – a high dose in group II: $3.0\text{--}5.0 \times 10^6$ cells; a low dose in group III: $0.3\text{--}0.5 \times 10^6$ cells; group IV served as intact control; group V served as intact control with the injection of the same dose of BM MSCs as in group II. Kidney excretory functions (diuresis, creatinine, urea, protein in blood and urine, sodium excretion) and morphology were examined during months 3, 5 and 7–10. **Results.** In all five groups over the study duration nitrogen excretion was not disrupted. High doses of BM MSCs after KAT modeling resulted after month 3 in pronounced proteinuria in all rats (3–3.5 times more than in group I) and gradually decreased diuresis; histologically severe focal cell infiltration and the accumulation of protein masses in lumina of glomeruli and tubules were observed. By month 10 glomerular and tubulointerstitial focal sclerosis was developed. Low doses of BM MSCs after KAT modeling led to gradual decrease of proteinuria after month 3 reaching the initial values by months 5 and 7 of observation; histologically rare foci of cellular infiltration around glomeruli were observed. **Conclusion.** A single application of low doses of BM MSCs is capable of protective desensitizing influence on the tissue of decentralized kidney and can prolong the duration of kidney function without signs of pronounced damage, while under the same conditions high doses of autologous BM MSCs lead to accelerated development of severe chronic transplant nephropathy.

Key words: kidney autotransplantation, kidney decentralization modeling, chronic transplant nephropathy, bone marrow MSCs.

ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация почки во всем мире признана оптимальным и единственно радикальным методом лечения терминальной хронической почечной недостаточности. Между тем численность реципиентов с длительно функционирующими трансплантатами (10 лет и более) во всем мире до сих пор остается чрезвычайно низкой [1].

Установлено, что обязательным морфологическим признаком хронической трансплантационной нефропатии (ХТН) и основной причиной отдаленных потерь почечного трансплантата являются тубулоинтерстициальный склероз (ТИС) и атрофия канальцев. К наиболее специфичному, хотя и непостоянному признаку относят также хроническую трансплантационную гломерулопатию (ХТГ) [2].

По-видимому, на отдаленных сроках после аллотрансплантации на почку продолжают действовать два фактора: гистонесовместимость трансплантата и децентрализация (денервация – делимфатизация) почечного трансплантата, что способствует появлению признаков ХТН и сенсибилизирует трансплантат к повреждению при воздействии на него как специфических, так и неспецифических факторов [3].

Проведенные нами ранее эксперименты с децентрализацией единственной почки у мышей показали, что в организме длительно (на протяжении 10 месяцев) поддерживается и периодически активируется реакция иммунного воспаления в ответ на развитие в почке медленно прогрессирующего нейродистрофического процесса [4]. Имеющиеся в литературе данные о важной роли фактора децентрализации в развитии неспецифического иммунного воспаления почек, нарушений метаболизма

и отдельных ренальных функций (снижение АТФ, снижение канальцевой реабсорбции натрия) [5] не позволяют, однако, ответить на вопрос о вкладе децентрализации в процесс морфологических изменений почек на отдаленных сроках после трансплантации.

В последние годы стали интенсивно изучать возможность использования мезенхимальных стволовых клеток (МСК) аутологичного костного мозга (КМ) для модуляции иммунного ответа и предотвращения развития деструктивных изменений в трансплантированных почках [6, 7], в том числе их фиброзирования [8, 9]. Использовали две концентрации аутологичных МСК КМ крыс: высокую ($3,0\text{--}5,0 \times 10^6$ клеток) – для индукции репаративной регенерации почек при их остром или хроническом повреждении без нарушения их нейроиммунорегуляторной регуляции [10, 11]; низкую ($0,3\text{--}0,5 \times 10^6$ клеток) – для регуляторного воздействия на местном (тканевом и метаболическом) уровне [9]. Однако исследований влияния МСК КМ на функционально-морфологическое состояние почек на модели аутоотрансплантации, когда действует лишь один фактор – децентрализация почки, выполнено не было.

Цель работы состоит в изучении на модели аутоотрансплантации почки влияния различных доз аутологичных МСК КМ на развитие хронической трансплантационной нефропатии в децентрализованной почке.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 105 крысах-самцах породы Вистар с исходной массой 120–160 г, содержащихся в виварии ФГБУ «ФНЦТИО им. ака-

демика В.И. Шумакова» Минздрава России на смешанном рационе питания со свободным доступом к воде при температуре 18–20 °С. Эксперименты на животных проводились с учетом этических принципов гуманного использования животных в экспериментах.

Было выполнено 5 групп хронических экспериментов. В трех группах (по 25 крыс в каждой) была создана модель аутотрансплантации единственной почки путем ее хирургической децентрализации (денервация – делимфатизация) и индукции воспаления почечным аутоантигеном и адьювантом Фрейнда. I группа служила контролем децентрализации (контроль 1). Во II и III группах через 35–40 суток после операции внутривенно однократно вводили аутологичные МСК КМ: во II группе – $3,0\text{--}5,0 \times 10^6$ клеток, а в III группе – $0,3\text{--}0,5 \times 10^6$ клеток. IV группу ($n = 15$) составили интактные животные (контроль 2); в V группе ($n = 15$) интактным животным внутривенно однократно вводили МСК КМ, как и во II группе, в большой дозе – $3,0\text{--}5,0 \times 10^6$ клеток, контроль 3.

Моделирование аутотрансплантации почки (АТП) включало 2 этапа.

Этап 1. Под эфирным наркозом в положении на спине выполняли срединную лапаротомию, левостороннюю нефрэктомию. Затем приступали к децентрализации правой почки. Для этого правую почку выделяли из забрюшинных тканей, тупым и острым путем выполняли прецизионную диссекцию нервных и лимфатических путей в области ворот почки и примыкающих к воротам тканей почки. Диссекция нервных и лимфатических путей при этом достигалась не только путем хирургического разрушения и удаления адвентиции и клетчатки, окутывающих почечную артерию, вену и мочеточник в области ворот почки. Проводили также частичное удаление капсулы почки в области ворот и до зоны, включающей ее полюса в радиусе 7–10 мм. Такая хирургическая техника повышает надежность хирургической денервации и делимфатизации почки, так как дополнительно прерываются все макроскопически видимые и невидимые нервные лимфатические пути без применения электрокоагуляционного выжигания клетчатки и лимфатических путей в области ворот почки и на ее поверхности (рис. 1).

Этап 2. Спустя 7–10 суток после моделирования АТП проводили иммунизацию животного путем 3-кратного введения водно-солевого почечного аутоантигена. Для этого готовили экстракт из целой удаленной левой почки животного в 3–4 мл физиологического раствора, смешивали с неполным адьювантом Фрейнда в отношении 1:1. Экстракт делили на три порции и вводили в подкожную клетчатку четырех лапок трехкратно через каждые 7–10 дней

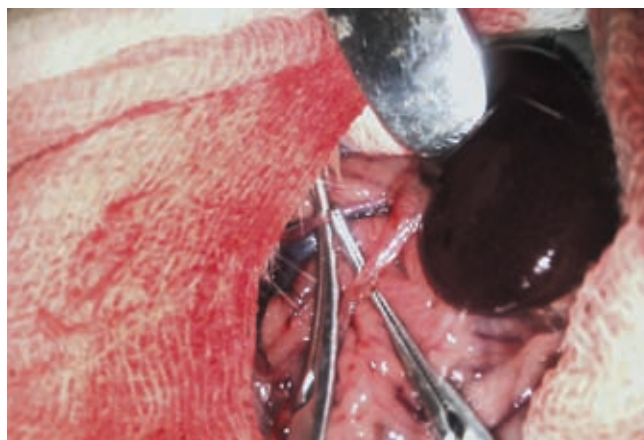


Рис. 1. Этап операции децентрализации (денервации – делимфатизации) почки

Fig. 1. Surgery of kidney decentralization stage (denervation – delymphatisation)

(по 1,8–2,0 мл смеси водно-солевого раствора антигена с адьювантом Фрейнда в отношении 1:1 с суммарным содержанием белка 35 мг/мл). После подкожного введения раствора почечного антигена и адьюванта Фрейнда место инъекции в течение 30 секунд умеренно прижимали антисептическим спиртовым шариком с целью исключения обратного тока жидкости, после чего обрабатывали раствором повидон-йода. Иммунизацию проводили с целью активации иммунного ответа на децентрализацию.

Через 7–10 суток после завершения иммунизации, или через 35–40 суток после моделирования АТП, под эфирным наркозом внутривенно (в хвостовую вену) вводили заранее выделенные культивированные МСК аутологичного КМ в количестве $3,0\text{--}5,0 \times 10^6$ клеток (II группа и V группа) или $0,3\text{--}0,5 \times 10^6$ клеток (III группа) в 1 мл физиологического раствора. Заготовку аутологичного костного мозга проводили за 1 неделю до хирургического моделирования АТП под эфирным наркозом из костномозгового канала двух бедренных костей. Очистку и получение культуры МСК КМ осуществляли по стандартной методике [12].

На сроках 3, 5, 7 и 10 месяцев после моделирования АТП в I, II и III группах опытов, а также в IV и V группах измеряли суточный диурез, рассчитывали экскрецию натрия с мочой, определяли содержание белка в суточной моче по Лоури, а также содержание креатинина и мочевины в плазме крови общепринятыми лабораторными методами.

Кроме того, проводили морфологические исследования ткани почек. Для этого ткань почек разрезали на кусочки размером $3 \times 4 \times 5$ мм, фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, затем заливали в парафин по общепринятой методике. Депарафинизированные срезы окрашивали гематоксилином и эозином.

Статистическую обработку результатов биохимических исследований производили на персональном компьютере с использованием специального статистического пакета Biostat. Достоверность различий в сравниваемых группах оценивали по t-критерию Стьюдента. Различия считались достоверными при $p < 0,05$. М – среднее значение; m – ошибка среднего значения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования некоторых показателей функции почек в I (контроль 1), II, III, IV (контроль 2) и V (контроль 3) группах экспериментов на сроках 1–7 месяцев представлены в таблице.

Из таблицы следует, что децентрализованные почки в I, II и III группах на протяжении 7 месяцев сохраняют свою основную гомеостатическую функцию – выведение азотистых шлаков из организма (уровень креатинина и мочевины в крови поддерживается в пределах нормальных значений). Между тем некоторые канальцевые функции почек

I и II групп по сравнению с исходными значениями и IV группой (контроль 2) были нарушены: повышена экскреция натрия с мочой, причем во II группе на фоне индукции регенераторных процессов высокими дозами МСК КМ она была повышена в достоверно большей степени (в 1,5–2 раза), чем в I группе, где было выполнено только моделирование АТП.

Примечательно, что в I группе, но особенно во II группе, при введении аутологичных МСК КМ в высоких дозах после моделирования АТП на всех сроках наблюдения имела место прогрессирующая протеинурия.

Особенно выражена она была во II группе наблюдений, где к 7 и 10 месяцам достигала значений $12,6 \pm 2,4$ и $15,1 \pm 1,4$ мг/сут на 100 г массы животного соответственно. В III группе при введении аутологичных МСК КМ в малых дозах экскреция белка с мочой вначале была не намного, но достоверно выше по сравнению с исходными фоновыми значениями. В IV группе (интактные животные,

Таблица

Некоторые показатели выделительной функции почек после моделирования аутотрансплантации почки в разных экспериментальных группах (М ± m)

The values of renal excretory function after kidney transplantation modeling in different experimental groups (M ± m)

Показатели	Группы	Исходные значения	Сроки наблюдения (месяцы)			
			1	3	5	7
Диурез, мл/сут/100 г	I (контроль 1)	$2,2 \pm 0,15$	$3,75 \pm 0,7^x$	$2,7 \pm 0,1$	$2,4 \pm 0,35$	$2,0 \pm 0,3$
	II		$3,8 \pm 0,2^{x, o)}$	$3,7 \pm 0,2^x$	$2,05 \pm 0,2$	$1,76 \pm 0,2^x$
	III		$3,6 \pm 0,25$	$2,4 \pm 0,17$	$2,35 \pm 0,2$	$2,25 \pm 0,1$
	IV (контроль 2)		$2,3 \pm 0,3$	$2,5 \pm 0,1$	$2,4 \pm 0,2$	$2,5 \pm 0,1$
	V (контроль 3)		$2,45 \pm 0,2$	$2,5 \pm 0,3$	$2,4 \pm 0,2$	$2,2 \pm 0,1$
Экскреция натрия с мочой, ммоль/сут/100 г	I (контроль 1)	$0,15 \pm 0,05$	$0,29 \pm 0,01^x$	$0,30 \pm 0,02^x$	$0,29 \pm 0,05^x$	$0,29 \pm 0,02^x$
	II		$0,26 \pm 0,07^x$	$0,40 \pm 0,04^{x, o)}$	$0,41 \pm 0,05^{x, o)}$	$0,41 \pm 0,05^{x, o)}$
	III		$0,24 \pm 0,01$	$0,20 \pm 0,02$	$0,21 \pm 0,03$	$0,19 \pm 0,03$
	IV (контроль 2)		$0,16 \pm 0,05$	$0,16 \pm 0,03$	$0,16 \pm 0,02$	$0,18 \pm 0,04$
	V (контроль 3)		$0,17 \pm 0,05$	$0,16 \pm 0,07$	$0,16 \pm 0,02$	$0,15 \pm 0,08$
Экскреция белка с мочой, мг/сут/100 г	I (контроль 1)	$0,5 \pm 0,4$	$1,7 \pm 0,3^x$	$2,2 \pm 0,7^x$	$3,2 \pm 0,2^x$	$3,6 \pm 0,5^x$
	II		$1,6 \pm 0,05^{x, o)}$	$7,2 \pm 0,1^{x, o)}$	$10,3 \pm 2,7^{x, o)}$	$12,6 \pm 2,4^{x, o)}$
	III		$1,8 \pm 0,2^x$	$2,0 \pm 0,2^x$	$1,25 \pm 0,3^o)$	$1,06 \pm 0,2^o)$
	IV (контроль 2)		$0,7 \pm 0,3$	$0,6 \pm 0,2$	$0,8 \pm 0,1$	$0,6 \pm 0,3$
	V (контроль 3)		–	–	–	–
Креатинин крови, мкмоль/л	I (контроль 1)	$59,2 \pm 9,2$	$59,3 \pm 7,4$	$54,6 \pm 8,8$	$57,4 \pm 11,7$	$59,8 \pm 15,0$
	II		$52,7 \pm 10,2$	$57,7 \pm 12,3$	$54,2 \pm 8,4$	$55,8 \pm 18,3$
	III		$58,8 \pm 12,2$	$55,0 \pm 10,4$	$52,3 \pm 10,3$	$57,4 \pm 15,4$
	IV (контроль 2)		$56,4 \pm 10,4$	$58,0 \pm 8,9$	$58,7 \pm 11,2$	$52,7 \pm 10,1$
	V (контроль 3)		$58,7 \pm 12,3$	$55,4 \pm 11,4$	$59,7 \pm 10,2$	$66,7 \pm 10,2$
Мочевина крови, ммоль/л	I (контроль 1)	$8,7 \pm 2,4$	$10,7 \pm 2,1$	$7,6 \pm 1,8$	$10,6 \pm 3,1$	$8,9 \pm 2,7$
	II		$7,8 \pm 3,1$	$8,2 \pm 2,2$	$7,8 \pm 2,4$	$7,8 \pm 2,1$
	III		$7,4 \pm 2,5$	$7,6 \pm 3,0$	$7,7 \pm 2,7$	$7,7 \pm 2,0$
	IV (контроль 2)		$9,7 \pm 2,4$	$8,3 \pm 2,1$	$9,5 \pm 1,8$	$9,2 \pm 1,43$
	V (контроль 3)		$10,8 \pm 3,0$	$9,2 \pm 3,1$	$9,5 \pm 3,4$	$10,1 \pm 3,1$

Примечание. ^{x)} – $p < 0,05$ по сравнению с исходным значением показателя; ^{o)} – $p < 0,05$ по сравнению с контролем 1 на том же сроке исследования.

контроль 2) выраженных отклонений от исходного уровня обнаружено не было, а в V группе (контроль 3) белок в моче вообще не был обнаружен.

На рис. 2, а–в, представлена динамика морфологических изменений в почках после моделирования АТП путем их децентрализации (I группа). Видно, что операция децентрализации сама по себе приводит к очаговым структурным изменениям почек по сравнению с интактным контролем (IV группа) (рис. 2, г).

В почках после моделирования АТП, но без введения МСК КМ (группа I) на всех сроках эксперимента отмечается незначительно выраженное полнокровие капиллярных петель и повышенная инфильтрация части клубочков лимфоцитами и полиморфно-ядерными лейкоцитами (рис. 2, а, б). Эпителий извитых канальцев в состоянии белковой дистрофии (рис. 2, в); отмечаются очаговые пери-

тубулярные и перигломерулярные лимфоцитарные инфильтраты.

Между тем во II группе, где наряду с моделированием АТП проводилось однократное внутривенное введение аутологических МСК КМ в высоких дозах, морфологические признаки тубулоинтерстициальной нефропатии становились отчетливо выраженными (рис. 3).

На представленных микрофотографиях видно, что клубочки одинакового размера. В отдельных клубочках отмечаются клетки воспалительного инфильтрата (лимфоциты, полиморфно-ядерные лейкоциты). Эпителий извитых канальцев в корковом слое (рис. 3, а) и собирательных трубочек в мозговом слое на всех сроках эксперимента в состоянии белковой дистрофии. Часть клубочков и канальцев расширена, выстлана уплощенным эпителием и заполнена гомогенной белковой эозинофильной жидкостью (рис. 3).

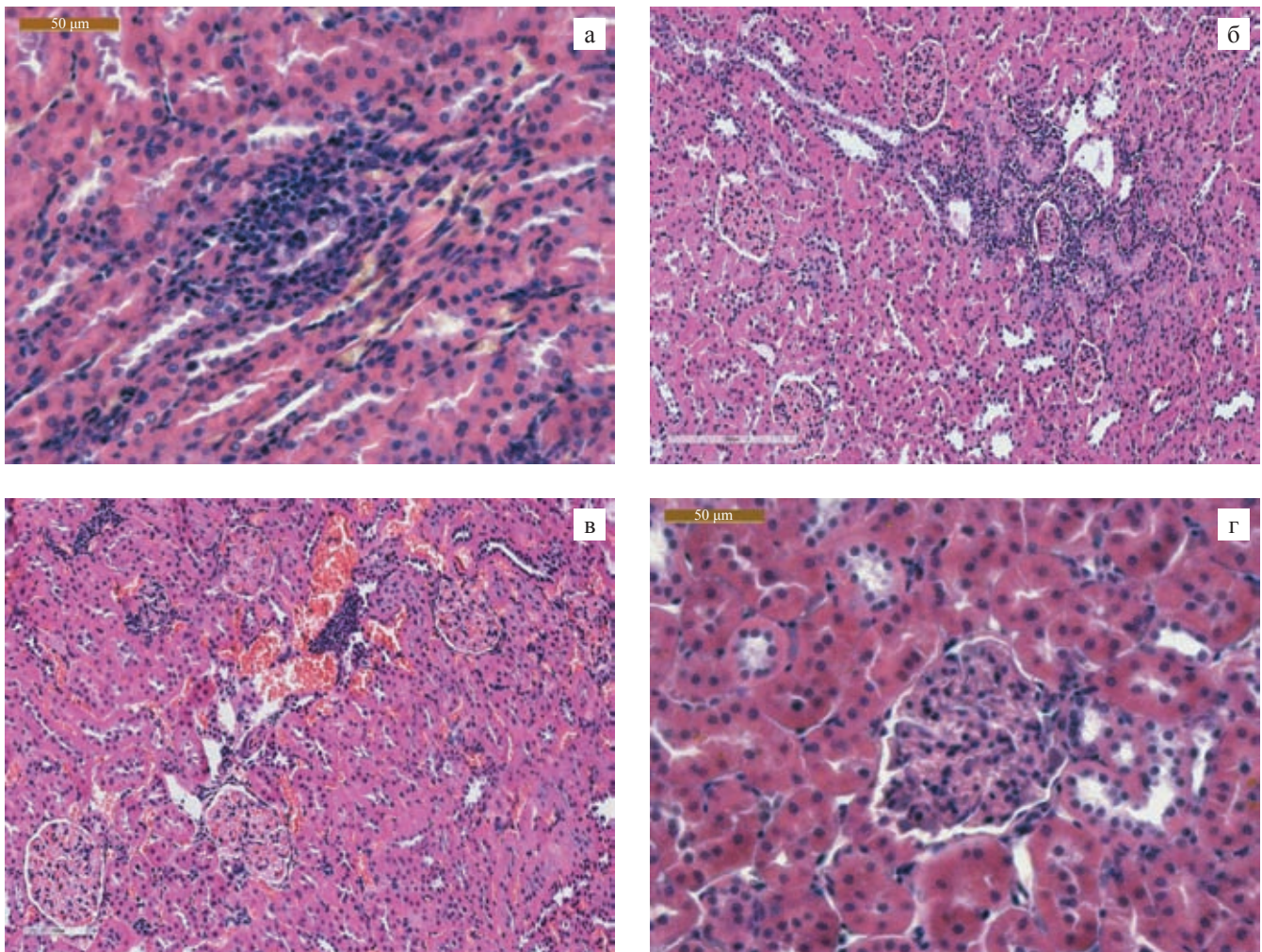


Рис. 2. Динамика морфологических изменений в почке при моделировании АТП путем ее децентрализации (денервация – делимфатизация) и индукции воспаления (почечный аутоантиген + адъювант Фрейнда по схеме), I группа опытов. Окраска гематоксилином и эозином: а – через 3 мес., $\times 400$; б – через 5 мес., $\times 100$; в – через 7 мес., $\times 200$; г – через 7 мес. – интактная почка (группа IV), $\times 400$

Fig. 2. Morphological changes in kidney after IRI modeling by decentralization (denervation – delymphatisation) and inflammation induction (kidney autoantigen and Freund's adjuvant by scheme). Haemotoxyline and eosine: а – after 3 months, $\times 400$; б – after 5 months, $\times 100$; в – after 7 months, $\times 200$; г – normal kidney after 7 months, $\times 400$

Количество таких канальцев и собирательных трубочек увеличивается по мере увеличения сроков наблюдения: канальцы дилатированы, заполнены белковыми массами (по-видимому, типа белка Тамма–Хорсфилла) (рис. 4, а–в).

Отмечаются также умеренно выраженные перитубулярные, перигломерулярные лимфоцитарные инфильтраты, что позволяет рассматривать их как проявление мембранозной гломерулопатии с признаками очагового тубулоинтерстициального склероза (рис. 4, в) и развивающегося склероза клубочков (рис. 4, г).

Таким образом, одноразовое введение высоких доз аутологичных МСК КМ после моделирования АТП при отсутствии фактора гистонесовместимости может индуцировать в почке изменения, типичные для аллогенной трансплантации на отдаленных сроках, которые возникают в клинике при длительном применении иммуносупрессивных препаратов или воздействии на почку других факторов, не связанных с иммуносупрессией [2].

При введении малых доз аутологичных МСК КМ ($0,3\text{--}0,5 \times 10^6$ клеток) после моделирования АТП (III группа) на всех исследуемых сроках (вплоть до 7 месяцев) деструктивные изменения почечной

ткани либо отсутствовали, либо встречались отдельные (редкие) очаги клеточной инфильтрации (рис. 5, а, б), без выраженных изменений функционального состояния почек (см. таблицу, III группа).

Полученные данные о позитивном влиянии малых доз МСК КМ на морфофункциональные показатели почки на отдаленных сроках после моделирования АТП находятся в соответствии с результатами, представленными в работе [7]. После пересадки почки, иммуносупрессии и введения крысам аутологичных МСК КМ в той же дозе и в аналогичные сроки авторы в течение 6 мес. наблюдали устранение протеинурии и лишь минимальные проявления интерстициального фиброза, атрофии канальцев и клеточной инфильтрации, что, по их мнению, являлось следствием иммуно- и геномодуляции, а также ингибирования введенными МСК КМ повреждения клеток.

Результаты клинко-морфологического исследования вклада фактора децентрализации в картину хронической трансплантационной нефропатии показывают, что децентрализация почки является фактором, резко сенсibiliзирующим ткань почки к токсическому повреждению. При длительном применении препаратов (например, иммуносупрес-

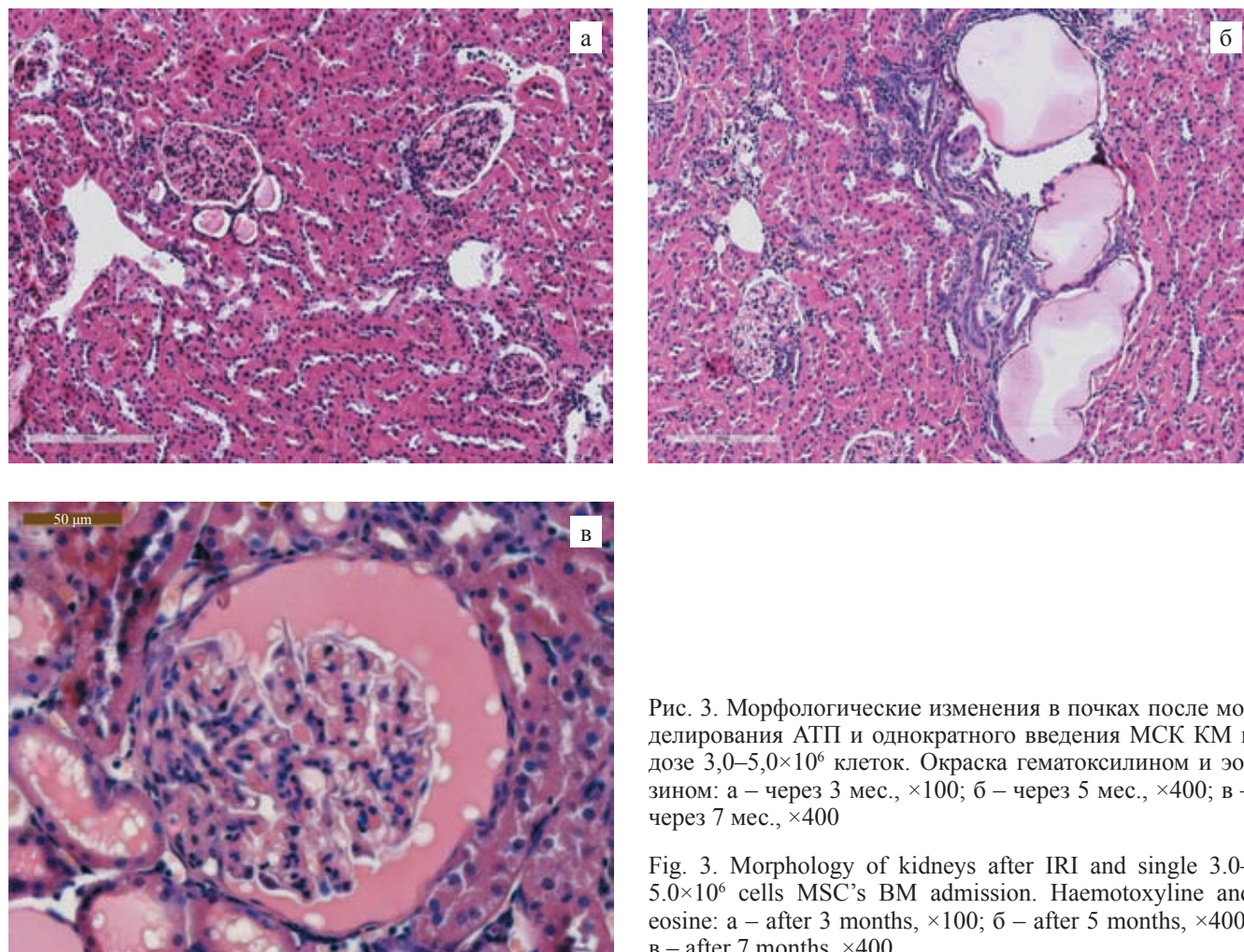


Рис. 3. Морфологические изменения в почках после моделирования АТП и однократного введения МСК КМ в дозе $3,0\text{--}5,0 \times 10^6$ клеток. Окраска гематоксилином и эозином: а – через 3 мес., $\times 100$; б – через 5 мес., $\times 400$; в – через 7 мес., $\times 400$

Fig. 3. Morphology of kidneys after IRI and single $3.0\text{--}5.0 \times 10^6$ cells MSC's BM admission. Haematoxyline and eosine: а – after 3 months, $\times 100$; б – after 5 months, $\times 400$; в – after 7 months, $\times 400$

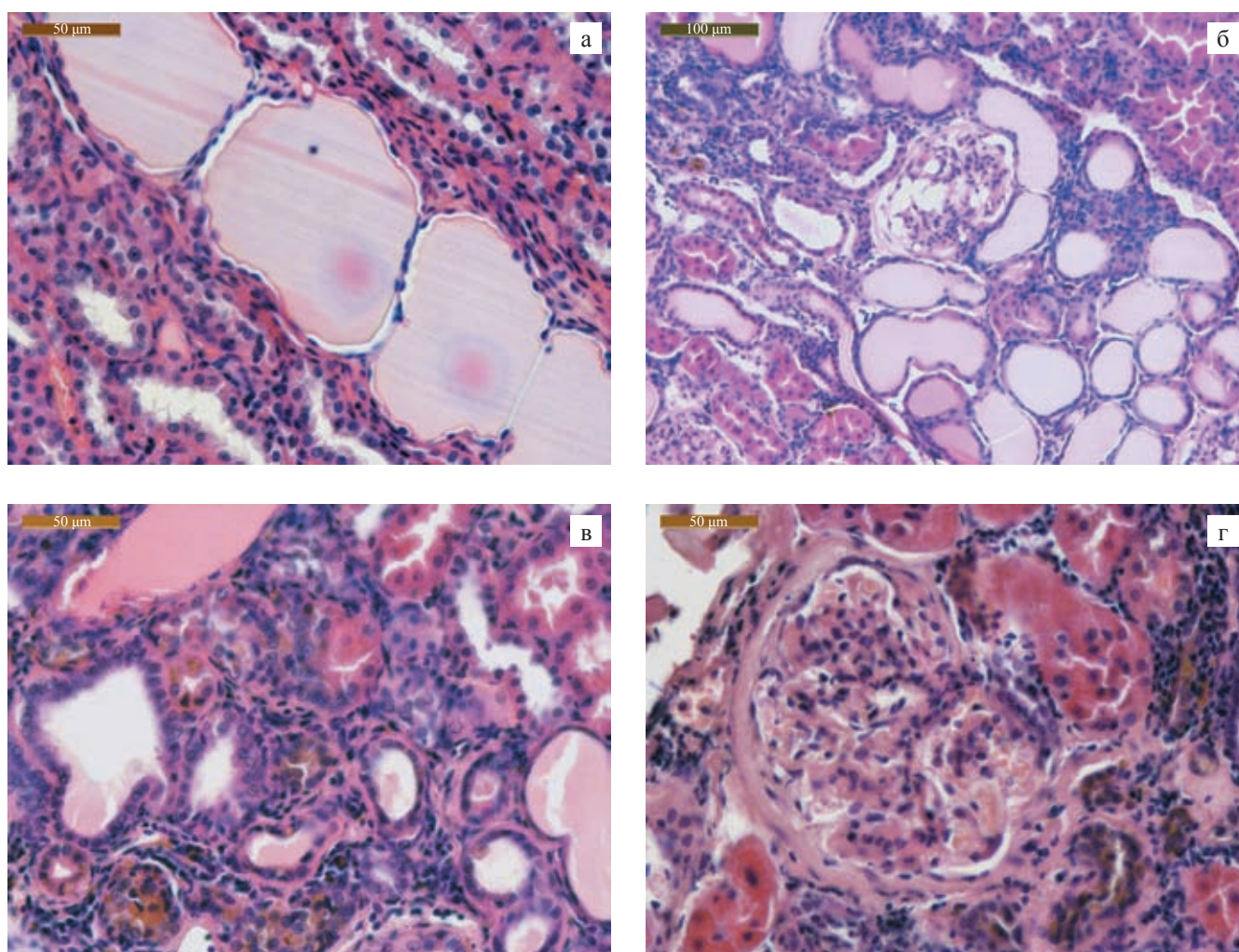


Рис. 4. Морфологическое состояние почек через 10 месяцев после моделирования АТП и однократного введения МСК КМ в дозе $3,0\text{--}5,0 \times 10^6$ клеток. Окраска гематоксилином и эозином: а – канальцы дилатированы, заполнены белковыми массами в виде кист, $\times 400$; б – «щитовидная почка», $\times 200$; в – клеточная инфильтрация, $\times 400$; г – склероз клубочков, $\times 400$

Fig. 4. Morphology of kidneys after 10 months of IRI and single $3.0\text{--}5.0 \times 10^6$ cells MSC's BM admission. Haemotoxylene and eosine: а – protein containing and dilatation of canaliculies, $\times 400$; б – «thyreoid kidney», $\times 200$; в – cellular infiltration, $\times 400$; г – glomerulosclerosis, $\times 400$

соров), даже в терапевтически допустимых дозах, децентрализация почки становится фактором ее ускоренного токсического повреждения, сокращающего сроки функционирования трансплантата. Примечательно, что вышеописанные морфологические изменения, возникшие в децентрализованной почке после применения МСК КМ в большой терапевтической дозе, соответствуют именно тем токсическим изменениям в этом органе, которые наступают при хроническом отравлении организма солями тяжелых металлов [13].

Малые дозы МСК КМ, как показали наши исследования, способны оказать защитное десенсибилизирующее воздействие на ткань децентрализованной почки и пролонгировать сроки нормального функционирования почки без признаков выраженной деструкции.

ВЫВОДЫ

1. Децентрализация почки (денервация – делимфатизация и сопутствующее воспаление) сенсibiliзирует ее ткань, снижает порог токсического повреждения при действии неспецифических факторов и становится одним из ведущих механизмов развития хронической трансплантационной нефропатии.
2. Однократное применение высоких доз аутологических МСК КМ при децентрализации почки становится фактором ускоренного развития симптомов хронической трансплантационной нефропатии.
3. Низкие дозы аутологических МСК КМ при однократном применении способны оказать десенсибилизирующее воздействие на ткань децентрализованной почки и затормозить развитие

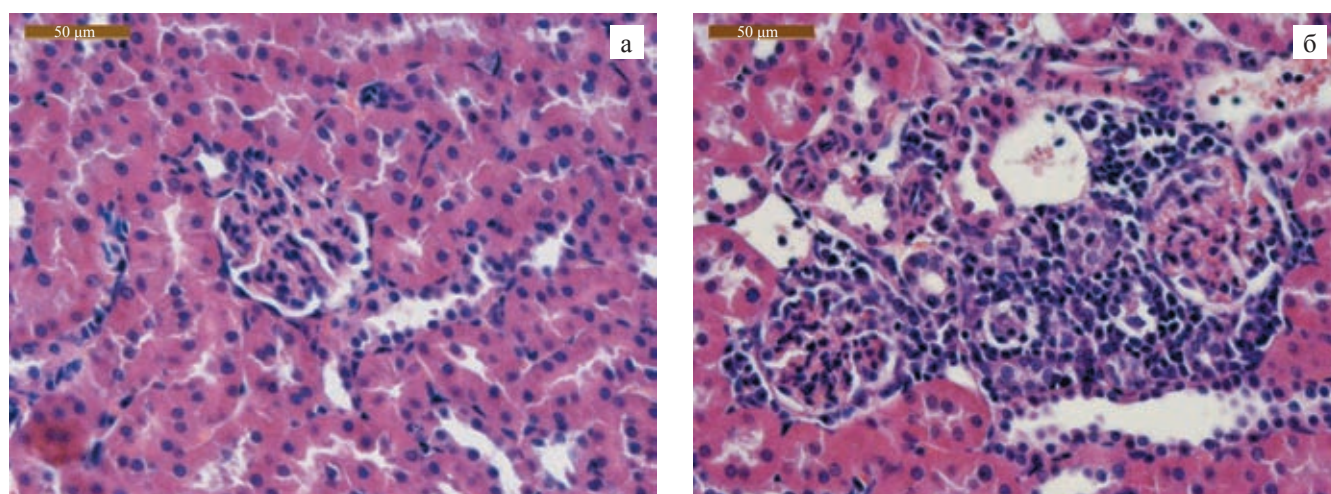


Рис. 5. Морфологическое состояние почек через 7 месяцев после моделирования АТП и однократного введения МСК КМ в дозе $0,3\text{--}0,5 \times 10^6$ клеток. Окраска гематоксилином и эозином: а – нормальная структура почечной ткани, $\times 400$; б – отдельные очаги клеточной инфильтрации, $\times 400$

Fig. 5. Morphology of kidneys after 7 months of IRI and single $0.3\text{--}0.5 \times 10^6$ cells MSC's BM admission. Haematoxyline and eosine: а – normal kidney structure, $\times 400$; б – single areas of cellular infiltration, $\times 400$

проявлений хронической трансплантационной нефропатии.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 14-25-00055).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Sayegh MH, Carpenter CB. Transplantation 50 years later – progress, challenges and promises. 2004. *The New England Journal of Medicine*, 2004, 26; 351: 2761–2766. Phillip Scott, 2005.
2. Hariharan S, Adams MB, Brennan DS. et al. Recurrent and de novo glomerular disease after renal transplantation. *Transplantation*. 1999; 68 (5): 635–641.
3. Кирпатовский ИД, Быкова НА. Пересадка почки (экспериментальные и биологические основы). М.: Медицина, 1969. Kirpatovskij ID, Bykova NA. Kidney transplantation (experimental and biological bases). М.: Medicine, 1969.
4. Шумаков ВИ, Онищенко НА. Физиология изолированных и частично изолированных органов. Очерки по физиологическим проблемам трансплантологии и применения искусственных органов. Под ред. ВИ. Шумакова. Тула: Репроникс ЛТД, 1998; 119–151. Shumakov VI, Onischenko NA. Physiology of the isolated and particulate isolated organs. *Essays on physiological problems of transplantology and application of artificial organs*, editing of VI. Shumakov. Tula: Repronics LTD, 1998. 119–151.
5. Волкова ОВ. Нейродистрофический процесс (морфологические процессы). М.: Медицина, 1978; 256. Volkova OV. Neurodystrophical process (morphological processes). М.: Medicine, 1978; 256.
6. Casiraghi F, Perico N, Remuzzi G. Mesenchymal stromal cell to promote solid organ transplantation tolerance. *Curr. Opin. Organ Transplant*. 2013; 18 (1): 51–58.
7. Perico N, Casiraghi F, Gotti E. et al. Mesenchymal stromal cells and kidney transplantation: pretransplant infusion protects from graft dysfunction while fostering immunoregulation. *Transpl. Int*. 2013; 26 (9): 867–878.
8. Franquesa M, Hooduijn MI, Baan CC. The impact of mesenchymal stem cell therapy in transplant rejection and tolerance. *Curr. Opin. Organ Transplant*. 2012; 17 (4): 355–361.
9. Franquesa M, Herrero E, Torras J. et al. Mesenchymal stem cell therapy prevents interstitial fibrosis and tubular atrophy in a rat kidney allograft model. *Stem cells Dev*. 2012; 21 (17): 3125–3135.
10. Кирпатовский ВИ, Казаченко АВ, Надточин ОН. Перспективы использования стволовых клеток в лечении острой и хронической почечной недостаточности. *Урология*. 2007; 6: 27–32. Kirpatovsky VI, Kazachenko AV, Nadtochin ON. Prospects of stem cells using at treatment of acute and chronic renal insufficiency. *Urology*. 2007; 6: 27–32.
11. Rinders MEJ, Fibbe WE, Rabelink TJ. Multipotent mesenchymal stromal cell therapy in renal disease and kidney tranplantation. *Nephrol. Dial. Transplant*. 2010; 25: 17–24.
12. Caplan AI. Mesenchymal stem cells. *J. Orthop. Res*. 1999; 9: 641–650.
13. Мутчиев АК. Изменение активности перекисного окисления липидов как механизм развития патологии почек при действии тяжелых металлов. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2015; 2: 72–76. Mitsiev AK. The changing of lipid peroxide oxidation activity as a mechanism of kidney pathology progress at the action of heavy metals. *Pathological physiology and experimental therapy*. 2015; 2: 72–76.

Статья поступила в редакцию 18.01.2016 г.
The article was submitted to the journal on 18.01.2016

DOI: 10.15825/1995-1191-2016-1-53-57

СЛУЧАЙ ОСТРОЙ ТАКРОЛИМУС-ИНДУЦИРОВАННОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У БОЛЬНОГО ПОСЛЕ ОРТОТОПИЧЕСКОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА

Д.В. Доронин, А.М. Чернявский, А.В. Фомичев, М.Н. Дерягин, В.Н. Горбатовых
ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения имени академика Е.Н. Мешалкина» Минздрава России, Новосибирск, Российская Федерация

В последние годы успехи трансплантологии связаны прежде всего с широким использованием в клинической практике ингибиторов кальциневрина циклоспорина и такролимуса, ставших основой различных протоколов иммуносупрессивной терапии. Эти препараты, несмотря на эффективность в профилактике отторжения трансплантата, обладают серьезными побочными эффектами. Важнейшим из них признается нефросклероз вследствие хронического нефротоксического эффекта ингибиторов кальциневрина. Но наряду с хроническими нефротоксическими эффектами существует и острое повреждение почек на фоне применения ингибиторов кальциневрина. В статье представлено клиническое наблюдение, демонстрирующее развитие тяжелой обратимой нефропатии на фоне приема «стандартной» дозы такролимуса пациентом после трансплантации сердца (ТС).

Ключевые слова: трансплантация сердца, ингибиторы кальциневрина, нефротоксичность.

ACUTE TACROLIMUS-INDUCED KIDNEY INSUFFICIENCY IN PATIENT AFTER HEART TRANSPLANTATION

D.V. Doronin, A.M. Chernyavskiy, A.V. Fomichev, M.N. Deryagin, V.N. Gorbatykh
E.N. Meshalkin Novosibirsk State Research Institute of Circulation Pathology,
Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Novosibirsk, Russian Federation

In recent years the success of transplantation is associated primarily with extensive use of calcineurin inhibitors (CNIs) – cyclosporine and tacrolimus which became the basis of the various immunosuppressive therapy protocols. These drugs despite their effectiveness in the prevention of transplant rejection have serious side effects. Nephrosclerosis due to chronic nephrotoxic effect is recognized as the most important of them. But along with chronic nephrotoxic effects there are cases of acute kidney injury on the background of calcineurin inhibitors usage. The article presents a clinical case demonstrating the development of severe reversible nephropathy in a patient after heart transplantation receiving tacrolimus in standard dose.

Key words: heart transplantation, inhibitors of calcineurin, nephrotoxicity.

ВВЕДЕНИЕ

Прогрессирующая сердечная недостаточность – ведущая причина смерти в развитых странах [1, 4]. Наиболее эффективным методом лечения терминальной стадии сердечной недостаточности остается трансплантация сердца. Только этот метод лечения может обеспечить наилучшее качество жизни пациентов. Но современная трансплантология неотделима от иммуносупрессивной терапии для предупреждения реакции отторжения трансплантата. В последние годы успехи трансплантологии

связаны прежде всего с широким использованием в клинической практике ингибиторов кальциневрина (CNI) циклоспорина (CyA) и такролимуса (ТАК), ставших основой различных протоколов иммуносупрессивной терапии [4, 9]. Их действие основано на подавлении активации и дифференцировки Т-лимфоцитов. Эти препараты, несмотря на эффективность в профилактике отторжения трансплантата, все же не являются «идеальными» иммуносупрессантами и обладают серьезными побочными эффектами, что требует тщательного и постоянного

Для корреспонденции: Доронин Дмитрий Владиславович. Адрес: 630055, г. Новосибирск, ул. Речкуновская, д. 15.
Тел.: 8 (383) 347-60-99, доп. 0-1217; 8-905-957-79-86. E-mail: d_doronin@mail.ru.

For correspondence: Doronin Dmitriy Vladislavovich. Address: 15, Rechkunovskaja str., Novosibirsk, 630055, Russian Federation.
Tel.: 8 (383) 347-60-99, доп. 0-1217; 8-905-957-79-86. E-mail: d_doronin@mail.ru.

Таблица 1

Показатели центральной гемодинамики больного К. на момент трансплантации сердца**Patient K. Central hemodynamics at the time of heart transplantation**

КДО ЛЖ, мл	КСО ЛЖ, мл	ФВ ЛЖ, %	КДО ПЖ, мл	КСО ПЖ, мл	ФВ ПЖ, %	СрдЛА, мм рт. ст.	СВ, л/мин	ЛСС, ед. Вуда
205	151	26	124	96	23	44	2,6	6

терапевтического контроля концентрации в крови [6, 7]. Важнейшим из них признается нефросклероз вследствие хронического нефротоксического эффекта ингибиторов кальциневрина (циклоспорина или такролимуса) [6, 8]. Но наряду с хроническими нефротоксическими эффектами, характерным признаком которых является CNI-ассоциированная артериопатия с сопутствующим склерозом интерстиция [13], существует и острое повреждение почек на фоне применения ингибиторов кальциневрина, причины которого более сложны и опасны в прогностическом плане. В статье представлено клиническое наблюдение, демонстрирующее развитие тяжелой обратимой нефропатии на фоне приема «стандартной» дозы такролимуса пациентом после трансплантации сердца (ТС).

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Больному К. 23 лет выполнена ортотопическая трансплантация сердца. Предоперационный диагноз: «дилатационная кардиомиопатия; относительная митральная и трикуспидальная недостаточность ХСН II Б ст. III ФК (NYHA)».

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 среднее давление в легочной артерии (СрдЛА) составляло 44 мм рт. ст., легочное сосудистое сопротивление (ЛСС) – 6 ед. Вуда, без динамики при пробе с оксидом азота (табл. 1). При этом в биохимических показателях крови не выявлялось существенных отклонений (табл. 2).

ТС выполнялась бикавальным способом [14]. Время искусственного кровообращения составило 170 мин, время ишемии трансплантата – 105 мин. Индукция иммуносупрессии выполнялась введением 20 мг Симулекта (базиликсимаб) перед операцией и на 4-е сутки после ТС, в сочетании с болюсным введением 1000 мг метилпреднизолона перед снятием зажима с аорты.

Ранний послеоперационный период после ТС протекал с явлениями сердечной слабости, обусловленной высоким сосудистым сопротивлени-

Таблица 2

Биохимические показатели у больного К. перед трансплантацией сердца**Patient K. Biochemical parameters before heart transplantation**

Показатели	Результат
Билирубин, ммоль/л	21,5
Билирубин кон., ммоль/л	6,1
Общий белок, г/л	76
Глюкоза, ммоль/л	4,8
АСТ, МЕ	23
АЛТ, МЕ	14
Мочевина, ммоль/л	4,1
Креатинин, мкмоль/л	80
Калий плазмы, ммоль/л	3,9
Натрий плазмы, ммоль/л	137
Скорость клубочковой фильтрации, мл/мин	110,6

ем малого круга у реципиента. 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 сутки). С целью снижения сопротивления малого круга кровообращения больной получал силденафил (в суточной дозе 60 мг) в сочетании с ингаляциями Вентависа (ингаляции в дозе 5 мкг каждые 3 часа) с помощью небулайзера. Базовая иммуносупрессия начата на 3-и сутки после операции. Наряду с индукционной терапией она включала терапию такролимусом в дозе 0,05 мг/кг/сут в сочетании с микофенолатом натрия в суточной дозе 1440 мг и преднизолоном по убывающей схеме. Уже через сутки после начала терапии такролимусом отмечено резкое снижение диуреза до анурии, несмотря на массивную стимуляцию лазиксом (до 80 мг/ч), рост азотемии в 3 раза за 24 часа, диагностирована острая почечная недостаточность. При выполнении лекарственного мониторинга выявлено значительное превышение предельно допустимой концентрации такролимуса $C_{\min}$ (38,8 нг/мл) в крови. При ультразвуковом доплеровском исследовании почечного кровотока выявлен выраженный отек пирамидок, отсутствие кровотока в междолевых артериях, обусловленное острым канальцевым некрозом. В связи с развитием острой почечной недостаточности проводилась постоянная заместительная почечная терапия, кор-

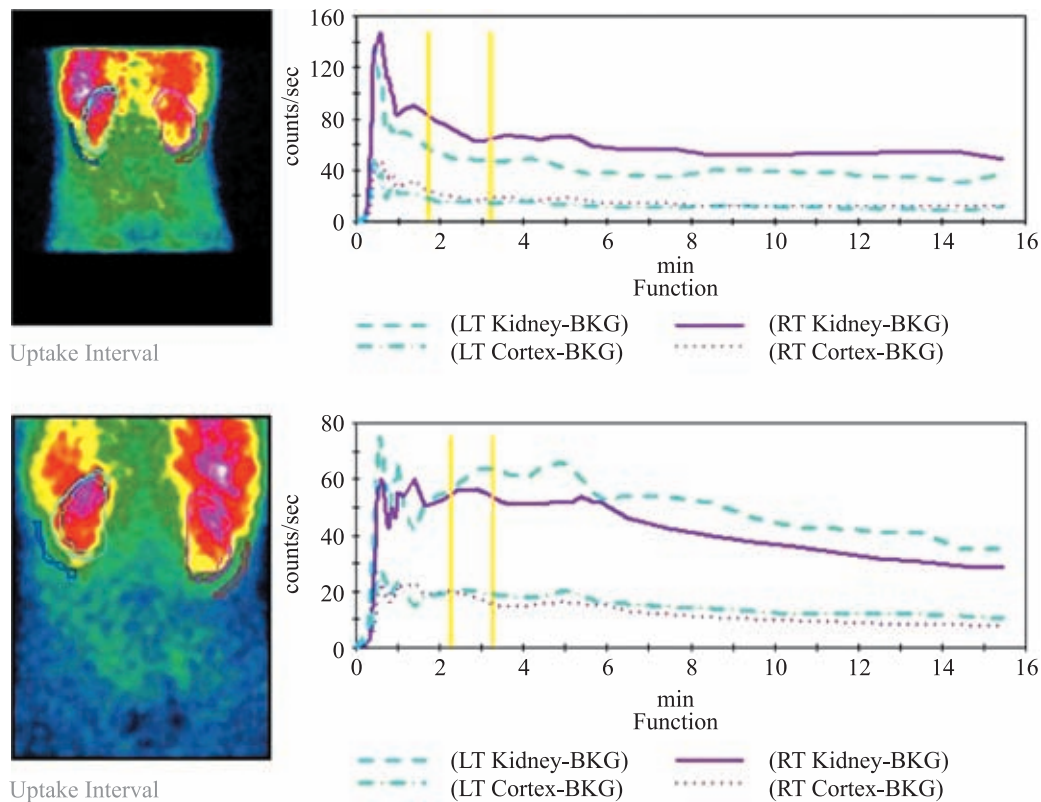


Рис. 1. Динамическая сцинтиграфия почек больного К. через 6 и 9 недель от возникновения ОПН (улучшение показателей фильтрационной функции правой и левой почек)

Fig. 1. Patient K. Dynamic renal scintigraphy after 6 weeks and 9 weeks of ARF development (improvement in filtration function of right and left kidney)

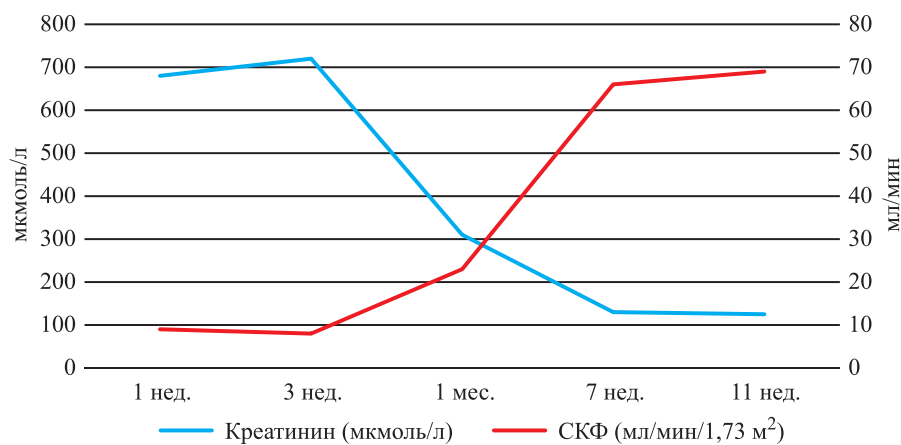


Рис. 2. Динамика показателей азотемии в послеоперационном периоде

Fig. 2. Azotemia in postoperative period

рекция суточной дозы такролимуса со снижением до 0,025 мг/кг/сут при постоянном лекарственном мониторинге. При этом C_{min} концентрация такролимуса в цельной крови была снижена до минимальной терапевтической 3,5–4 нг/мл. По результатам протокольной биопсии данных за острое отторжение трансплантата не выявлено.

На фоне проводимой комплексной терапии отмечалось постепенное купирование проявлений сер-

дечной слабости, восстановление мочевыделительной функции почек, нормализация биохимических показателей. Инотропная поддержка полностью прекращена к 25-м суткам. По данным ЭХО КГ отмечалась нормальная функция сердца без инотропной поддержки. По результатам инвазивного мониторинга среднее давление в легочной артерии (ЛА) постепенно снизилось с 48 до 38 мм рт. ст. к 30-м суткам после операции (табл. 3). По данным перфу-

Таблица 3

**Показатели
центральной гемодинамики у больного К.
после трансплантации**

**Patient K. Central hemodynamics
after heart transplantation**

Показатели	1 неде- ля	2 неде- ли	3 неде- ли	1 ме- сяц	2 ме- сяца
КДО ЛЖ, мл	40,7	64,1	67,6	71,2	64
ФВ ЛЖ, %	73	65	75	70	66
СрДЛА, мм рт. ст.	48	43	40	38	33

Таблица 4

**Динамика почечного кровотока
по результатам триплексного УЗИ
почечных артерий**

**Renal blood flow on triplex ultrasound
of the renal arteries**

	Правая почка		Левая почка	
	Долевые	ИПС	Долевые	ИПС
1-я неделя	Кровоток не определяется		Кровоток не определяется	
3-я неделя		0,99		0,99
1 месяц	0,34	0,61	0,17	0,53
7 недель	0,23	0,69	0,39	0,78
11 недель	0,12	0,67	0,23	0,65

зионной сцинтиграфии в динамике выявлено улучшение фильтрационной функции почек (рис. 1).

Показатели азотемии нормализовались через 7 недель после операции (рис. 2).

По результатам динамического мониторинга почечного кровотока выявлено постепенное восстановление кровотока, снижение индекса сосудистого сопротивления к 50-м суткам после возникновения ОПН (табл. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ

В типичных случаях кальциневрин-обусловленная нефротоксичность развивается на фоне повышенной экспозиции ингибиторов кальциневрина. Характерным признаком поражения почек на фоне приема ингибиторов кальциневрина является СNI-ассоциированная артериолопатия с сопутствующим склерозом интерстиция [9–11].

В представленном наблюдении острая почечная недостаточность проявилась уже через сутки после назначения средней терапевтической дозы такролимуса.

Какие явления могли изменить фармакодинамику препарата и спровоцировать нарастание концентрации такролимуса до токсических значений, способных вызвать острый канальцевый некроз, и как следствие, острую почечную недостаточность?

Имеющиеся литературные данные показывают, что одновременный прием веществ, ингибирующих или индуцирующих CYP3A4, может повлиять на метаболизм такролимуса, и соответственно, снижать или повышать концентрацию такролимуса в плазме крови [2]. Среди этих препаратов антибиотики, противогрибковые препараты, блокаторы ионной помпы и т. д. Но в нашем случае отсутствует явное лекарственное взаимодействие, т. к. пациент не получал никаких из перечисленных медикаментов.

Кроме того, терапия ингибиторами кальциневрина была начата на фоне течения тяжелой правожелудочковой недостаточности, протекающей с явлениями выраженного венозного застоя, и как следствие, выраженной печеночной дисфункции. С целью купирования явлений дисфункции трансплантата проводилась массивная инотропная стимуляция, а одним из побочных проявлений действия катехоламинов является стойкий спазм сосудов брыжейки и почечных артериол [2]. Эти явления могли нарушить нормальную работу цитохрома P450 (CYP3A4), который, как известно, локализован на апикальных мембранах энтероцитов тонкой кишки и гепатоцитах [3] и является важнейшим звеном в метаболизме и фармакодинамике такролимуса [2].

Таким образом, одна из проблем, связанная с применением ингибиторов кальциневрина, заключается в том, что данные препараты имеют узкое терапевтическое окно, в котором обеспечивается адекватный уровень супрессии Т-лимфоцитов при минимальном риске развития побочных эффектов [2, 16]. Кроме того, любые нестандартные клинические ситуации могут приводить к существенным изменениям фармакодинамики этих препаратов, провоцируя побочные реакции. Эта проблема повышает роль терапевтического мониторинга и делает его ключевым инструментом в проведении иммуносупрессивной терапии у больных после трансплантации [15].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Даниелян МО. Прогноз и лечение хронической сердечной недостаточности (данные 20-летнего наблюдения): Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2001. *Danielyan MO. Prognoz i lechenie hronicheskoy serdechnoy nedostatochnosti (dannye 20-letnego nablyudeniya): Avtoref. dis. ... kand. med. nauk. M., 2001.*
2. Государственный реестр лекарственных средств. Официальное издание: в 2 т. М.: Медицинский совет, 2009. Т. 2, ч. 1 – 568 с.; ч. 2 – 560 с. *Gosudarstvennyj reestr lekarstvennyh sredstv. Oficial'noe izdanie: v 2 t. M.: Medicinskij sovet, 2009. T. 2, ch. 1 – 568 s.; ch. 2 – 560 s.*
3. Кобляков ВА. Цитохромы семейства P-450 и их роль в активации проканцерогенов. М.: Изд-во ВИНТИ, 1990. Т. 35. С. 1–190. *Koblyakov VA. Citohromy se-*

- mejstva R-450 i ih rol' v aktivacii prokancerogenov. M.: Izd-vo VINITI, 1990. T. 35. S. 1–190.
4. Чернявский АМ, Ефремова ОС, Рuzматов ТМ, Эфендиев ВУ. Предикторы отдаленной летальности больных ишемической болезнью сердца с выраженной левожелудочковой дисфункцией. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2015; 19 (2): 49–54. Chernyavskij AM, Efremova OS, Ruzmatov TM, Efendiev VU. Prediktory otдалennoj letal'nosti bol'nyh ishemicheskoy bolezni'syu serdca s vyrazhennoj levozheludochkovoj disfunkciej. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiohirurgiya*. 2015; 19 (2): 49–54.
 5. Kahan BD. Cyclosporine. *N Engl J Med*. 1989; 321: 1725–1738.
 6. Myers BD, Ross J, Newton L, Luetscher J, Perlroth M. Cyclosporine-associated chronic nephropathy. *N Engl J Med*. 1984; 311: 699–705.
 7. McLaren AJ, Fuggle SV, Welsh KI et al. Chronic allograft failure in human renal transplantation: a multivariate risk factor analysis. *Ann Surg*. 2000; 232: 98–103.
 8. Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CL. The natural history of chronic allograft nephropathy. *N Engl J Med*. 2003; 349: 2326–2333.
 9. Naesens M, Lernt E, Damme BV et al. Tacrolimus Exposure and Evolution of Renal Allograft Histology in the First Year After Transplantation. *Am J Transplant*. 2007; 7: 2114–2123.
 10. Nizze H, Mihatsch MJ, Zollinger HU et al. Cyclosporine-associated nephropathy in patients with heart and bone marrow transplants. *Clin Nephrol*. 1988; 5: 248–260.
 11. Ojo AO, Held PJ, Port FK, Wolfe RA, Leichtman AB, Young EW, Arndorfer J, Christensen L, Merion RM. Chronic renal failure after transplantation of a nonrenal organ. *N Engl J Med*. 2003; 349: 931–940.
 12. Olyaei AJ, de Mattos AM, Bennett WM. Nephrotoxicity of immunosuppressive drugs: New insight and preventive strategies. *Curr Opin Crit Care*. 2001; 7: 384–389.
 13. Palestine AG, Austin HA, III, Balow JE, Antonovych TT, Sabnis SG, Preuss HG, Nussenblatt RB. Renal histopathologic alterations in patients treated with cyclosporine for uveitis. *N Engl J Med*. 1986; 314: 1293–1298.
 14. Sarsam MA, Campbell CS, Yonan NA et al. An alternative technique in orthotopic cardiac transplantation. *J Card Surg*. 1993; 8: 344–349.
 15. Uchida K, Nakanisi N, Yamada N et al. Cyclosporine nephrotoxicity can be minimized by careful monitoring of whose blood trough levels. *Dev Toxicol Environ Sci*. 1986; 14: 163–166.
 16. Van Gelder T. Drug interactions with tacrolimus. *Drug Saf*. 2000; 25: 707–712.

Статья поступила в редакцию 4.12.2015 г.
The article was submitted to the journal on 4.12.2015

DOI: 10.15825/1995-1191-2016-1-58-66

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПОПУЛЯЦИИ, ПРОЖИВАЮЩЕЙ НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН

М.А. Логинова^{1, 2}, И.В. Парамонов², В.Н. Павлов³, Г.Ш. Сафуанова³

¹ Отдел донорства гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «Российский медицинский научно-производственный центр «Росплазма» ФМБА России, Киров, Российская Федерация

² ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови» ФМБА России, Киров, Российская Федерация

³ ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Уфа, Российская Федерация

Проведено HLA-типирование 1064 потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток, проживающих на территории Республики Башкортостан, по локусам (HLA)-A, -B, -C, -DRB1. В ходе проведенных исследований в изучаемой популяции выявлено два новых аллеля, один из которых зарегистрирован в Комитете по номенклатуре факторов HLA-системы ВОЗ, второй подан на регистрацию. При изучении частоты распределения HLA-аллелей и гаплотипов выявлено 17 аллельных вариантов локуса HLA-A, 29 – HLA-B, 13 – HLA-C, 13 – HLA-DRB1. Частотой встречаемости более 10% обладают следующие аллельные варианты: HLA-A*02 (29,37%), 24 (12,92%), 01 (11,84%), 03 (11,61%), HLA-B*35 (11,51%), 07 (10,76%), HLA-C*07 (22,56%), 06 (15,51%), 04 (13,06%), 03 (10,43%), 12 (10,24%), HLA-DRB1*07 (17,25%), 15 (12,73%), 13 (11,98%), 01 (11,84%), 04 (11,61%). С использованием программного обеспечения Arlequin v.3.1 был выявлен 771 HLA-A-B-C-DRB1 возможный гаплотип. Наиболее часто встречающимися оказались гаплотипы A*02-B*13-C*06-DRB1*07, A*03-B*35-C*07-DRB1*15, A*02-B*07-C*07-DRB1*15 с частотами встречаемости 2,89; 2,18 и 1,93% соответственно. Распределение аллелей и анализ гаплотипов позволили сравнить изученную популяцию с другими российскими популяциями.

Ключевые слова: человеческие лейкоцитарные антигены, аллели, гаплотипы, частота встречаемости, новые аллели.

GENETIC CHARACTERISTICS OF THE POPULATION LIVING IN THE TERRITORY OF THE REPUBLIC OF BASHKORTOSTAN

М.А. Loginova^{1, 2}, I.V. Paramonov², V.N. Pavlov³, G.Sh. Safuanova³

¹ Department of donor of hematopoietic stem cells, Federal State Budgetary Institution «Russian medical scientific and production center «Rosplasma», Federal Medical-Biological Agency, Kirov, Russian Federation

² Federal State Budgetary Institution of Science «Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion», Federal Medical-Biological Agency, Kirov, Russian Federation

³ State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education «Bashkir State Medical University», Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Ufa, Russian Federation

Sequence based typing was used to identify human leukocyte antigen (HLA)-A, -B, -C, -DRB1 alleles in 1,064 recruited volunteers in the Republic of Bashkortostan of the Russian Federation for unrelated hematopoietic stem cell registry. During the carried out research two new alleles were identified in the studied population; one was registered in the WHO Nomenclature Committee for Factors of the HLA System, the other one was submitted for registration. In this population 17 HLA-A, 29 – HLA-B, 13 – HLA-C, 13 – HLA-DRB1 groups

Для корреспонденции: Логинова Мария Александровна. Адрес: 610002, г. Киров, ул. Ленина, д. 104. Тел. +7 (912) 734-09-15. E-mail: loginova-ma@rosplasma.ru.

For correspondence: Loginova Maria Alexandrovna. Address: 104, Lenin st., Kirov, 610002, Russian Federation. Tel. + 7 (912) 734-09-15. E-mail: loginova-ma@rosplasma.ru.

of alleles were selected. Allele frequencies of more than 10% included HLA-A*02 (29.37%), 24 (12.92%), 01 (11.84%), 03 (11.61%), HLA-B*35 (11.51%), 07 (10.76%), HLA-C*07 (22.56%), 06 (15.51%), 04 (13.06%), 03 (10.43%), 12 (10.24%), HLA-DRB1*07 (17.25%), 15 (12.73%), 13 (11.98%), 01 (11.84%), 04 (11.61%). 711 HLA-A-B-C-DRB1 four-locus haplotypes were determined using the software Arlequin v.3.1. The most frequently observed four-locus haplotypes were A*02-B*13-C*06-DRB1*07, A*03-B*35-C*07-DRB1*15, A*02-B*07-C*07-DRB1*15 with frequencies of 2.89%, 2.18% and 1.93%, respectively. The distribution of alleles and haplotype analysis allowed comparing the populations of the Republic of Bashkortostan with the other Russian populations.

Key words: human leukocyte antigen, alleles, haplotypes, frequency, new alleles.

ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) – метод клеточной терапии, применяющийся для лечения гематологических, онкологических, генетических и ряда других заболеваний. Существуют два основных типа трансплантации гемопоэтических стволовых клеток – аутологичная, когда пациенту вводят собственные гемопоэтические стволовые клетки, взятые заранее и хранящиеся при определенных условиях, и аллогенная, когда используются донорские гемопоэтические стволовые клетки. В качестве донора может выступать близкий родственник, чаще всего брат или сестра, однако вероятность совпадения сибсов по HLA-генотипу составляет не более 25%, для остальных пациентов требуется поиск неродственного донора [1].

В настоящее время число потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток, зарегистрированных в международном регистре доноров костного мозга (BMDW), уже превысило 25 000 000 человек [2]. В международный регистр включены данные 72 регистров из 52 стран мира [2]. Крупнейшими из них являются NMDP в США, DKMS в Германии, Фонд Энтони Нолана в Великобритании и другие. Такое количество безвозмездных доноров позволяет трансплантационным центрам, в том числе российским, осуществлять эффективный поиск совместимых доноров ГСК для пациентов, нуждающихся в трансплантации.

Вместе с этим зачастую для российского пациента не удается подобрать совместимого донора в международном регистре. С одной стороны, это обусловлено тем, что в этом регистре наиболее широко представлены доноры, относящиеся к европейским и северо-американским популяциям, для которых характерна относительно низкая частота встречаемости HLA-аллелей и гаплотипов, специфичных для населения Российской Федерации. С другой стороны, многонациональное (более 180 народов) государство Российская Федерация с населением более чем 143 миллиона человек представлено в международной базе данных только тремя небольшими региональными регистрами потенциальных доноров гемопоэтических стволовых

клеток, не обеспечивающими репрезентативность HLA-гаплотипов, достаточную для эффективного подбора доноров [2].

С августа 2013 года на территории Российской Федерации функционирует Национальный регистр доноров костного мозга имени Васи Перевощикова с числом потенциальных доноров ГСК по состоянию на 17.08.2015 – 36 161 [3], привлеченных Санкт-Петербургским, Кировским, Челябинским, Новосибирским, Екатеринбургским, Самарским, Карельским регистрами, а также регистром Казахстана. За два года существования указанного регистра состоялось 65 донаций ГСК, что соответствует одной донации на 600 типированных доноров [3].

Это свидетельствует о достаточно высокой вероятности подбора совместимого донора даже в небольшом, но репрезентативном регистре, учитывающем популяционные особенности HLA-аллелей и гаплотипов представителей российских популяций. Исходя из этого должно осуществляться дальнейшее развитие региональных регистров потенциальных доноров ГСК.

Целью данного исследования является изучение генетических особенностей популяции, проживающей на территории Республики Башкортостан.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование включает в себя анализ 1064 образцов цельной крови, полученных от потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток, проживающих на территории Республики Башкортостан. Все доноры были рекрутированы в мае 2014 года из числа студентов Башкирского государственного медицинского университета, Башкирского государственного педагогического университета им. М. Акмуллы, Башкирского государственного аграрного университета, Башкирского государственного университета.

Препараты ДНК для проведения HLA-типирования были получены из замороженных образцов цельной крови (антикоагулянт – ЭДТА) методом колоночной фильтрации с помощью станции QIAcube с использованием наборов реагентов QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN). Концентрация препаратов ДНК, определенная на спектрофотометре UV-

1800 (Shimadzu, Япония), составляла 25–40 нг/мкл при соотношении $A_{260}/A_{280} = 1,75–1,95$.

HLA-типирование по локусам HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1 проводили по технологии SBT (Sequencing Based Typing) с использованием базовых наборов реагентов AlleleSEQR HLA Sequencing (Abbott, США). Для разрешения неоднозначностей типирования на уровне 2-го знака использовали реагенты для уточнения гетерозиготных неоднозначностей.

Капиллярный электрофорез осуществляли с использованием генетического анализатора 3500xl (Applied Biosystems, США). Полученные сиквенсы просматривали в программном обеспечении Sequencing Analysis v.5.2, анализировали в программном обеспечении SBT Engine v.3.6.1 с использованием библиотек HLA-аллелей – IMGT/HLA 3.17.1.0, 3.18.0.

Реагенты для уточнения гетерозиготных неоднозначностей выбирали с использованием программного обеспечения HAPs Finder, доступного в режиме он-лайн в глобальной сети Интернет [4].

Для подтверждения и описания новых аллелей использовали наборы реагентов PROTRANS HLA-A, -B S4 (Protrans, Германия), основанные на технологии моноаллельного секвенирования. Анализ полученных сиквенсов проводили с использованием программного обеспечения SeqPilot.

Частоты HLA-аллелей и частоты их гаплотипов были определены методом максимального правдоподобия с помощью алгоритма максимизации ожидания для данных с неизвестной гаметической фазой [5, 6], реализованным в программном обеспечении Arlequin v.3.1. Стандартные отклонения рассчитывали при начальном значении итераций, равном 100. В случае определения одного аллеля индивидуум считали гомозиготным по данному аллелю.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе проведения исследования для двух образцов не было найдено полного соответствия с библиотекой HLA-аллелей IMGT/HLA 3.17.1.0/3.18.0 по одному из типизируемых локусов: для образца № 29714 – по локусу HLA-A и для образца № 30387 – по локусу HLA-B.

В ходе проведения HLA-типирования образца № 29714 был определен следующий генотип – B*44:AMUT, 44:27, C*05:NRVV, 07:MRTH, DRB1*12:DUKV, 16:01, A*01, 02 с одним несоответствием базе данных HLA-аллелей в позиции 477 третьего экзона, где вместо G стоит K, четкий двойной пик выявлен в прямом и обратном направлении, что представлено на рис. 1.

Для определения того, какой из пары аллельных вариантов является уже известным, а какой новым,

провели сравнение последовательностей с помощью инструмента Sequence Alignment, доступного в режиме он-лайн в глобальной сети Интернет [7]. Результаты сравнения последовательностей представлены на рис. 2.

Из данных, представленных на рис. 2, следует, что использование постановки двух дополнительных сиквенсовых реакций с применением реагентов для уточнения гетерозиготных неоднозначностей – A3F363A и A3F363G – позволит определить, какой из аллельных вариантов является новым. Результаты постановки сиквенсовых реакций с указанными реагентами для уточнения гетерозиготных неоднозначностей представлены на рис. 1. Реагент для уточнения гетерозиготных неоднозначностей A3F363G, отжигающийся только на последовательность аллеля A*02:01:01:01, дает в позиции 477 третьего экзона G, в то время как A3F363A, отжигающийся только на последовательность аллеля A*01:01:01:01, дает T. На основании этого был сделан вывод о том, что образец № 29714 содержит новый аллель в локусе A и его генотип может быть обозначен как A*02, 01:новый. При этом 135 кодон аллеля A*01:новый меняется с GCG на GCT, что, однако, не приводит к изменению аминокислоты, кодируемой данным кодоном (аланин).

Для подтверждения нового аллеля и его описания для последующей регистрации в международной базе данных HLA-аллелей использовали технологию моноаллельного секвенирования с применением наборов реагентов PROTRANS HLA-A S4. Полученные данные подтвердили наличие нового аллеля и позволили представить данный аллель на регистрацию (номер последовательности в базе данных EMBL – LN830754). 29 мая 2015 года указанному аллелю был присвоен номер A*01:01:70.

Для образца № 30387 выявлен следующий генотип – A*03:XVRK, 24:YYFJ, C*02:ABXYK, 07:ABXZK, DRB1*04:ADAAZ, 15:UPVA, B*07, 27 с одним несоответствием базе данных HLA-аллелей в позиции 411 третьего экзона, где вместо Y представлен T (рис. 3).

Как и в первом случае, для определения того, какой из пары аллельных вариантов является уже известным, а какой новым, провели сравнение последовательностей с помощью инструмента Sequence Alignment, доступного в режиме он-лайн в глобальной сети Интернет [7]. Полученные результаты сравнения последовательностей представлены на рис. 4.

Использование постановки двух дополнительных сиквенсовых реакций с применением реагентов для уточнения гетерозиготных неоднозначностей – A2F261C и C3R539T – позволит определить, какой из аллельных вариантов является новым. Для получения результата в высоком разрешении так-



Рис. 1. Результат анализа образца № 29714 по локусу A в программном обеспечении SBTengine v.3.6.1

Fig. 1. The result of HLA-typing the sample № 29714 for locus A in software SBTengine v.3.6.1

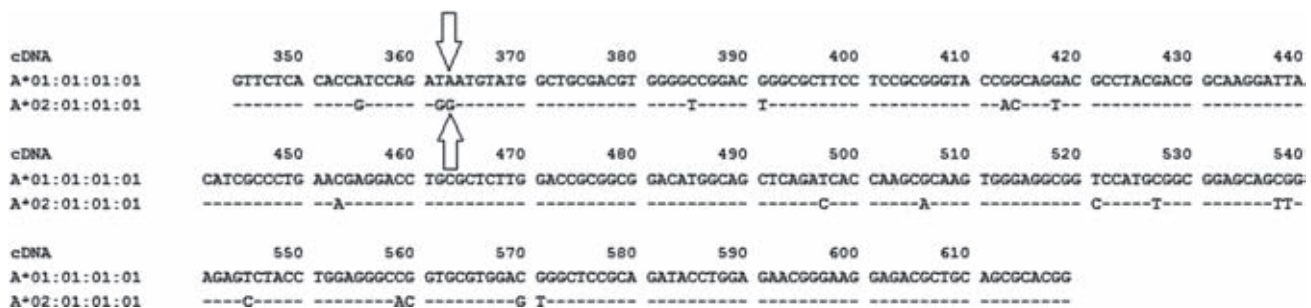


Рис. 2. Сравнение последовательностей аллелей A*01:01:01:01 и A*02:01:01:01 (в нуклеотидах)

Fig. 2. The comparison of sequences of alleles A*01:01:01:01 and A*02:01:01:01 (in nucleotides)

же дополнительно была поставлена сиквенсовая реакция с использованием праймера – B3R603G. Результаты постановки сиквенсовых реакций с указанными реагентами для уточнения гетерозиготных неоднозначностей представлены на рис. 3. Реагент для уточнения гетерозиготных неоднозначностей A2F261C, отжигающийся только на последовательность аллеля B*07:02:01, дает в позиции 411 третьего экзона T, в то же время C3R539T, отжигающийся

только на последовательность аллеля B*27:05:02, также дает T. На основании этого был сделан вывод о том, что образец № 30387 содержит новый аллель в локусе B и его генотип может быть обозначен как B*07:02, 27:новый. Необходимо отметить, что указанная замена в позиции 411 третьего экзона в аллеле B*27:05:02, так же, как и в первом случае, не приводит к замене аминокислоты в кодоне 113 (и TAC, и TAT кодируют аминокислоту тирозин).



Рис. 3. Результат анализа образца № 30387 по локусу В в программном обеспечении SBTengine v.3.6.1

Fig. 3. The result of HLA-typing the sample № 30387 for locus B in software SBTengine v.3.6.1

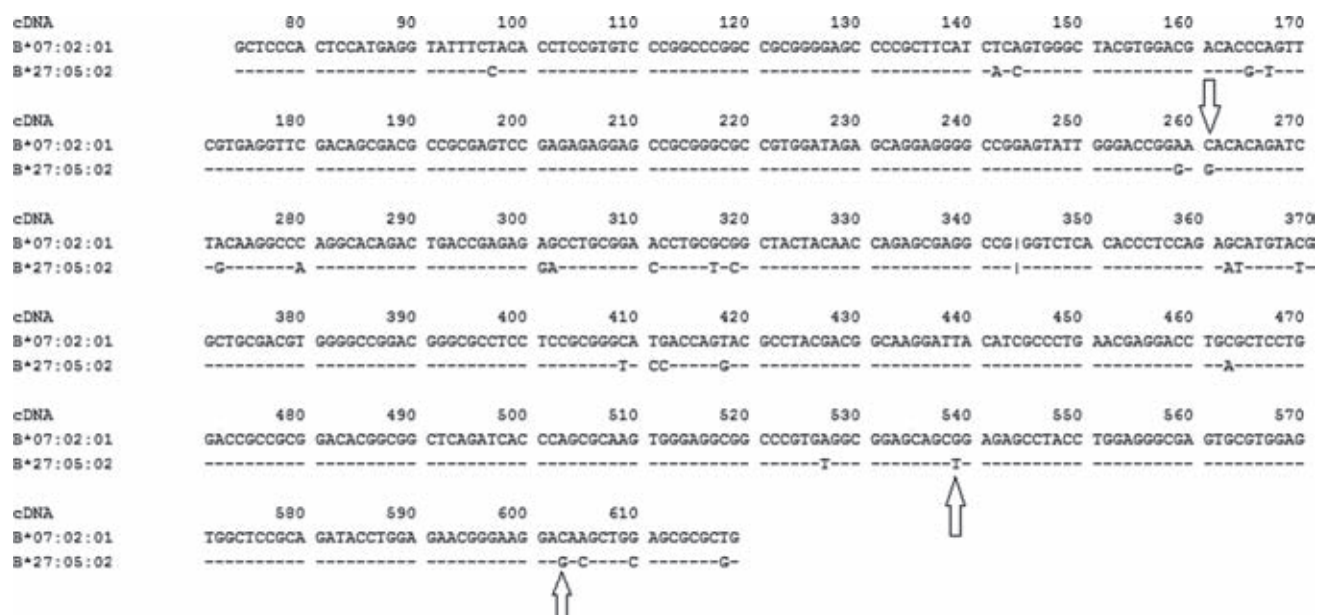


Рис. 4. Сравнение последовательностей аллелей B*07:02:01 и B*27:05:02 (в нуклеотидах)

Fig. 4. The comparison of sequences of alleles B*07:02:01 и B*27:05:02 (in nucleotides)

Для подтверждения нового аллеля и его описания для последующей регистрации в международной базе данных HLA-аллелей была использована технология моноаллельного секвенирования с применением наборов реагентов PROTRANS HLA-B S4. Полученные данные подтвердили наличие нового аллеля и позволили представить данный аллель на регистрацию (номер последовательности в базе данных EMBL – LN830753). Однако данных, полученных с использованием наборов реагентов PROTRANS HLA-B S4, оказалось недостаточно для регистрации данного аллеля, так как они не позволили получить последовательность первого экзона для образца 30387. В ходе проведения HLA-типирования образцов ДНК у доноров, проживающих на территории республики Удмуртия, было выявлено еще два образца с такой же нуклеотидной заменой. Для завершения процедуры регистрации целесообразно секвенировать первый экзон данного образца другим методом. Нами запланированы исследования по секвенированию ДНК этих образцов методом NGS (Next Generation Sequence).

Аллельные варианты HLA-локусов I класса, частоты их встречаемости с соответствующими стандартными отклонениями представлены в табл. 1. Были выявлены 17 аллельных вариантов по локусу HLA-A, 29 – по локусу HLA-B, 13 – по локусу HLA-C.

Наибольшей частотой встречаемости обладает аллельный вариант A*02 – 29,37%, далее следуют аллельные варианты A*24, A*01 и A*03 с частотами встречаемости 12,92; 11,84 и 11,61% соответственно. Наименьшей частотой встречаемости обладают аллельные варианты A*69 и A*74, выявленные в трех и одном случае соответственно.

Среди аллельных вариантов локуса HLA-B наибольшей частотой встречаемости обладают варианты B*35 (11,51%), B*07 (10,76%), B*13 (9,30%) и B*44 (8,93%), наименьшей – B*47 (0,09%) и B*73 (0,09%), последние выявлены всего в двух случаях.

Среди аллельных вариантов локуса HLA-C наибольшей частотой встречаемости обладает аллельный вариант – C*07 (22,56%), далее в поряд-

Таблица 1

Аллельные варианты HLA-локусов I класса и частоты их встречаемости
HLA class I alleles and their allele frequencies

HLA-A			HLA-B			HLA-C		
Аллельный вариант	Частота встречаемости	Стандартное отклонение	Аллельный вариант	Частота встречаемости	Стандартное отклонение	Аллельный вариант	Частота встречаемости	Стандартное отклонение
01	0,118421	0,007755	07	0,107613	0,007324	01	0,043233	0,004643
02	0,293703	0,009505	08	0,047932	0,004731	02	0,057331	0,004543
03	0,116071	0,006712	13	0,093045	0,005783	03	0,104323	0,005538
11	0,060620	0,004981	14	0,020677	0,002890	04	0,130639	0,006465
23	0,022086	0,003432	15	0,048402	0,004738	05	0,034305	0,004022
24	0,129229	0,007232	18	0,052632	0,004385	06	0,155075	0,006861
25	0,033835	0,003996	27	0,049342	0,005112	07	0,225564	0,008707
26	0,039474	0,004334	35	0,115132	0,006995	08	0,054981	0,004803
29	0,011278	0,002230	37	0,015508	0,002506	12	0,102444	0,007269
30	0,024436	0,003540	38	0,033365	0,003512	14	0,009868	0,002039
31	0,037124	0,004131	39	0,017857	0,003252	15	0,047932	0,004491
32	0,032425	0,003872	40	0,063910	0,005438	16	0,018327	0,003092
33	0,028665	0,003641	41	0,019737	0,003005	17	0,015977	0,002733
66	0,006579	0,001819	44	0,089286	0,006258			
68	0,044173	0,004716	45	0,001880	0,000945			
69	0,001410	0,000804	46	0,002820	0,001158			
74	0,000470	0,000435	47	0,000940	0,000775			
			48	0,030545	0,003670			
			49	0,023496	0,003282			
			50	0,021617	0,003197			
			51	0,063910	0,005419			
			52	0,019737	0,003191			
			53	0,001410	0,000787			
			54	0,003759	0,001418			
			55	0,007989	0,001870			
			56	0,003759	0,001338			
			57	0,024436	0,003772			
			58	0,018327	0,002868			
			73	0,000940	0,000630			

ке убывания частоты встречаемости следуют С*06 (15,51%), С*04 (13,06%), С*03 (10,43%) и С*12 (10,24%).

Аллельные варианты локуса HLA-DRB1 с частотами встречаемости и соответствующими стандартными отклонениями представлены в табл. 2. В изучаемой популяции выявлено 13 аллельных вариантов локуса HLA-DRB1, наибольшей частотой встречаемости из которых обладает аллельный вариант DRB1*07 (17,25%), далее следует DRB1*15 (12,73%), а затем аллельные варианты DRB1*13, DRB1*01 и DRB1*04, обладающие примерно одинаковой частотой встречаемости – 11,98; 11,84 и 11,61% соответственно.

Гаплотипы HLA-A-B-C-DRB1 были рассчитаны с помощью EM-алгоритма в программном обеспечении Arlequin. В табл. 3 представлены гаплотипы, частота встречаемости которых более 1%.

Таблица 2

**Аллельные варианты локуса HLA-DRB1
и частоты их встречаемости**
**HLA-DRB1 alleles and their allele
frequencies**

Аллельный вариант	Частота встречаемости	Стандартное отклонение
01	0,118421	0,006892
03	0,073308	0,006250
04	0,116071	0,006555
07	0,172462	0,007840
08	0,029605	0,003546
09	0,035714	0,004022
10	0,021147	0,002865
11	0,099624	0,005814
12	0,018327	0,002810
13	0,119831	0,006994
14	0,029605	0,003375
15	0,127350	0,007123
16	0,038534	0,003369

Таблица 3

**HLA-A-B-C-DRB1-гаплотипы
в порядке уменьшения частоты
встречаемости**
**HLA-A-B-C-DRB1 haplotypes
in order of decreasing haplotype frequency**

Аллельный вариант	Частота встречаемости	Стандартное отклонение
A*02-B*13-C*06-DRB1*07	0,028957	0,004369
A*03-B*35-C*07-DRB1*15	0,021806	0,003273
A*02-B*07-C*07-DRB1*15	0,019275	0,003423
A*24-B*07-C*07-DRB1*15	0,015560	0,003336
A*03-B*07-C*07-DRB1*15	0,014981	0,003237
A*02-B*48-C*08-DRB1*07	0,010605	0,002014
A*30-B*13-C*06-DRB1*07	0,010185	0,002171

Наибольшей частотой встречаемости обладает гаплотип A*02-B*13-C*06-DRB1*07, далее следуют A*03-B*35-C*07-DRB1*15, A*02-B*07-C*07-DRB1*15, A*24-B*07-C*07-DRB1*15, A*03-B*07-C*07-DRB1*15, A*02-B*48-C*08-DRB1*07, A*30-B*13-C*06-DRB1*07.

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование позволило получить данные о частотах встречаемости HLA-аллелей и гаплотипах в популяции, проживающей на территории Республики Башкортостан.

Согласно Всероссийской переписи населения 2010 года, национальный состав Республики Башкортостан следующий: русские – 36,1%, башкиры – 29,5%, татары – 25,4%, чувашаи – 2,7%, марийцы – 2,6%, украинцы – 1%, лица других национальностей – 2,7%. Поэтому наибольший интерес представляет сравнение аллельных вариантов HLA-локусов и гаплотипов популяции, проживающей на территории Республики Башкортостан, с популяциями татар, башкир и русских.

Наиболее часто встречающимся аллельным вариантом по локусу HLA-A является аллельный вариант A*02 с частотой встречаемости 29,37%, как и во всех российских популяциях [1, 9–11]. На втором и третьем местах по частоте встречаемости расположены аллельный вариант A*24 и аллельный вариант A*01, с частотами встречаемости 12,92 и 11,84% соответственно; аналогичный профиль распределения наиболее часто встречающихся аллельных вариантов HLA-локуса A выявлен у башкир, проживающих на территории Челябинской области [10], в то время как данный профиль распределения аллельных вариантов локуса HLA-A для популяции, проживающей на территории Кировской области, выглядит как HLA-A*02, A*03, A*24 [1], для татар, проживающих на территории Республики Татарстан – HLA-A*02, A*03, A*24 [9], для русских, проживающих на территории Челябинской области – HLA-A*02, A*01, A*03 [10], для татар, проживающих на территории Челябинской области – HLA-A*02, A*03, A*01 [10]. Необходимо отметить, что в одном случае нами был выявлен аллельный вариант A*74, который не был выявлен ни в одной из вышеуказанных популяций [1, 9, 10].

Наиболее распространенными аллельными вариантами локуса HLA-B в популяции, проживающей на территории Республики Башкортостан, в порядке уменьшения частоты встречаемости являются HLA-B*35, B*07, B*13, аналогичный профиль распределения был выявлен у татар, проживающих на территории Челябинской области [10]. Похожий профиль был выявлен у татар, проживающих на территории Республики Татарстан, с тем отличием, что на третьем месте располагается аллель-

ный вариант В*44 [10]. Для популяции Кировской области и русских, проживающих на территории Челябинской области, этот профиль выглядел как HLA-B*07, В*35, В*44 и HLA-B*07, В*44, В*35 соответственно [1, 10]. Наибольшее различие в распределении HLA-аллелей локуса В было выявлено с популяцией башкир Челябинской области, у которой этот профиль выглядел как HLA-B*13, В*51, В*07/40 [10]. Необходимо отметить, что аллельный вариант В*73, обладающий наименьшей частотой встречаемости, не был выявлен в популяциях Кировской области и Республики Татарстан, однако был выявлен во всех популяциях Челябинской области [1, 9, 10].

Аллельный профиль наиболее часто встречающихся аллельных вариантов по локусу HLA-C следующий – HLA-C*07, С*06, С*04, С*03, С*12. Похожий профиль был выявлен у татар Республики Татарстан, с той разницей, что аллельный вариант С*04 находится на втором месте, а С*06 – на третьем [9]. В настоящее время известно мало данных о частотах встречаемости локуса HLA-C в российских популяциях, что, вероятно, связано с тем, что большинство исследований в российских популяциях так или иначе связаны с базами данных потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток, для которых минимальными требованиями, предъявляемыми к таким донорам, является обязательное типирование только по локусам HLA-A, -B, -DRB1 [12].

Среди аллельных вариантов локуса HLA-DRB1 наиболее часто встречающимися являются DRB1*07 (17,25%), DRB1*15 (12,73%) и DRB1*13 (11,98%). Различия в профиле наблюдаются с популяцией татар Республики Татарстан, где на третьем месте расположен аллельный вариант DRB1*01 [9], с популяцией Кировской области, где на первом месте расположен аллельный вариант DRB1*15, на втором – DRB1*07, а на третьем – DRB1*01 [1], с популяцией русских Челябинской области, где на первом месте расположен аллельный вариант DRB1*01, на втором – DRB1*15, а на третьем – DRB1*07 [10]. Наибольшее различие в профиле распространенности аллельных вариантов локуса HLA-DRB1 наблюдается с башкирами Челябинской области, для которых профиль выглядит как DRB1*07, DRB1*13, DRB1*04 [10].

Анализ гаплотипов является также информативным при популяционных исследованиях. В общей сложности был выявлен 771 гаплотип HLA-A-B-C-DRB1 из 6848 возможных. Наибольшей частотой встречаемости обладает гаплотип HLA-A*02-B*13-C*06-DRB1*07 (2,89%), несмотря на то что аллельные варианты HLA-A*02, HLA-B*13, HLA-C*06, HLA-DRB1*07 по частоте встречаемости занимают

первое, третье, второе и первое место в соответствующем локусе, что, вероятнее всего, связано с неравновесием по сцеплению. Провести сравнение гаплотипов HLA-A-B-C-DRB1 популяции, проживающей на территории Республики Башкортостан, с другими популяциями не представляется возможным в связи с отсутствием указанных гаплотипов.

Проведенные исследования выявили, с одной стороны, некоторые сходства в распределении HLA-аллелей в популяции, проживающей на территории Республики Башкортостан, с популяциями Челябинской области и Волго-Вятского региона, а с другой стороны, выявленные новые аллели (2 на 1064 потенциальных донора ГСК), указывают на уникальность исследованной популяции. Это свидетельствует о необходимости дальнейшего расширения пула потенциальных доноров ГСК, привлеченных в указанном регионе, и подтверждает необходимость изучения российских популяций, проживающих в других субъектах Российской Федерации, прежде всего в тех, которые в настоящий момент совсем не представлены в национальном и международном регистрах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Wingard JR, Gastineau DA, Leather HL, Snyder EL, Szczepiorkowski ZM. Hematopoietic Stem Cell Transplantation. A Handbook for Clinicians. 2nd Edition. AABB, Bethesda, Maryland. 2015; 970.
2. Bone Marrow Donor Worldwide (2015). Available at: <http://www.bmdw.org/index.php?id=home>.
3. Счетчик регистра (2015). Доступен: <http://www.rusfond.ru/registr/009#counter> (обновление 28.10.2015). The counter register (2015). Available at: <http://www.rusfond.ru/registr/009#counter> (update 28.10.2015).
4. HARPs Finder (2015). Available at: <http://www.harps-finder.conexio-genomics.com/index.html>.
5. Excoffi *et al*, Laval G, Schneider S. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*. 2005; 1: 47–50.
6. Excoffi *et al*, Slatkin M. Maximum-Likelihood Estimation of Molecular Haplotype Frequencies in a diploid population. *Molecular Biology and Evolution*. 1995; 12: 921–927.
7. Sequence Alignment Tool. Available at: <http://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/align.html>.
8. Логинова МА, Трофимова НП, Парамонов ИВ. Генетические особенности популяции, проживающей на территории Кировской области. *Вестник службы крови России*. 2012; 1: 24–28. Loginova MA, Trofimova NP, Paramonov IV. The genetic characteristics of the population living on the territory of the Kirov region. *Vestnik sluzhby krovi Rossii*. 2012; 1: 24–28.
9. Loginova M, Paramonov I. HLA class I and class II and haplotypes in Tatars, living in the Republic of Tatarstan, Russia. 40th Annual Meeting Abstracts. *Tissue Antigens*. 2014; 84: 136.

10. *Suslova TA, Burmistrova AL, Chernova MS, Khromova EB, Lupar EI, Timofeeva SV et al.* HLA gene and haplotype frequencies in Russians, Bashkirs and Tatars, living in the Chelyabinsk Region (Russian South Urals). *International Journal of Immunogenetics*. 2012; 39: 394–408.
11. *Toropovskiy A, Tyumina O, Trusova L.* Estimation of HLA alleles and haplotypes frequencies distribution in population of the Samara Region. 36th Annual Meeting Abstracts. *Human Immunology*. 2010; 71 (Suppl. 1): S84.
12. EFI standards version 6.2. Available at: <http://www.efi-web.eu/efi-committees/standards-committee.html>.

*Статья поступила в редакцию 12.11.2015 г.
The article was submitted to the journal on 12.11.2015*

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 2016 год по месяцам

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)

ПВ	место	ли-тер
----	-------	--------

стои-мость	подписки	руб.
	пере-адресовки	руб.

коп.	количество	комплект
	комплект	

на 2016 год по месяцам

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

Куда

(почтовый индекс)
(адрес)

Кому

(фамилия, инициалы)

DOI: 10.15825/1995-1191-2016-1-67-77

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ

О.М. Цирульников^{1, 2}, И.В. Жилкин¹, Д.Г. Ахаладзе¹

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

² Кафедра трансплантологии и искусственных органов ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова», Москва, Российская Федерация

Трансплантация печени является единственным возможным путем лечения многих форм хронических заболеваний печени терминальной стадии у детей. Цитомегаловирус – наиболее распространенная и значимая инфекция у детей после трансплантации печени с развитием эпизодов ЦМВ-инфекции (ЦМВИ) или ЦМВ-заболевания. ЦМВИ ассоциирована с повышенным риском потери трансплантата. В обзоре литературы представлены такие аспекты, как этиология и эпидемиология ЦМВИ после трансплантации печени детям, применяемые подходы диагностики и профилактики ЦМВИ, алгоритмы дозирования валганцикловира, а также методы профилактики осложнений течения ЦМВИ. Также представлены последние данные о текущих стратегиях профилактики ЦМВИ в мировой практике.

Ключевые слова: трансплантация печени детям, цитомегаловирусная инфекция, профилактика цитомегаловирусной инфекции.

CLINICAL SIGNIFICANCE OF CYTOMEGALOVIRUS INFECTION IN PEDIATRIC LIVER TRANSPLANT RECIPIENTS

O.M. Tsirolnikova^{1, 2}, I.V. Zhilkin¹, D.G. Akhaladze¹

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, Department of transplantology and artificial organs, Moscow, Russian Federation

Liver transplantation is a life-saving procedure for many forms of end-stage liver disease in pediatrics. Cytomegalovirus (CMV) is the most common and significant posttransplant infection after pediatric liver transplant (PLT) with developing an episode of CMV infection or disease. It is well known that CMV increases risk of graft loss. The review presents aspects of etiology and epidemiology of CMV after PLT, approaches employed in diagnostics and prophylaxis of CMV, algorithms for valganciclovir dosing and methods to prevent complications associated with CMV. The latest data on current prevention strategies in pediatric liver transplantation centers in the world are also presented.

Key words: pediatric liver transplantation, cytomegalovirus infection, antiviral prophylaxis, preemptive therapy, antiviral therapy.

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на значительные успехи, достигнутые в трансплантации печени, инфекции занимают одно из ведущих мест среди осложнений, ухудшающих прогноз выживания трансплантата и пациента. Для реципиентов печени характерна предрасположенность к вирусным инфекциям, которые могут поражать как собственные органы реципиента, так и

трансплантат, нарушая его функцию. Наибольшую настороженность вызывает цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ), одна из опасностей которой заключается в тропизме к донорской печени с возможным развитием гепатита трансплантата [1].

Несмотря на значительные достижения в области профилактики и лечения, ЦМВИ остается частым осложнением после трансплантации печени и

Для корреспонденции: Жилкин Илья Владимирович. Адрес: 123182, г. Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. 8 (906) 716-08-16. E-mail: izhilkin@gmail.com.

For correspondence: Ilya Zhilkin. Address: 1, Shchukinskaya st., Moscow, 123182, Russian Federation. Tel. +7 (906) 716-08-16. E-mail: izhilkin@gmail.com.

может приводить к ухудшению отдаленных результатов и повышению смертности среди данной группы пациентов [2–4].

Основные направления борьбы с данным инфекционным осложнением широко описаны в мировой литературе, но публикации исследователей в большей степени относятся к трансплантации печени у взрослых, исследования в детской практике носят ограниченный характер. Основы профилактики и лечения ЦМВИ едины для пациентов разных возрастов, а различия касаются алгоритмов дозирования препаратов и особенностей течения инфекционного процесса, обусловленных, в первую очередь, отсутствием специфического иммунитета до проведения трансплантации у большей части педиатрического контингента реципиентов печени.

В настоящее время общепринятой практикой является проведение медикаментозной профилактики ЦМВИ, при этом мировой опыт профилактики ЦМВИ у детей после трансплантации печени носит ограниченный характер, что отражается в неоднозначности используемых протоколов диагностики инфекции, ее профилактики и лечения.

Анализ эффективности и соответствующие изменения в протоколах диагностики, профилактики и лечения ЦМВИ у детей после трансплантации печени являются значимыми задачами исследований.

ЭТИОЛОГИЯ И ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ЦМВИ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ

Инфекционные осложнения после трансплантации печени детям в настоящее время остаются одной из основных причин заболеваемости и смертности. Так, в исследовании R. Shepherd, включавшем 2291 ребенка после трансплантации печени, частота инфекционных осложнений в первые 15 месяцев после операции составила 52% [5].

Цитомегаловирус является одним из самых часто встречающихся вирусных агентов, который влияет на исход трансплантации печени [6, 7]. ДНК-геномный вирус рода *Cytomegalovirus* (*Cytomegalovirus hominis*) относится к подсемейству *Betaherpesvirinae* семейства *Herpesviridae*. Особенности ЦМВ по сравнению с другими герпетическими вирусами являются: крупная ДНК, возможность репликации без повреждения клеток, невысокая цитопатогенность, медленная репликация вируса, низкая вирулентность, низкая чувствительность ко многим аналогам нуклеозидов, резкое подавление клеточного иммунитета.

Цитомегаловирус широко распространен как среди пациентов в состоянии длительной медикаментозной иммуносупрессии, так и среди населения в целом, по данным исследования R. Razonable, инфицированность популяции составляет от 60 до 100% [6, 7]. Резервуаром ЦМВ в природе является

только человек. Из зараженного организма вирус выделяется с мочой, слюной и слезной жидкостью.

Серьезной проблемой является возможность заражения ЦМВ реципиентов крови – известно, что при переливании крови от серопозитивных доноров заражается от 15 до 40% детей и 2–3% взрослых. Еще более значимые проблемы инфицирования ЦМВ связаны с трансплантацией органов, поскольку фактором передачи инфекции может быть не только трансфузия компонентов крови, но и пересаженный орган [8].

Частота встречаемости ЦМВИ у детей после трансплантации печени варьирует в широких пределах, что связано с различными схемами профилактики ЦМВИ, степенью иммуносупрессии, различными методиками подтверждения наличия инфекции. В исследовании J. Bowman в 1991 году были получены показатели инфицирования ЦМВ среди детей после трансплантации печени, не получавших профилактической противовирусной терапии, на уровне 40%, при показателях смертности около 19% [9]. По данным японского исследования Y. Kawano, среди детей после родственной трансплантации печени уровень инфицирования ЦМВ был 36,3%, из них частота ЦМВ-заболевания составила 60,6%. Данное исследование включало 93 пациента, у которых противовирусная профилактика не использовалась, а превентивная терапия началась при выявлении ЦМВИ методом диагностики pp65-позитивных лимфоцитов [10]. По данным исследования G. Indolfi (2012), среди детей в течение 21 дня после трансплантации печени показатель реактивации инфекции составил 29%, а вместе с первичной инфекцией частота виремии достигала 44% [11].

В раннем периоде после трансплантации наиболее важными показателями ЦМВИ являются: частота манифестации инфекции, частота рецидивирования ЦМВИ, частота развития клинической картины с развитием ЦМВ-заболевания. При достаточном уровне медикаментозной противовирусной профилактики частота встречаемости данной инфекции среди пациентов после трансплантации печени варьирует, по данным различных исследователей, в диапазоне от 14,3 [12] до 32% [13]. Наименьшие показатели рецидивирования достигаются в центрах, которые придерживаются трех основных принципов: 1 – интенсивность профилактики должна быть тем выше, чем выше степень медикаментозной иммуносупрессии; 2 – профилактика должна быть начата до реактивации цитомегаловируса; 3 – с целью предотвращения возобновления инфекции профилактика должна продолжаться не менее трех месяцев после завершения терапии активного эпизода ЦМВИ.

ОСОБЕННОСТИ ПАТОГЕНЕЗА ТЕЧЕНИЯ ЦМВИ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ

Латентное носительство ЦМВ у донора может стать причиной инфицирования реципиента при трансфузии компонентов крови, трансплантации печени. Фармакологически-индуцированное подавление иммунной системы у реципиента печени также представляет собой серьезный фактор риска реактивации эндогенной инфекции или первичной активации вируса в клетках трансплантата, приводящей в короткие сроки к лихорадке и ткане-инвазивному заболеванию, а в отдаленные сроки – к дисфункции трансплантата и снижению выживаемости пациента [6, 7, 14–16].

Особенности вируса играют большую роль в патогенезе ЦМВИ у реципиентов печени: ЦМВ реактивируется из латентного состояния при активации цитокинового ответа при отторжении трансплантата и при течении процесса системного воспаления, в этой ситуации происходит выработка фактора некроза опухоли и других провоспалительных цитокинов, которые, в свою очередь, активируют внутриклеточные факторы репликации (такие как ядерный фактор транскрипции NF- κ B), происходит репликация вирусной ДНК и активация латентной ЦМВИ [17].

Характерный патоморфологический признак ЦМВ – гигантские клетки, выявляемые в тканях, слюне, мокроте, осадке мочи и цереброспинальной жидкости. Клетки имеют внутриядерные и цитоплазматические включения и содержат размножающийся вирус. Изменения ядра клетки придают ей морфологическое сходство с совиным глазом. Гигантские клетки локализуются преимущественно в эпителии выводных протоков слюнных желез, в эпителии дистальных отделов нефрона в почках, в эпителии желчных протоков в печени, в эпителии эпендимы желудочков головного мозга.

В ответ на воздействие ЦМВ в окружающей интерстициальной ткани возникают лимфогистиоцитарные инфильтраты, имеющие иногда характер узелков. При генерализованной форме чаще наблюдается поражение легких, почек и кишечника, реже – печени и других органов. Наряду с гигантскими клетками и лимфогистиоцитарными инфильтратами в легких обнаруживают картину интерстициальной пневмонии, в почках – интерстициального нефрита, в кишечнике – язвенного энтероколита, в печени – холестатического гепатита.

Ранний период после трансплантации является наиболее критичным для развития ЦМВИ, рецидивирование чаще всего происходит в первые три месяца после трансплантации, большая часть вирусемий встречается в первые 6 недель после трансплантации, что в первую очередь связано с необходимос-

тью поддержания высокого уровня медикаментозной иммуносупрессии в ранние сроки после трансплантации [15].

У детей после трансплантации печени более высок риск первичного инфицирования ЦМВ и развития ЦМВ-заболевания по сравнению с группой взрослых реципиентов, что обусловлено большей частотой первичного контакта с инфекцией в период максимальной иммуносупрессии.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЦМВИ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ

ЦМВИ является одним из самых частых инфекционных осложнений вирусной этиологии как среди взрослых пациентов, так и среди детей после трансплантации печени. Степень выраженности клинических эффектов варьирует в широком диапазоне от полностью бессимптомного течения до ЦМВ-заболевания.

Классификация [7, 8, 15, 16, 18–20]

1. ЦМВИ: первичная, рецидив латентной инфекции.
2. Последствия течения ЦМВИ: прямые эффекты, не прямые эффекты.
3. Клиническое течение: ЦМВ-носительство (латентное течение); эпизод активной ЦМВИ (без клинических проявлений); ЦМВ-заболевание с инвазией в ткани (с клиническими проявлениями).
4. Сроки возникновения после трансплантации печени: ранняя ЦМВИ (до 90 дней), поздняя ЦМВИ (более 90 дней).

Прямые эффекты

Прямые эффекты ЦМВИ могут включать гриппоподобный или мононуклеозоподобный синдром, часто сопровождающийся нейтропенией, возможны также поражение почек, печени, сердца, легких, поджелудочной железы, кишечника [18]. Обычно прямые эффекты разделяют на ЦМВ-синдром и ЦМВ-заболевание с инвазией вируса в ткани [19]. Неспецифический вирусный синдром характеризуется лихорадкой, гематологическими изменениями в виде лейкопении, атипичного лимфоцитоза, тромбоцитопении. Тканеинвазивное заболевание манифестирует с поражением внутренних органов (желудочно-кишечный тракт, печень, легкие) [7, 20]. Чаще всего ЦМВ поражает желудочно-кишечный тракт: ЦМВ-гастрит, энтерит, эзофагит, колит, что составляет более 70% среди всех ЦМВ-заболеваний среди пациентов после трансплантации [21]. ЦМВ-ретинит является редким осложнением течения ЦМВИ, может протекать без клинических проявлений, особенно если поражение затрагива-

ет периферическую область сетчатки, в некоторых случаях поздней диагностики и неэффективности лечения может приводить к ухудшению зрения [22]. Исследование D. Gotthardt (Германия) продемонстрировало, что ЦМВ может поражать желчные протоки и приводить первично к развитию холангита, а впоследствии к клинически значимым сужениям протоков вне зоны анастомоза и микроповреждениям желчных протоков после трансплантации печени [23].

В целом среди пациентов после трансплантации органа ЦМВ-заболевание развивается в 18–29% случаев [15, 16, 24]. Существенное влияние на тяжесть течения инфекционного процесса оказывает стратегия профилактики ЦМВИ. По результатам ряда исследований, без применения специфической противовирусной профилактики ЦМВИ с характерной клинической картиной развивается у 22–60% пациентов в период 30–90 дней после трансплантации [19, 25, 26].

Также существенным фактором для развития клинических проявлений ЦМВИ является отсутствие специфического иммунитета до проведения трансплантации. По данным исследования R. Desai (2015), десятилетняя выживаемость пациентов после трансплантации печени с сочетанием серостатусов Д+/Р– («Д+» – наличие у донора печени антител к ЦМВ, «Р–» – отсутствие у реципиента антител к ЦМВ) была на 13% ниже по сравнению с пациентами группы Д–/Р– [27].

P. Rebessa и соавт., применяя гибридный подход профилактики ЦМВИ среди 34,4% детей с положительной ПЦР ЦМВ, у 9,8% выявили клинические проявления ЦМВ-заболевания [28].

Непрямые эффекты

Большинство исследователей приходят к выводу, что в дополнение к прямым эффектам инвазивной инфекции ЦМВИ также ассоциирована с непрямymi эффектами: повышение вероятности дисфункции и отторжения трансплантата [17, 20, 29]. У пациентов после трансплантации печени показатели выживаемости трансплантата были ниже в случаях регистрации ЦМВИ, чем у пациентов из группы не перенесших данную инфекцию [30, 31]. В исследовании S. Arthurs, включающем 67 наблюдений, обнаружено, что пациенты с клинической картиной ЦМВИ имели повышенный примерно в 1,5 раза риск смерти или потери трансплантата [14].

По данным исследования P. Gupta, включившим 285 детей после трансплантации печени, была подтверждена значимая взаимосвязь между ЦМВИ и хроническим отторжением трансплантата [32]. Взаимосвязь ЦМВИ с повышенной вероятностью развития хронического отторжения также подтвердило исследование P. Evans, когда продолжительность

виремии более 30 дней достоверно приводила к повышению риска развития хронического отторжения [33].

Воздействие цитомегаловируса приводит к изменениям иммунного ответа, изменяя молекулы, включенные в механизмы иммунного распознавания и воспаления. Как результат, влияния ЦМВ связаны с общей неспецифической иммуносупрессией, что приводит к повышению риска развития оппортунистических инфекций [34]. ЦМВИ у пациентов после трансплантации печени является фактором риска развития бактериальных инфекций, прогрессирования гепатита С, инвазивной грибковой инфекции (включая *Pneumocystis carinii*, *Aspergillus fumigatus* и *Candida albicans*) [34, 35]. По данным исследования A. Milan была получена статистически значимая корреляция между наличием ЦМВИ и частотой сопутствующей бактериальной инфекции, среди пациентов с ЦМВИ у 81% была выявлена сопутствующая инфекция, для пациентов без ЦМВИ показатель составил 24% [36]. Также установлено, что наличие ЦМВИ ассоциировано с ростом случаев посттрансплантационного лимфопролиферативного заболевания, индуцированного вирусом Эпштейна–Барр [37–41].

ДИАГНОСТИКА

Выявление виремии методом полимеразной цепной реакции

Наиболее надежным методом обнаружения ЦМВИ является количественная полимеразная цепная реакция (ПЦР), с помощью которой происходит обнаружение вирусной ДНК. Рутинным методом подтверждения диагноза является измерение уровня вирусной нагрузки в периферической крови, данный метод особенно важен для выявления субклинических форм ЦМВИ [42]. Количественная ПЦР является более чувствительным методом оценки степени инфицирования по сравнению с определением белка pp65.

По данным обзора L. Danziger-Isakov, в 2014 году мониторинг вирусной нагрузки использовался при профилактике ЦМВИ в 26 из 29 центров США и Канады [43].

В США в протоколе наблюдения и диагностики для детей после трансплантации печени рекомендовано проведение ПЦР ЦМВ в сыворотке крови каждые две недели в течение первых трех месяцев после трансплантации и ежемесячно в течение года после трансплантации [44].

Выявление антигенемии

Другой используемый в зарубежных исследованиях метод позволяет выявить наличие белка pp65, который является специфичным антигеном цитоме-

галовируса. В течение периода активной репликации вируса данный белок накапливается в основном в гранулоцитах и в меньшей степени в моноцитах. Таким образом, регистрируется количество антиген-положительных клеток на 100 тысяч лейкоцитов. Преимущество количественного обнаружения pp65 заключается в том, что, несмотря на меньшую чувствительность метода, он показывает большую корреляцию с развитием ЦМВ-заболевания [45].

В 2014 году L. Danziger-Isakov было проведено масштабное обзорное исследование, включившее в себя данные о рекомендациях и протоколах, используемых в 29 центрах, проводящих трансплантацию печени у детей (27 центров в США, 2 центра в Канаде). В результате было установлено, что в протоколах скрининга инфекции в периоде до трансплантации во всех центрах используются серологические исследования, в 12 центрах используется ПЦР ЦМВ сыворотки крови, в 3 центрах исследуется ЦМВ-антигенемия. После трансплантации большинство центров использует метод ПЦР для мониторинга вирусной нагрузки, а периодичность диагностики варьирует от еженедельной в ранние сроки до одного раза в 3 месяца в поздние сроки [43].

В настоящее время, по данным мировой литературы, нет единых подходов к методам диагностики ЦМВИ как среди взрослых реципиентов печени, так и в группе реципиентов печени детского возраста. Чаще используется мониторинг наличия вирусной ДНК в крови реципиента методом ПЦР, реже используется определение антигенемии методом обнаружения белка pp65. Вне зависимости от используемого метода обнаружения не существует единообразного и обоснованного подхода к частоте проводимых исследований и зависимости от сроков после трансплантации печени, применяемых протоколов иммуносупрессии и других значимых факторов.

ФАКТОРЫ РИСКА ДЛЯ РАЗВИТИЯ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ ЦМВ-ЗАБОЛЕВАНИЯ

Наиболее серьезным фактором риска развития ЦМВ-заболевания в посттрансплантационном периоде является отсутствие специфического иммунитета к цитомегаловирусу [46]. К группе высокого риска относят реципиентов, у которых не выявлялась ЦМВИ на этапе до трансплантации печени, получивших орган от донора с подтвержденной ЦМВИ [47, 48]. Пациенты с сочетанием серологического статуса D-/P- показали наименьшую вероятность возникновения ЦМВИ – 4,17%, что было значительно меньше, чем у пациентов из групп D+/P+ (24,1%) и D+/P- (35,7%) [45]. Еще одним фактором риска инфицирования ЦМВ и развития ЦМВ-заболевания после трансплантации печени являются

необходимые многочисленные трансфузии компонентов крови [29].

Назначение иммуносупрессивных препаратов детям после трансплантации печени оказывает существенное влияние на возможности эффективного иммунного ответа при возникновении ЦМВИ, тем самым способствуя развитию ЦМВ-заболеваний. Риск возникновения ЦМВИ коррелирует с интенсивностью иммуносупрессии [49].

В ряде исследований подтверждено влияние уровня вирусной нагрузки на степень тяжести клинических проявлений. Манифестация ЦМВ-заболевания с поражением внутренних органов тем более вероятна, чем выше уровень вирусной нагрузки [4, 50].

Таким образом, можно говорить о целом ряде дополнительных факторов риска развития ЦМВИ, что подтверждает необходимость выработки единых подходов профилактического назначения противовирусных препаратов, протоколов диагностики инфекции и коррекции назначаемой комплексной терапии в зависимости от уровня вирусной нагрузки и других значимых факторов с целью снижения вероятности рецидивирования инфекции и развития клинических проявлений ЦМВ у детей после трансплантации печени.

ПРОФИЛАКТИКА ЦМВИ

В настоящее время существует два основных направления в профилактике ЦМВ-заболеваний среди детей после трансплантации печени [51]:

1. Стратегия, основанная на превентивной терапии, когда проводится периодический мониторинг наличия ЦМВИ (ПЦР-определение виремии или pp65-антигенемия) с назначением терапии в случае выявления инфекции с целью профилактики прогрессирования клинических симптомов заболевания.
2. Стратегия универсальной профилактики, когда противовирусные препараты, такие как валганцикловир, ганцикловир назначаются всем пациентам из группы риска развития ЦМВИ после трансплантации печени.

Таким образом, стратегия превентивной терапии не является профилактикой развития репликации вируса ЦМВ, а выступает в роли профилактики клинически значимого ЦМВ-заболевания, тогда как универсальная профилактика призвана предотвратить развитие виремии, тем самым являясь профилактикой ЦМВИ.

Данную проблему следует рассматривать с позиций точек приложения профилактики и лечения:

- 1) профилактика ЦМВИ;
- 2) лечение бессимптомного эпизода активной ЦМВИ = профилактика ЦМВ-заболевания;
- 3) лечение ЦМВ-заболевания.

До начала применения профилактики ЦМВИ данная инфекция была ассоциирована с повышенным риском потери трансплантата и смерти после трансплантации печени [52–55], было продемонстрировано снижение частоты данных осложнений с использованием профилактики в двух метаисследованиях [48, 56]. Также имеются сведения о том, что без применения профилактических противовирусных препаратов примерно в 44–65% случаев развивается ЦМВИ в течение первого года после трансплантации печени [2, 3, 15, 57, 58], а в случае назначения курса профилактической терапии в течение первых трех месяцев после трансплантации заболеваемость снижается до 12–30% [2, 14, 15]. Назначение профилактической терапии привело к снижению частоты не прямых эффектов ЦМВИ – отторжения трансплантата, подтвержденного биопсией [59], а также улучшило показатели выживания пациентов после трансплантации [60]. А. Kalil с соавторами пришли к заключению, что только профилактический подход может вести к снижению частоты ЦМВ-заболеваний с поражением внутренних органов среди пациентов из групп высокого риска [56].

Вопросы выбора стратегии профилактики развития ЦМВ-заболеваний у детей после трансплантации печени были подробно рассмотрены в исследовании А. Campbell, где также предлагались различные методики определения уровня риска развития ЦМВИ, которые в основном касались соотношения серологических статусов донора и реципиента. При высоком уровне риска развития ЦМВИ предлагалось использовать подход универсальной профилактики, при низком уровне – превентивный подход. Кроме того, был использован гибридный подход: профилактическое внутривенное введение ганцикловира в первые две недели после трансплантации с последующим переходом на превентивную стратегию с проведением мониторинга вирусемии [61].

По данным проведенного К. Mumtaz в 2015 году метаанализа, включающего 2456 пациентов после трансплантации печени в 32 исследованиях, опубликованных в базах данных MEDLINE, EMBASE, Cochrane, частота ЦМВ-заболеваний была 10% у пациентов, получающих противовирусные препараты профилактически и 7% – у пациентов, получающих превентивную терапию. При этом частота потери трансплантата была значимо выше в группе получавших превентивную терапию относительно группы с применяемой универсальной профилактикой, вне зависимости от сочетания серостатусов донора/реципиента [62].

Несомненно, что дискуссии о подходах к профилактике возникают из-за существующих проблем всеобщего охвата профилактическим лечением:

ганциклоvir-индуцированная лейкопения, различные типы неврологических нарушений, развитие вирусной резистентности к современным противовирусным препаратам, высокая степень вероятности манифестации ЦМВ-заболевания после завершения курса профилактики [45].

В настоящее время после трансплантации печени общепринятой является следующая профилактика ЦМВИ: профилактическое введение низких доз противовирусных препаратов, как правило, в течение 90 дней всем пациентам [54, 59] или, по крайней мере, пациентам из группы высокого риска («ЦМВ+»-донор в сочетании с «ЦМВ-»-реципиентом) [63].

Среди алгоритмов профилактики ЦМВИ у детей в зависимости от типа используемых препаратов существуют следующие подходы [47]:

- 1) монотерапия ганцикловиrom/валганцикловиrom;
- 2) ганциклоvir/валганциклоvir и иммуноглобулин;
- 3) монотерапия иммуноглобулином.

В ранние сроки после трансплантации чаще всего применяется ганциклоvir внутривенно в течение от 4 до 12 недель [64], с последующим переходом на прием валганцикловира внутрь.

По данным обзорного исследования, дополнительные лечебные мероприятия используются значительно реже у детей после трансплантации печени. Например, введение специфического ЦМВ-иммуноглобулина используется в 6 центрах из 29 опрошенных и только для профилактики в случае максимального риска при серостатусе Д+/Р–, 4 из 29 центров используют специфический иммуноглобулин в случае положительного серостатуса реципиента (Д+/Р+, Д–/Р+), в одном центре используется специфический иммуноглобулин в качестве единственного средства профилактики [43]. Следует отметить, что применение ЦМВ-иммуноглобулина в качестве дополнительного средства в рамках профилактики ЦМВИ в настоящее время не практикуется и не рекомендовано к применению в педиатрической практике [43, 65].

По данным исследования 2014 года L. Danziger-Isakov, в 26 из 29 центров трансплантации печени детям используется профилактика ЦМВ для всех реципиентов, если выявлен положительный серостатус донора или реципиента. Если же серостатус отрицательный и со стороны донора, и со стороны реципиента, то профилактика назначается в 15 центрах из 29. В большинстве центров (16 из 29) используется схема с началом профилактики с помощью внутривенного ганцикловира в течение 1–14 дней с последующим переходом на энтеральный путь введения профилактических препаратов. Сроки профилактики варьируются от 80 до

200 дней, большинство центров (18 из 29) используют профилактику ЦМВ от 80 до 120 дней [43].

Создание возможностей для проведения специфической иммунопрофилактики является одной из важнейших задач, стоящих перед мировым научным сообществом. Несмотря на то что первые клинические испытания вакцины от ЦМВ были проведены более 30 лет назад, вакцины для профилактики цитомегаловирусной инфекции до сих пор недоступны для использования в общей практике [66]. Подходы к разработке вакцин включали использование живой аттенуированной вакцины, убитой и субъединичной вакцины, ДНК-вакцины [67]. В 2008 году было проведено испытание двухкомпонентной альфа-вирусной репликон-вакцины (AVX601), экспрессирующей три белка цитомегаловируса (gB, pp65, IE1), которое показало хорошую безопасность и высокую иммунологическую эффективность в виде высокого титра защитных антител в сочетании с полнофункциональным CD4+ и CD8+ антиген-специфическим Т-клеточным ответом. После трехкратного введения вакцины защитный уровень антител был получен в 93% наблюдений при введении низкой дозы и 100% – в группе с высокой дозой вакцины [66].

Таким образом, в мировой литературе одним из самых дискуссионных вопросов остается сложность выбора стратегии профилактики ЦМВ-заболеваний у детей после трансплантации печени: следует ли начинать профилактику до появления ЦМВ-виремии, следует ли выделять группы повышенного риска развития ЦМВИ для выбора стратегии профилактики, какова эффективность профилактики непосредственных и отдаленных результатов перенесенной ЦМВИ после трансплантации печени, какова экономическая эффективность выбранной стратегии. В настоящее время в данных вопросах нет единых подходов в педиатрической практике, в связи с чем существует необходимость продолжения исследований в этой области для дальнейшего уточнения стратегии профилактики ЦМВИ.

ЛЕЧЕНИЕ ЦМВИ

О начале лечения ЦМВИ можно говорить с момента подтверждения наличия инфекции по данным ПЦР или pp65. Применяемая тактика лечения зависит от нескольких определяющих факторов:

- 1) степень риска развития ЦМВ-заболевания;
- 2) частота выявления ЦМВИ, рецидивирующее течение;
- 3) устойчивость вируса к базовой терапии, длительность виремии;
- 4) степень тяжести клинических проявлений.

Обычно противовирусная терапия назначается на период не менее 14 дней при выявлении положительной ПЦР ЦМВ, отменяется при получении

двух отрицательных ПЦР ЦМВ. В терапии обычно используется ганцикловир внутривенно или валганцикловир внутрь [45], клинические результаты применения которых имеют схожие результаты [68].

Золотым стандартом профилактической и превентивной терапии является ганцикловир [3, 65]. При мониторинге концентрации ганцикловира в крови терапевтическим окном считается от 40 до 60 мг/л/час, AUC (T 0–24) для профилактики и AUC (T 0–12) для лечения активного заболевания, где AUC T (area under the plasma concentration vs. Time curve) – площадь под частью фармакокинетической кривой, от начала исследования (t = 0) до некоторого времени t = T (в часах). Валганцикловир является пролекарством ганцикловира с высоким уровнем биодоступности (около 60%) при приеме внутрь, соответственно, обладает близким клиническим эффектом при поддержании необходимой концентрации в плазме крови. Следует отметить, что данные сравнения клинической эффективности ограничены среди педиатрической группы пациентов после трансплантации [69].

Ганцикловир является малой молекулой (255,23 дальтон) с низким уровнем связывания с белками плазмы (3%), выводимой в основном через почки [1]. В связи с этим при расчете дозировки валганцикловира для поддержания необходимой концентрации ганцикловира необходимо учитывать функцию почек пациента. В настоящее время наиболее широко в педиатрической практике применяется алгоритм расчета дозировки Pescovitz [70]: дозировка валганцикловира (мг) = $7 \times \text{BSA} (\text{м}^2) \times \text{клиренс креатинина} (\text{мл/мин}/1,73 \text{ м}^2, \text{ по формуле Schwartz})$, где BSA – body surface area (площадь поверхности тела) [71].

Недавно D. Villeneuve и соавторы предложили новый алгоритм расчета дозировки валганцикловира (SCH-алгоритм) с целью поддержания лучшего уровня концентрации в плазме у детей от 6 месяцев до 3 лет. Эта стратегия основана на расчете 14–16 мг/кг веса пациента с корректировкой на почечную функцию по стандартам для взрослых пациентов [72].

Далее A. Asberg был предложен еще один алгоритм расчета дозировки валганцикловира, который показал лучшие результаты по достижению необходимого уровня концентрации ганцикловира в плазме крови. Формула для расчета по Asberg (2013) [69]: дозировка валганцикловира (мг): $\text{вес (кг)} \times (0,07 \times \text{скорость клубочковой фильтрации} [\text{мл/мин}] + k)$, где k = 5 для СКФ ≤ 30 мл/мин; k = 10 для СКФ > 30 мл/мин при весе > 30 кг; k = 15 для СКФ > 30 мл/мин при весе ≤ 30 кг.

При выявлении резистентности к внутривенной терапии ганцикловиром в сочетании с наличием клинических проявлений ЦМВИ или у детей с со-

храняющейся или возрастающей ЦМВ-нагрузкой в течение не менее 14 дней на фоне противовирусной терапии рекомендуется дополнительное исследование генотипа резистентного вируса и назначение препаратов второй линии – фоскарнета и цидофовира [20].

К настоящему времени общепринятой является базовая терапия ЦМВИ такими препаратами, как ганцикловир, валганцикловир. В РФ фоскарнет и цидофовир не зарегистрированы, в связи с чем возможность их применения ограничена. Также остаются вопросы алгоритмов дозирования препаратов для максимально адекватного поддержания терапевтической концентрации, кроме того, в настоящее время нет единых общепринятых стандартов по срокам курса лечения, оценкам его эффективности, методикам перехода на профилактические дозировки препаратов, а также срокам необходимой профилактики после элиминации вируса. Данные вопросы требуют дальнейшего изучения в программах трансплантации печени детям.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Цитомегаловирусная инфекция у детей после трансплантации печени является причиной различных состояний: дисфункция трансплантата, снижение показателей выживаемости реципиентов, увеличение предрасположенности к оппортунистическим инфекциям, злокачественным заболеваниями.

Большинство авторов отмечают преимущество профилактики ЦМВИ. Профилактика последствий ЦМВИ возможна двумя путями: лечение противовирусными препаратами при выявлении положительных результатов исследований на вирусы, другой путь – предупреждающая профилактика у всех реципиентов печени из групп риска.

Каждый подход имеет свои преимущества и недостатки с точки зрения эффективности, стоимости и побочных эффектов, в настоящее время стандарты оказания помощи для профилактики ЦМВИ у детей после трансплантации печени не установлены.

Преимущества профилактики включают в себя подавление виремии и бессимптомное предотвращение прямых и косвенных последствий инфицирования ЦМВ. Проводимые ранее исследования показали снижение смертности среди пациентов, получавших препараты для профилактики ЦМВИ.

Оптимальная продолжительность профилактического курса противовирусных препаратов остается неопределенной. Увеличение длительности профилактики может улучшить клинический результат в группе пациентов наиболее высокого риска.

Таким образом, в настоящее время выполнено большое количество исследований в области изучения ЦМВИ после трансплантации печени у взрос-

лых пациентов. В педиатрических программах трансплантации печени ЦМВИ является менее изученной. Уже намечены основные тенденции, но нет однозначных подходов к диагностике, профилактике и лечению ЦМВИ у детей после трансплантации печени, в связи с чем необходимо продолжение исследований в этих направлениях, с особым вниманием к осложнениям, ассоциированным с ЦМВИ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Готье СВ, Константинов БА, Цирульникова ОМ. Трансплантация печени. М.: МИА, 2008. *Gautier SV, Konstantinov BA, Tsiurulnikova OM. Transplantatsiya pecheni. M.: MIA, 2008.*
2. Åsberg A, Rollag H, Hartmann A. Valganciclovir for the prevention and treatment of CMV in solid organ transplant recipients. *Expert Opin Pharmacother.* April 2010. <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1517/14656561003742954?journalCode=ieop20>. Accessed November 24, 2015.
3. Beam E, Razonable RR. Cytomegalovirus in solid organ transplantation: epidemiology, prevention, and treatment. *Curr Infect Dis Rep.* 2012; 14 (6): 633–641. doi:10.1007/s11908-012-0292-2.
4. Fishman J, Emery V, Freeman R et al. Cytomegalovirus in transplantation – Challenging the status quo. *Clin Transplant.* 2007; 21 (2): 149–158. doi:10.1111/j.1399-0012.2006.00618.x.
5. Shepherd RW, Turmelle Y, Nadler M et al. Risk factors for rejection and infection in pediatric liver transplantation. *Am J Transplant.* 2008; 8 (2): 396–403. doi:10.1111/j.1600-6143.2007.02068.x.
6. Razonable RR, Paya CV. Herpesvirus infections in transplant recipients: current challenges in the clinical management of cytomegalovirus and Epstein–Barr virus infections. *Herpes.* 2003; 10 (3): 60–65. <http://europepmc.org/abstract/med/14759337>. Accessed November 25, 2015.
7. Razonable RR, Emery VC. Management of CMV infection and disease in transplant patients. 27–29 February 2004. *Herpes.* 2004; 11 (3): 77–86. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15960905>. Accessed November 25, 2015.
8. Цирульникова ОМ, Цирульникова ИЕ. Инфекции в трансплантологии; под ред. С.В. Готье. 2009; 223–246. *Tsiurulnikova OM, Tsiurulnikova IE. Infekcii v transplantologii; pod red. Gautier S.V. 2009; 223–246.*
9. Bowman JS, Green M, Scantlebury VP et al. OKT3 and viral disease in pediatric liver transplant recipients. *Clin Transplant.* 1991; 5 (4): 294–300. <http://www.pubmed-central.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3002137&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. Accessed November 26, 2015.
10. Kawano Y, Mizuta K, Sanada Y et al. Risk Factors of Cytomegalovirus Infection After Pediatric Liver Transplantation. *Transplant Proc.* 2014; 46 (10): 3543–3547. doi:10.1016/j.transproceed.2014.09.150.
11. Indolfi G, Heaton N, Smith M, Mieli-Vergani G, Zuckerman M. Effect of early EBV and/or CMV viremia on

- graft function and acute cellular rejection in pediatric liver transplantation. *Clin Transpl.* 2012; 26 (1): E55–E61. doi:10.1111/j.1399-0012.2011.01535.x.
12. Jain A, Orloff M, Kashyap R et al. Does valganciclovir hydrochloride (valcyte) provide effective prophylaxis against cytomegalovirus infection in liver transplant recipients? *Transplant Proc.* 2005; 37 (7): 3182–3186. doi:10.1016/j.transproceed.2005.07.032.
 13. Singh N, Wannstedt C, Keyes L, Wagener MM, Gayowski T, Cacciarelli TV. Indirect outcomes associated with cytomegalovirus (opportunistic infections, hepatitis C virus sequelae, and mortality) in liver-transplant recipients with the use of preemptive therapy for 13 years. *Transplantation.* 2005; 79 (10): 1428–1434. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15912115>. Accessed November 26, 2015.
 14. Arthurs SK, Eid AJ, Pedersen RA et al. Delayed-onset primary cytomegalovirus disease after liver transplantation. *Liver Transpl.* 2007; 13 (12): 1703–1709. doi:10.1002/lt.21280.
 15. Gane E, Saliba F, Valdecasas GJ et al. Randomised trial of efficacy and safety of oral ganciclovir in the prevention of cytomegalovirus disease in liver-transplant recipients. *Lancet.* 1997; 350 (9093): 1729–1733. doi:10.1016/S0140-6736(97)05535-9.
 16. Paya C, Humar A, Dominguez E et al. Efficacy and safety of valganciclovir vs. oral ganciclovir for prevention of cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant.* 2004; 4 (4): 611–620. doi:10.1111/j.1600-6143.2004.00382.x.
 17. Fishman JA, Emery V, Freeman R et al. Cytomegalovirus in transplantation – challenging the status quo. *Clin Transplant.* 21 (2): 149–158. doi:10.1111/j.1399-0012.2006.00618.x.
 18. Fishman JA, Rubin RH. Infection in organ-transplant recipients. *N Engl J Med.* 1998; 338 (24): 1741–1751. doi:10.1056/NEJM199806113382407.
 19. Ljungman P, Griffiths P, Paya C. Definitions of cytomegalovirus infection and disease in transplant recipients. *Clin Infect Dis.* 2002; 34 (8): 1094–1097. doi:10.1086/339329.
 20. Kelly DA, Bucuvalas JC, Alonso EM et al. Long-term medical management of the pediatric patient after liver transplantation: 2013 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases and the American Society of Transplantation. *Liver Transpl.* 2013; 19 (8): 798–825. doi:10.1002/lt.23697.
 21. Fica A, Cervera C, Pérez N et al. Immunohistochemically proven cytomegalovirus end-organ disease in solid organ transplant patients: clinical features and usefulness of conventional diagnostic tests. *Transpl Infect Dis.* 2007; 9 (3): 203–210. doi:10.1111/j.1399-3062.2007.00220.x.
 22. Squires JE, Sisk RA, Balistreri WF, Kohli R. Isolated unilateral cytomegalovirus retinitis: a rare long-term complication after pediatric liver transplantation. *Pediatr Transplant.* 2013; 17 (1): E16–E19. doi:10.1111/j.1399-3046.2012.01752.x.
 23. Gotthardt DN, Senft J, Sauer P et al. Occult cytomegalovirus cholangitis as a potential cause of cholestatic complications after orthotopic liver transplantation? A study of cytomegalovirus DNA in bile. *Liver Transpl.* 2013; 19 (10): 1142–1150. doi:10.1002/lt.23713.
 24. Hoppe L, Marroni CA, Bressane R et al. Impact of cytomegalovirus infection on long-term survival after orthotopic liver transplantation. *Transplant Proc.* 2006; 38 (6): 1924–1925. doi:10.1016/j.transproceed.2006.06.074.
 25. Sun H-Y, Wagener MM, Singh N. Prevention of post-transplant cytomegalovirus disease and related outcomes with valganciclovir: a systematic review. *Am J Transplant.* 2008; 8 (10): 2111–2118. doi:10.1111/j.1600-6143.2008.02369.x.
 26. Kullberg-Lindh C, Ascher H, Krantz M, Lindh M. Quantitative analysis of CMV DNA in children the first year after liver transplantation. *Pediatr Transplant.* 2003; 7 (4): 296–301. doi:10.1034/j.1399-3046.2003.00086.x.
 27. Kanj SS, Sharara AI, Clavien P-A, Hamilton JD. Cytomegalovirus Infection Following Liver Transplantation: Review of the Literature. *Clin Infect Dis.* 1996; 22 (3): 537–549. doi:10.1093/clinids/22.3.537.
 28. Madan RP, Campbell AL, Shust GF et al. A hybrid strategy for the prevention of cytomegalovirus-related complications in pediatric liver transplantation recipients. *Transplantation.* 2009; 87 (9): 1318–1324. doi:10.1097/TP.0b013e3181a19cda.
 29. John LR. Forsythe. *Transplantation.* Elsevier Science; 2013.
 30. Falagas ME, Arbo M, Ruthazer R et al. Cytomegalovirus disease is associated with increased cost and hospital length of stay among orthotopic liver transplant recipients. *Transplantation.* 1997; 63 (11): 1595–1601. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9197352>. Accessed November 25, 2015.
 31. Hardinger KL, Schnitzler MA, Brennan DC. Cytomegalovirus increases the rate of graft loss after liver transplantation. *Am J Transpl.* 2003; 5: 523.
 32. Gupta P, Hart J, Cronin D, Kelly S, Millis JM, Brady L. Risk factors for chronic rejection after pediatric liver transplantation. *Transplantation.* 2001; 72 (6): 1098–1102. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11579307>. Accessed November 26, 2015.
 33. Evans PC, Soin A, Wreghitt TG, Taylor CJ, Wight DG, Alexander GJ. An association between cytomegalovirus infection and chronic rejection after liver transplantation. *Transplantation.* 2000; 69 (1): 30–35. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10653376>. Accessed November 26, 2015.
 34. Rubin RH. Importance of CMV in the transplant population. *Transpl Infect Dis.* 1999; 1 (Suppl. 1): 3–7. <http://europepmc.org/abstract/med/11565584>. Accessed November 26, 2015.
 35. Paya CV. Indirect effects of CMV in the solid organ transplant patient. *Transpl Infect Dis.* 1999; 1 (Suppl. 1): 8–12. <http://europepmc.org/abstract/med/11565588>. Accessed November 26, 2015.
 36. Milan A, Sampaio AM, Guardia AC et al. Identification of Bacterial Infections and Clinical Manifestation Associated With Cytomegalovirus in Liver Transplantation Patients. *Transplant Proc.* 2013; 45 (3): 1130–1132. doi:10.1016/j.transproceed.2013.02.016.

37. Harkins L, Volk AL, Samanta M et al. Specific localisation of human cytomegalovirus nucleic acids and proteins in human colorectal cancer. *Lancet (London, England)*. 2002; 360 (9345): 1557–1563. doi:10.1016/S0140-6736(02)11524-8.
38. Samanta M, Harkins L, Klemm K, Britt WJ, Cobbs CS. High prevalence of human cytomegalovirus in prostatic intraepithelial neoplasia and prostatic carcinoma. *J Urol*. 2003; 170 (3): 998–1002. doi:10.1097/01.ju.0000080263.46164.97.
39. Basgoz N, Preiksaitis JK. Post-transplant lymphoproliferative disorder. *Infect Dis Clin North Am*. 1995; 9 (4): 901–923. <http://europepmc.org/abstract/med/8747772>. Accessed November 26, 2015.
40. Mañez R, Breinig MC, Linden P et al. Posttransplant Lymphoproliferative Disease in Primary Epstein–Barr Virus Infection after Liver Transplantation: The Role of Cytomegalovirus Disease. *J Infect Dis*. 1997; 176 (6): 1462–1467. doi:10.1086/514142.
41. Cobbs CS, Harkins L, Samanta M et al. Human Cytomegalovirus Infection and Expression in Human Malignant Glioma. *Cancer Res*. 2002; 62 (12): 3347–3350. <http://cancerres.aacrjournals.org/content/62/12/3347.short>. Accessed November 26, 2015.
42. Smith BA, Shuchman M. Problem of nonadherence in chronically ill adolescents: strategies for assessment and intervention. *Curr Opin Pediatr*. 2005; 17 (5): 613–618. doi:10.1097/01.mop.0000176443.26872.6e.
43. Danziger-Isakov L, Bucavals J. Current prevention strategies against cytomegalovirus in the studies in pediatric liver transplantation (SPLIT) centers. *Am J Transplant*. 2014; 14 (8): 1908–1911. doi:10.1111/ajt.12755.
44. Bedel AN, Hemmelgarn TS, Kohli R. Retrospective review of the incidence of cytomegalovirus infection and diseases post liver transplantation in pediatric patients: comparison of prophylactic oral ganciclovir versus oral valganciclovir. *Liver Transpl*. 2012; 18 (3): 347–354. doi:10.1002/lt.22471. Retrospective.
45. Müller V, Perrakis A, Meyer J et al. The value of preemptive therapy for cytomegalovirus after liver transplantation. *Transplant Proc*. 2012; 44 (5): 1357–1361. doi:10.1016/j.transproceed.2011.11.067.
46. Lee S, Razonable R. Current concepts on cytomegalovirus infection after liver transplantation. *World j hepatol*. 2010; 2 (9): 325–336. doi:10.4254/wjh.v2.i9.325.
47. Krampe K, Briem-Richter A, Fischer L, Nashan B, Ganschow R. The value of immunoprophylaxis for cytomegalovirus infection with intravenous immunoglobulin in pediatric liver transplant recipients receiving a low-dose immunosuppressive regimen. *Pediatr Transplant*. 2010; 14 (3): 67–71. doi:10.1111/j.1399-3046.2008.01120.x.
48. Hodson EM, Jones CA, Webster AC et al. Antiviral medications to prevent cytomegalovirus disease and early death in recipients of solid-organ transplants: a systematic review of randomised controlled trials. *Lancet (London, England)*. 2005; 365 (9477): 2105–2115. doi:10.1016/S0140-6736(05)66553-1.
49. Sester U, Gärtner BC, Wilkens H et al. Differences in CMV-specific T-cell levels and long-term susceptibility to CMV infection after kidney, heart and lung transplantation. *Am J Transplant*. 2005; 5 (6): 1483–1489. doi:10.1111/j.1600-6143.2005.00871.x.
50. Cope AV, Sabin C, Burroughs A, Rolles K, Griffiths PD, Emery VC. Interrelationships among Quantity of Human Cytomegalovirus (HCMV) DNA in Blood, Donor–Recipient Serostatus, and Administration of Methylprednisolone as Risk Factors for HCMV Disease following Liver Transplantation. *J Infect Dis*. 1997; 176 (6): 1484–1490. doi:10.1086/514145.
51. Razonable A. Cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients: advances lead to new challenges and opportunities. *Curr Opin Organ Transplant*. 2008; 2 (1): 610–617. <http://www.turkiyeklinikleri.com/article/en-cytomegalovirus-disease-in-solid-organ-transplant-recipients-advances-lead-to-new-challenges-and-opportunities-56994.html>. Accessed November 26, 2015.
52. Falagas ME. Effect of Cytomegalovirus Infection Status on First-Year Mortality Rates among Orthotopic Liver Transplant Recipients. *Ann Intern Med*. 1997; 126 (4): 275. doi:10.7326/0003-4819-126-4-199702150-00003.
53. Falagas ME, Paya C, Ruthazer R et al. Significance of Cytomegalovirus for Long-Term Survival after Orthotopic Liver Transplantation. *Transplantation*. 1998; 66 (8): 1020–1028. doi:10.1097/00007890-199810270-00010.
54. Seehofer D, Rayes N, Neumann UP et al. Changing impact of cytomegalovirus in liver transplantation – a single centre experience of more than 1000 transplantations without ganciclovir prophylaxis. *Transpl Int*. 2005; 18 (8): 941–948. doi:10.1111/j.1432-2277.2005.00162.x.
55. de Otero J, Gavalda J, Murio E et al. Cytomegalovirus Disease as a Risk Factor for Graft Loss and Death After Orthotopic Liver Transplantation. *Clin Infect Dis*. 1998; 26 (4): 865–870. doi:10.1086/513949.
56. Kalil AC, Levitsky J, Lyden E, Stoner J, Freifeld AG. Meta-analysis: the efficacy of strategies to prevent organ disease by cytomegalovirus in solid organ transplant recipients. *Ann Intern Med*. 2005; 143 (12): 870–880. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16365468>. Accessed November 24, 2015.
57. Razonable RR. Cytomegalovirus infection after liver transplantation: current concepts and challenges. *World J Gastroenterol*. 2008; 14 (31): 4849–4860. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2739936&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. Accessed November 24, 2015.
58. Paya CV, Wilson JA, Espy MJ et al. Preemptive Use of Oral Ganciclovir to Prevent Cytomegalovirus Infection in Liver Transplant Patients: A Randomized, Placebo-Controlled Trial. *J Infect Dis*. 2002; 185 (7): 854–860. doi:10.1086/339449.
59. Slifkin M, Ruthazer R, Freeman R et al. Impact of cytomegalovirus prophylaxis on rejection following orthotopic liver transplantation. *Liver Transpl*. 2005; 11 (12): 1597–1602. doi:10.1002/lt.20523.
60. Falagas ME, Snyderman DR, Ruthazer R et al. Cytomegalovirus immune globulin (CMVIG) prophylaxis is associated with increased survival after orthotopic liver transplantation. The Boston Center for Liver Transplantation CMVIG Study Group. *Clin Transplant*. 1997;

- 11 (5 Pt 1): 432–437. <http://europepmc.org/abstract/med/9361936>. Accessed November 26, 2015.
61. Campbell AL, Herold BC. Strategies for the prevention of cytomegalovirus infection and disease in pediatric liver transplantation recipients. *Pediatr Transplant*. 2004; 8 (6): 619–627. doi:10.1111/j.1399-3046.2004.00242.x.
 62. Mumtaz K, Faisal N, Husain S, Morillo A, Renner EL, Shah PS. Universal prophylaxis or preemptive strategy for cytomegalovirus disease after liver transplantation: a systematic review and meta-analysis. *Am J Transplant*. 2015; 15 (2): 472–481. doi:10.1111/ajt.13044.
 63. Park JM, Lake KD, Arenas JD, Fontana RJ. Efficacy and safety of low-dose valganciclovir in the prevention of cytomegalovirus disease in adult liver transplant recipients. *Liver Transpl*. 2006; 12 (1): 112–116. doi:10.1002/lt.20562.
 64. Strippoli GFM, Hodson EM, Jones C, Craig JC. Preemptive treatment for cytomegalovirus viremia to prevent cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients. *Transplantation*. 2006; 81 (2): 139–145. doi:10.1097/01.tp.0000183970.71366.da.
 65. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM et al. Updated international consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid-organ transplantation. *Transplantation*. 2013; 96 (4): 333–360. doi:10.1097/TP.0b013e31829df29d.
 66. Wloch MK, Smith LR, Boutsaboualoy S et al. Safety and immunogenicity of a bivalent cytomegalovirus DNA vaccine in healthy adult subjects. *J Infect Dis*. 2008; 197 (12): 1634–1642. doi:10.1086/588385.
 67. Modlin JF, Arvin AM, Fast P, Myers M, Plotkin S, Rabinovich R. Vaccine Development to Prevent Cytomegalovirus Disease: Report from the National Vaccine Advisory Committee. *Clin Infect Dis*. 2004; 39 (2): 233–239. doi:10.1086/421999.
 68. Togashi J, Sugawara Y, Hashimoto M et al. Oral valganciclovir versus intravenous ganciclovir as preemptive treatment for cytomegalovirus infection after living donor liver transplantation: A randomized trial. *Biosci Trends*. 2011; 5 (5): 217–222. doi:10.5582/bst.2011.v5.5.217.
 69. Asberg A, Bjerre A, Neely M. New algorithm for valganciclovir dosing in pediatric solid organ transplant recipients. *Pediatr Transplant*. 2014; 18 (1): 103–111. doi:10.1111/petr.12179.
 70. Pescovitz MD, Ettenger RB, Strife CF et al. Pharmacokinetics of oral valganciclovir solution and intravenous ganciclovir in pediatric renal and liver transplant recipients. *Transpl Infect Dis*. 2010; 12 (3): 195–203. doi:10.1111/j.1399-3062.2009.00478.x.
 71. Schwartz GJ, Feld LG, Langford DJ. A simple estimate of glomerular filtration rate in full-term infants during the first year of life. *J Pediatr*. 1984; 104 (6): 849–854. doi:10.1016/S0022-3476(84)80479-5.
 72. Villeneuve D, Brothers A, Harvey E et al. Valganciclovir dosing using area under the curve calculations in pediatric solid organ transplant recipients. *Pediatr Transplant*. 2013; 17 (1): 80–85. doi:10.1111/petr.12030.

Статья поступила в редакцию 14.01.2016 г.
The article was submitted to the journal on 14.01.2016

DOI: 10.15825/1995-1191-2016-1-78-82

СОЧЕТАННАЯ ТРАНСПЛАНТАЦИЯ СЕРДЦА И ПОЧКИ

В.Н. Попцов

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

Сочетанная трансплантация сердца и почки является одним из возможных направлений эффективного лечения больных с сочетанием терминальной застойной сердечной недостаточности (ЗСН) и почечной недостаточности. Выделяют одномоментную, комбинированную, или симультанную (simultaneous), трансплантацию сердце-почка (КТСП) от одного и того же донора, а также последовательные (staged) трансплантации сердца и почки от двух генетически различных доноров. ISHLT также отмечает рост числа ежегодно выполняемых КТСП – от 22 (1994 г.) до 97 (2012 г.). В статье приводится мировой опыт выполнения КТСП, обсуждаются показания к ее выполнению, в том числе у пациентов с диализ-независимой почечной недостаточностью. Отмечается, что особенностью КТСП по сравнению с изолированной ТС и аллотрансплантацией трупной почки является меньшая частота и выраженность отторжения как сердечного, так и почечного трансплантата, а также частота возникновения болезни коронарных артерий пересаженного сердца. Приводится собственный опыт двух последовательных трансплантаций сердца и почки. Обсуждаются показания для одномоментной (симультанной) и последовательной трансплантации сердца и почки.

Ключевые слова: трансплантация сердца, трансплантация почки.

COMBINED HEART-KIDNEY TRANSPLANTATION

V.N. Poptsov

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

Combined heart-kidney transplantation may be performed in carefully selected patients with end-stage heart disease and renal failure. There are two types of combined transplantation of heart and kidney: 1) simultaneous heart-kidney transplantation (SHKT) from the same donor; 2) staged transplantation of heart and kidneys from two genetically different donors. The ISHLT registry in 2014 reported an increase in the number of SHKT over the years: from 22 in 1994 to 97 in 2012. World experience demonstrated excellent results of SHKT. Recipients of SHKT had superior survival, lower rates of acute cardiac and renal rejection compared to heart recipients. This article discusses the indications for simultaneous or staged heart-kidney transplantation in patients with dialysis-independent or dialysis-dependent renal failure, results and posttransplant survival of SHKT recipients. The author describes his own experience of 2 staged combined heart-kidney transplantations.

Key words: heart transplantation, kidney transplantation.

Количество пациентов с необратимыми заболеваниями сердца и почек увеличивается, что ведет к росту потенциальных кандидатов и на трансплантацию сердца (ТС), и на трансплантацию почки (ТП). Комбинированная трансплантация сердца

и почки является одним из возможных направлений эффективного лечения больных с сочетанием терминальной застойной сердечной недостаточности (ЗСН) и почечной недостаточности. Выделяют одномоментную, или симультанную (simultaneous),

Для корреспонденции: Попцов Виталий Николаевич. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1.
Тел. +7 (963) 644-96-39. E-mail: poptsov_vit@mail.ru.

For correspondence: Poptsov Vitaly Nicolaevich. Address: 1, Shchukinskaya st., Moscow, 123182, Russia.
Tel. +7 (963) 644-96-39. E-mail: poptsov_vit@mail.ru.

трансплантацию сердца–почки от одного и того же донора, а также последовательные (staged) трансплантации сердца и почки от двух генетически различных доноров [1]. В соответствии с протоколом «UNOS-Standard Transplant Analysis and Research» симультанной, или одномоментной, следует считать трансплантацию сердца и почки, выполненную одна за другой в интервале не более 24 ч [2].

Первый опыт комбинированной трансплантации сердца и почки (КТСП) принадлежит D.A. Cooley и соавт. (1978) [3]. Большинство научных публикаций о КТСП представляют опыт ее выполнения отдельными трансплантационными центрами и включают небольшое количество собственных наблюдений (от 6 до 24) [1, 4–6]. Единичные исследования основаны на анализе трансплантационных регистров, включающих данные и о КТСП ($n = 84$, 1997 г.; $n = 263$, 2009 г.; $n = 593$, 2014 г.) [2, 7, 8]. В большинстве исследований анализируются результаты трансплантации сердца–почки, выполненной от одного мультиорганного донора со смертью головного мозга.

Результаты первого кумулятивного исследования, основанного на данных регистра UNOS (1987–1995 гг.) о 84 КТСП из 14 340 ТС, были опубликовано в 1997 г. [8]. В соответствии с регистром OPTN/UNOS в период 01.1998–31.01.2007 в США было выполнено 16 710 ТС, 68 833 аллотрансплан-

тации трупной почки (АТПП) и 263 КТСП (1,6% от ТС или 0,4% от АТПП) [7]. Количество выполненных за 2-летний период КТСП возросло с 42 (1999–2000 гг.) до 78 (2005–2006 гг.). Число КТСП в США за 2000–2010 гг. (регистр OPTN/UNOS) составило 593 из 26 183 ТС [2]. ISHLT также отмечает рост числа ежегодно выполняемых КТСП – с 22 в 1994 г. до 97 в 2012 г. (рис.).

По данным регистра OPTN/UNOS (2009 г.), средний возраст реципиентов КТСП ($52,9 \pm 10,9$ года) и реципиентов сердца ($52,0 \pm 11,9$ года) не отличался [7]. Большая часть (55,5%) реципиентов сердца–почки на момент трансплантации относилась к возрастной категории 40–59 лет, у 31,9% реципиентов возраст был старше 60 лет. Только 42,6% реципиентов до трансплантации нуждались в заместительной почечной терапии (ЗПТ), у 57,4% до КТСП диализная терапия не проводилась. По сравнению с ТС при КТСП доля реципиентов с ХПН, развившейся на фоне сахарного диабета, была в 2,5 раза больше (13,3% против 5,4%).

Недавняя публикация Т. Karamlou и соавт. (2014) посвящена анализу 593 КТСП и 26 183 ТС, данные по которым были получены из UNOS database (2000–2010 гг.) [2]. По сравнению с незначительным (3,6%) ростом ТС количество КТСП увеличилось на 147%. В отличие от реципиентов сердца пациенты, которым выполнили КТСП, были достовер-

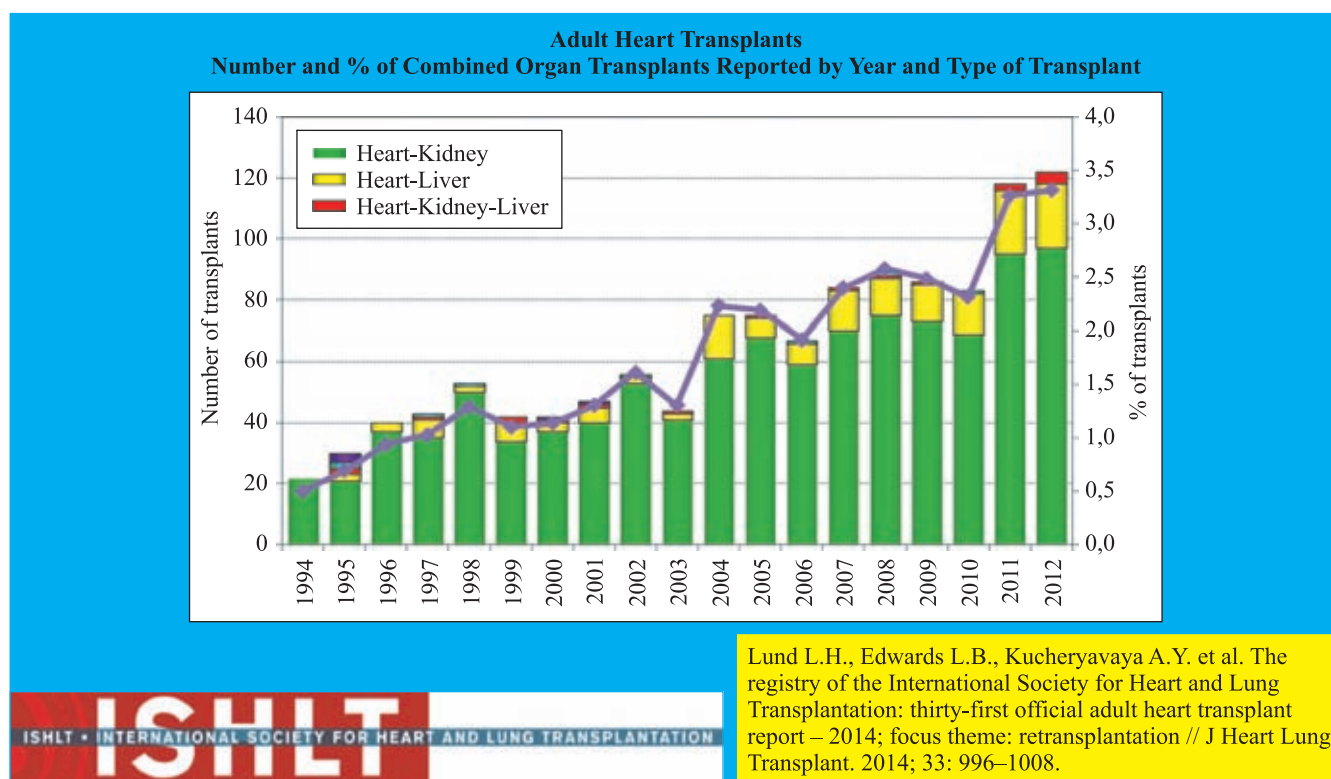


Рис. Комбинированная трансплантация сердца и других солидных органов (регистр ISHLT, 2014)

Fig. Adult Heart Transplants Number and % of Combined Organ Transplants Reported by Year and Type of Transplant (From International Society for Heart and Lung Transplantation Transplant Registry, 2014)

но старше (51 ± 13 лет против 45 ± 20 лет), имели более высокий уровень креатинина крови ($3,4 \pm 2,8$ мг/дл против $1,2 \pm 0,7$ мг/дл) и чаще страдали СД (40% против 36%). По времени нахождения в листе ожидания реципиенты существенно не различались (193 ± 35 дней для ТС и 212 ± 22 дня для КТСП). До трансплантации 26% реципиентов сердца–почки получали лечение диализом в календарном интервале более 30 дней.

Общепризнанные показания к КТСП до сих пор не разработаны. По мнению Т. Karamlow и соавт. (2014), это обусловлено непредсказуемостью изменения функции почек после ТС [2]. С одной стороны, у части реципиентов, даже с выраженным предтрансплантационным нарушением функции почек, возможно ее улучшение на фоне позитивных изменений системной гемодинамики, с другой – усугубление предтрансплантационной почечной дисфункции/недостаточности, требующей применения ЗПТ в ранние сроки после ТС, является предиктором неблагоприятного послеоперационного исхода. Приблизительно 10% реципиентов сердца нуждаются в ЗПТ в раннем посттрансплантационном периоде. Е. Raichlin и соавт. (2011) выявили, что у 44% реципиентов с предтрансплантационной скоростью клубочковой фильтрации <40 мл/мин после ТС развилась хроническая почечная недостаточность, которая у 25% реципиентов потребовала последующей трансплантации почки [9]. Т. Karamlow и соавт. (2014) считают, что выполнение КТСП предпочтительнее, чем изолированной ТС, у пациентов с предтрансплантационной скоростью клубочковой фильтрации <37 мл/мин [2]. M.R. Vossler et al. (2002) утверждают, что предтрансплантационный уровень креатинина более 1,6 мг/дл следует рассматривать в качестве предиктора развития ХПН после ТС и показанием к трансплантации и сердца, и почки [10]. Е. Sadvie и соавт. (1994) показанием к КТСП считают скорость клубочковой фильтрации <30 мл/мин [11].

Несколько исследований были посвящены неотложности выполнения, срокам нахождения и летальности в листе ожидания ТС или КТСП пациентов с диализ-зависимой и диализ-независимой почечной недостаточностью. К. Lietz и соавт. (2007) и Т.Р. Sigh и соавт. (2012) на фоне увеличения количества выполняемых пересадок сердца–почки выявили снижение летальности в листе ожидания на КТСП [12, 13]. 3-месячная летальность потенциальных реципиентов сердца–почки 1А, 1В и 2-го статуса UNOS составила соответственно 13–16, 7–9 и 4%, а процентное отношение выполненных КТСП у потенциальных реципиентов 1А, 1В и 2-го статуса UNOS – соответственно 58–59, 48–51, 23–30%. В недавнем исследовании J.M. Schaffer и соавт. (2014) установили, что 3-месячная летальность по-

тенциальных реципиентов с диализ-зависимой почечной недостаточностью в листе ожидания ТС и КТСП была соответственно 31 и 21%, а у пациентов с диализ-независимой почечной дисфункцией – 12 и 7% [14]. Кроме того, авторы установили, что, несмотря на высокий уровень летальности в листе ожидания, больше половины пациентов с диализ-зависимой почечной недостаточностью были отнесены к 1В и 2-му статусу неотложности выполнения трансплантации, а с диализ-независимой почечной дисфункцией – ко 2-му статусу UNOS. По мнению J.M. Schaffer и соавт. (2014), повышение статуса неотложности (до 1А) должно ускорить выполнение КТСП и ТС у пациентов с диализ-зависимой и диализ-независимой почечной недостаточностью/дисфункцией и снизить смертность в листе ожидания данной категории потенциальных реципиентов [14].

Обсуждается целесообразность выполнения КТСП потенциальным реципиентам сердца с сопутствующей диализ-независимой почечной дисфункцией. По данным разных исследований, диализ-независимая почечная дисфункция до трансплантации наблюдалась у 35,7% [2], 52,9% [7], 74% [15] реципиентов сердца–почки. Если у пациентов с терминальной ЗСН и диализ-зависимой почечной недостаточностью выполнение КТСП признано предпочтительным в связи с существенно лучшей посттрансплантационной выживаемостью по сравнению с изолированной ТС, то при диализ-независимой почечной дисфункции выполнение сочетанной пересадки сердца–почки оспаривается. J.M. Schaffer и соавт. (2014) считают, что совершенствование системы распределения донорских органов и очередности выполнения трансплантации позволит сократить время ее ожидания у большинства потенциальных реципиентов сердца с диализ-независимой почечной дисфункцией. ТС до развития необратимых изменений способствует быстрому восстановлению функции почек и уменьшению потребности в КТСП [14].

Одни трансплантационные центры выполняют КТСП одновременно с ТС, максимально сокращая сроки ишемии донорской почки [16]. В других трансплантационных центрах при КТСП пересадку почки от одного и того же генетически идентичного донора производят после окончания ТС (в среднем через 15 ч). При этом считается, что включение в кровотока трансплантированной почки на фоне более стабильной функции сердечного трансплантата обеспечивает лучшие гемодинамические условия для начала функционирования почечного трансплантата при условии снижающихся дозировок инотропных и вазопрессорных препаратов, более высокого системного, и соответственно, почечного перфузионного давления [15, 17]. Сторонники од-

новременного выполнения ТС и почки утверждают, что удлинение сроков ишемии почечного трансплантата способствует увеличению экспрессии антигенов класса I и II комплекса гистосовместимости в почечной паренхиме, которая считается более иммуногенной, и ведет к увеличению частоты и выраженности эпизодов отторжения и к ускоренной потере функции почечного трансплантата [18].

L.S.R. Czer и соавт. (Cedars-Sinai Heart Institute, Лос-Анжелес, США) в период 1992–2009 гг. выполнили 440 ТС и 30 КТСП (или 7% от ТС) [15]. В 21 из 30 наблюдений трансплантацию почки осуществляли после стабилизации функции сердечного трансплантата и повторного поступления пациента в операционную из отделения интенсивной терапии, у 9 пациентов – сразу после окончания ТС. Время ишемии почечного трансплантата в данном исследовании составило от 4 до 49 ($14,6 \pm 9,0$) ч. По данным регистра OPTN/UNOS, время ишемии почечного трансплантата у 46,4% реципиентов сердца-почки было менее 14 ч, у 20,9% – 15–26 ч и у 3,4% – более 26 ч [7].

Особенностью КТСП по сравнению с изолированной ТС и аллотрансплантацией трупной почки является меньшая частота и выраженность отторжения как сердечного, так и почечного трансплантата, а также частоты возникновения болезни коронарных артерий пересаженного сердца. J.I. Hermesen и соавт. (2007) при анализе собственного опыта 19 КТСП выявили достоверное удлинение интервала «трансплантация – первый эпизод отторжения» [17]. По данным исследования L.S.C. Czer и соавт. (2011), у реципиентов КТСП частота развития острого клеточного отторжения 3А и большей степени сердечного трансплантата составила 6,6%, а у реципиентов изолированной ТС – 10,4% [15]. После КТСП ни у одного из реципиентов не отмечено возникновения острого криза гуморального отторжения сердечного трансплантата. В этом же исследовании частота возникновения болезни коронарных артерий у реципиентов КТСП была существенно меньше, чем у реципиентов изолированной ТС – соответственно 6,9% против 13,4% [15].

Истинные механизмы уменьшения частоты отторжения обоих трансплантатов при КТСП до сих пор неизвестны. Предполагается, что причиной этого может быть развитие феномена иммунной толерантности. Меньшая частота эпизодов острого отторжения обоих или нескольких трансплантатов выявлена и при других типах симультанной трансплантации – трансплантации печени и почки, почки и поджелудочной железы, трансплантации сердечно-легочного комплекса [19]. Предполагается, что большая антигенная нагрузка, отражением которой является более выраженная экспрессия главного комплекса гистосовместимости (МНС), при комбинированной пересадке

сопровождается изменением уровня растворимых антигенов гистосовместимости, индукцией апоптоза аллореактивных Т-клеток и активацией супрессорных клеток [20]. Возможно, что при КТСП это создает условия для развития иммунной толерантности, уменьшения эпизодов острого отторжения и удлинения интервала «трансплантация – первый эпизод отторжения» обоих пересаженных органов. Высказывается предположение, что при КТСП почечный трансплантат обеспечивает иммунную защиту пересаженного сердца [21].

Для оценки результативности КТСП производилось сравнение выживаемости реципиентов сердца-почки и реципиентов сердца. Хотя реципиенты сердца-почки и реципиенты сердца имели сходные показатели 1- и 4-летней посттрансплантационной выживаемости (соответственно 84,0 против 86,9% и 77,4 против 76,5%), при мультивариантном анализе Gill J. и соавт. выявили, что риск летального исхода у реципиентов сердца-почки на 44% ниже, чем у реципиентов сердца [7]. Также оценивалось влияние дотрансплантационной диализной терапии на результативность изолированной ТС и КТСП. Данные регистра OPTN/UNOS (2009 г.) четко продемонстрировали существенно худшую выживаемость реципиентов сердца с дотрансплантационной диализной терапией ($n = 251$) по сравнению с реципиентами сердца-почки ($n = 47$) – соответственно 41,5 против 80% [7]. Показатель 4-летней выживаемости реципиентов сердца-почки ($n = 41$) оказался сопоставим с тем же показателем у реципиентов сердца без дотрансплантационного диализа ($n = 5944$). По сравнению с реципиентами трупной почки выживаемость реципиентов сердца-почки была хуже в 1-й год после трансплантации (84,0 против 94,5%). В дальнейшем по показателям летальности реципиенты не различались.

ФГБУ «ФНЦТИО им. академика В.И. Шумакова» располагает собственным опытом выполнения последовательных трансплантаций сердца и почки у двух пациентов. В одном наблюдении (пациент 27 лет) аллотрансплантация трупной почки была выполнена через 9 суток после ретрансплантации сердца, которая, в свою очередь, была осуществлена на 61-е сутки после первичной трансплантации сердца. В связи с хронической дисфункцией почечного трансплантата пациенту была произведена ретрансплантация почки на 334-е сутки после первичной пересадки почки. В настоящее время функция сердечного и почечного трансплантатов удовлетворительная. Во втором наблюдении пациенту 63 лет на 489-й день после ТС была выполнена успешная аллотрансплантация трупной почки. В настоящее время функция обоих трансплантатов удовлетворительная.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сочетание терминальной застойной сердечной недостаточности с диализ-независимой или диализ-зависимой почечной недостаточностью различной этиологии требует принятия решения о целесообразности выполнения одновременной (симультанной) трансплантации сердца–почки от одного донора либо последовательных (раздельных) трансплантаций сердца и почки от двух различных доноров. При удовлетворительной первичной функции сердечного трансплантата и устойчивой системной гемодинамике возможно выполнение симультанной (одновременной) трансплантации сердца–почки с гарантированной начальной функцией почечного трансплантата. При неустойчивой системной гемодинамике и наличии других нежелательных факторов представляется целесообразным отсроченное выполнение трансплантации почки после стабилизации клинического состояния реципиента сердца.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Blanche C, Valenza M, Czer LS et al. Combined heart and kidney transplantation with allografts from same donor. *Ann Thorac Surg.* 1994; 58: 1135.
2. Karamlou T, Welke KF, McMullan DM, Cohen GA et al. Combined heart-kidney transplant improves post-transplant survival compared with isolated heart transplantation in recipients with reduced glomerular filtration rate: analysis of 593 combined heart-kidney transplants from the United Network Organ Sharing Database. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2014; 147: 456–461.
3. Norman JC, Brook MI, Cooley DA et al. Total support of the circulation of a patients with post-cardiotomy stone-heart syndrome by partial artificial heart (ALVAD) for 5 days followed by heart and kidney transplantation. *Lancet.* 1978; 1: 1125–1127.
4. Kabschill L, Schleicher C, Palmes D et al. Renal graft outcome in combined heart-kidney transplantation compared to kidney transplantation alone: a single-center, matched-control study. *Thorac Cardiovasc Surg.* 2012; 60: 57–63.
5. Laufner G, Kocher A, Grabenwoger M et al. Simultaneous heart and kidney transplantation as treatment for end-stage heart and kidney failure. *Transplantation.* 1997; 64: 1129–1134.
6. Trachiotis GD, Vega JD, Johnston TS et al. Ten-year follow-up in patients with combined heart and kidney transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2003; 123: 2065–2071.
7. Gill J, Shah T, Hristea I et al. Outcomes of simultaneous heart-kidney transplant in the US: a retrospective analysis using OPTN/UNOS data. *Am J Transplant.* 2009; 9: 844–852.
8. Narula J, Bennett LE, DiSalvo T et al. Outcomes in recipients of combined heart-kidney transplantation: multiorgan, same-donor transplant study of Heart and Lung Transplantation/ United Network for Organ Sharing Scientific Registry. *Transplantation.* 1997; 63: 861–867.
9. Raichin E, Kushwaha SS, Daly RC et al. Combined heart and kidney transplantation provides excellent survival and decreased risk of cellular rejection and coronary allograft vasculopathy. *Transplant Proc.* 2011; 43: 1871–1776.
10. Vossler MR, Ni H, Toy W, Hershberger RE. Pre-operative renal function predicts development of chronic renal insufficiency after orthotopic heart transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2002; 21: 874–881.
11. Savdie E, Keogh A, Macdonald P et al. Simultaneous transplantation of the heart and kidney. *Aus N Z J Med.* 1994; 24: 554–560.
12. Lietz K, Miller LW. Improved survival of patients with end-stage heart failure listed for heart transplantation: analysis of organ procurement and transplantation network / U.S. United Network of Organ Sharing data, 1990 to 2005. *J Am Coll Cardiol.* 2007; 50: 1282–1290.
13. Singh TP, Almond CS, Taylor DO et al. Decline in heart transplant wait list mortality in the United States following broader regional sharing of donor hearts. *Circ Heart Fail.* 2012; 5: 249–258.
14. Schaffer JM, Chiu P, Singh SK, Oyer PE, Reitz BA, Mallidi HR. Heart and combined heart-kidney transplantation in patients with concomitant renal insufficiency and end-stage heart failure. *Am J Transplant.* 2014; 14: 384–396.
15. Czer LSC et al. Survival and allograft rejection rates after combined heart and kidney transplantation in comparison with heart transplantation alone. *Transplant Proc.* 2011; 43: 3869–3876.
16. Castillo-Lugo JA, Brinker KR. An overview of combined heart and kidney transplantation. *Curr Opin Cardiol.* 1999; 14: 121–125.
17. Hermesen JL, Nath N, Munoz del Rio A et al. Combined heart-kidney transplantation: the university of Wisconsin Experience. *J Heart Lung Transplant.* 2007; 26: 1119–1120.
18. Kocher AA, Schlechta B, Kopp CW et al. Combined heart and kidney transplantation using a single donor: a single center's experience with nine cases. *Transplantation.* 1998; 66: 1760–1768.
19. Wahler T, Khaghani A, Martin M et al. Frequency of acute heart and lung rejection after heart-lung transplantation. *Transplant Proc.* 1987; 19: 3537–3538.
20. Pinderski LJ, Kirklin JK, McGiffin D et al. Multi-organ transplantation: is there a protective effect against acute and chronic rejection? *J Heart Lung Transplant.* 2005; 24: 1828–1833.
21. Mezrich J, Yamada K, Sachs DH et al. Regulatory T cells generated by kidney may mediate the beneficial immune effects of combining kidney with heart transplantation. *Surgery.* 2004; 135: 473–478.

Статья поступила в редакцию 11.01.2016 г.
The article was submitted to the journal on 11.01.2016

DOI: 10.15825/1995-1191-2016-1-83-90

ПРОБЛЕМЫ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИОННОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ОРГАННОГО И ТКАНЕВОГО ДОНОРСТВА ПРИ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ГЕМОКОНТАКТНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

М.Ш. Хубутия, С.А. Солонин, М.А. Годков

ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского»,
Москва, Российская Федерация

Представлены данные о распространенности, клинической значимости и методах лабораторной диагностики скрытых форм гемоконтактных вирусных инфекций (ГВИ). Рассмотрены причины возникновения таких форм инфекции и их значимость для клинической трансплантологии. Проанализирован существующий алгоритм лабораторного обследования потенциального донора органов на ГВИ в РФ. Показано, что действующий алгоритм скрининга доноров на ГВИ не позволяет выявлять скрытые формы инфекции.

Ключевые слова: скрытая HBV-инфекция, скрытая HCV-инфекция, потенциальный донор органов, трансплантация.

THE PROBLEMS OF PROVIDING INFECTIOUS DISEASE SAFETY FOR ORGAN AND TISSUE DONATION BY SCREENING BLOOD-BORNE VIRAL INFECTIONS

M.Sh. Khubutiya, S.A. Solonin, M.A. Godkov

N.V. Sklifosovsky Clinical and Research Institute for Emergency Medicine, Moscow, Russian Federation

It provided data on the prevalence, clinical significance and methods of laboratory diagnostics for occult forms of blood-borne viral infections (BBVIs). It considered causes of such forms of infection and their significance for clinical transplantation. We analyzed the existing algorithm of laboratory screening of a potential organ donor for BBVIs in Russia. It is shown that the current screening algorithm doesn't allow detecting hidden forms of BBVIs.

Key words: occult HBV infection, occult HCV infection, potential organ donor, transplantation.

ВВЕДЕНИЕ

Трансплантология – одно из наиболее динамично развивающихся направлений в медицине во всем мире, в том числе и в РФ. Несмотря на наметившуюся положительную тенденцию в количестве ежегодно выполняемых трансплантаций в нашей стране, проблема органного донорства по-прежнему стоит достаточно остро. Традиционно сдерживающим фактором в увеличении числа выполняемых трансплантаций является крайне низкий уровень донорского пула [1].

Большое число потенциальных доноров органов отводится из-за медицинских противопоказаний,

связанных с инфицированием ГВИ, к которым относят инфекцию, вызванную вирусом иммунодефицита человека (HIV), вирусные гепатиты В (HBV) и С (HCV). По данным ВОЗ, к концу 2013 года в мире насчитывалось около 35 млн человек, инфицированных HIV; хроническую HBV- и HCV-инфекцию имели более 240 млн и около 150 млн человек соответственно [2–4]. Особо актуальна проблема ГВИ для РФ. По данным Н.Д. Юшука и соавт. [5], в нашей стране проживает от 3 до 5 млн больных хронической HBV-инфекцией и от 1,5 до 3 млн – хронической HCV-инфекцией. Начиная с 2004 г. фиксируется ежегодный рост числа новых выявленных случаев

Для корреспонденции: Солонин Сергей Александрович. Адрес: 129090, Москва, Б. Сухаревская пл., д. 3.
Тел. +7 (495) 625-75-93. E-mail: solonin@yahoo.com.

For correspondence: Solonin Sergey Aleksandrovich. Address: 3, Bol. Sukharevskaya sq., Moscow, 129090, Russian Federation.
Tel. +7 (495) 625-75-93. E-mail: solonin@yahoo.com.

HIV-инфекции, и как следствие, увеличение общего числа инфицированных граждан [6].

При решении вопроса о возможности выполнения трансплантации у реципиентов необходимо исключить противопоказания, связанные с инфицированием реципиента ГВИ через пересаживаемый донорский орган. Короткий срок функциональной активности донорского органа ставит перед современной диагностической лабораторией ряд задач: во-первых, необходимость срочного (~6 часов) скрининга на маркеры ГВИ, во-вторых, высокую достоверность получаемых результатов. Несмотря на использование высокочувствительных и высокоспецифичных серологических методов диагностики, опубликованы случаи передачи ГВИ от доноров с отрицательными результатами серологических тестов [7]. Это связано как с обследованием доноров в период серологического окна, так и с наличием скрытой (silent, occult) инфекции ГВИ.

Скрытые инфекции являются чрезвычайно важной проблемой для трансплантологии по причине возможной трансмиссии инфекционных агентов с пересаживаемыми органами и тканями от доноров, у которых заболевание не выявляется ни при клиническом обследовании, ни при лабораторном скрининге. Риск подобного переноса от потенциального донора органов реципиенту обусловлен невозможностью отсроченного обследования или карантизации донорского органа из-за ограниченного срока его функциональной активности после изъятия.

Цель статьи – проанализировать существующие проблемы в обеспечении инфекционной безопасности органного и тканевого донорства в РФ.

В РФ лабораторный скрининг потенциальных доноров органов на ГВИ осуществляется в соответствии с Приказом Минздрава РФ от 07.09.2000 № 336 «О случае трансплантации почки в Областной клинической больнице № 1 г. Екатеринбурга от донора, зараженного ВИЧ и гепатитом С» и ограничивается определением серологических маркеров ГВИ с использованием тест-систем, рекомендованных Минздравом РФ для обследования доноров крови, органов и тканей человека. Основными скрининговыми маркерами HIV-инфекции у потенциальных доноров органов являются антитела/антиген к HIV, поверхностный антиген (HBsAg) к HBV и антитела к HCV. Данные о применении методов NAT-тестирования при рутинном скрининге сыворотки крови от потенциальных доноров органов на ГВИ в РФ отсутствуют.

ПОНЯТИЕ О СКРЫТОЙ HBV-ИНФЕКЦИИ

Поверхностный антиген – основной скрининговый маркер HBV-инфекции в РФ. Он обнаруживается в сыворотке крови в последние 1–2 недели инкубационного периода и в первые 2–3 недели

периода клинических проявлений. До недавнего времени считалось, что HBsAg является основным диагностическим маркером HBV-инфекции. Однако в 1978 г. J.N. Katchaki и соавт. [8] описан случай развития острой HBV-инфекции у реципиента после переливания крови, содержащей антитела к капсидному белку (анти-HBc) HBV при отсутствии HBsAg. В дальнейшем было показано, что ДНК вируса может определяться в сыворотке крови и ткани печени пациентов, у которых доступными методами не выявляется поверхностный антиген. Такие случаи стали рассматривать как скрытую форму HBV-инфекции.

В 2008 г. экспертами Европейской ассоциации по изучению болезней печени (EASL) понятие «скрытая HBV-инфекция» было определено как «присутствие HBV DNA в печени пациентов, вне зависимости от наличия HBV DNA в сыворотке крови, в сыворотке крови которых доступными методами не определяется HBsAg» [9].

Распространенность скрытой HBV-инфекции варьирует в разных странах и исследуемых группах от 0,1 до 51% [10, 11]. Это обусловлено существующим риском передачи возбудителя среди обследуемого населения, а также чувствительностью используемых диагностических наборов на HBsAg и HBV DNA [12]. Встречаемость скрытой HBV-инфекции у лиц, позитивных по анти-HBc, выше, чем у серонегативных [13]. Скрытая инфекция наиболее часто встречается у пациентов, перенесших острый гепатит В или имеющих хроническую форму инфекции и утративших HBsAg, а также нередко выявляется у пациентов с гепатитом неустановленной этиологии.

Отсутствие HBV DNA в сыворотке крови не является фактом, исключающим наличие скрытой HBV-инфекции. В таких случаях вирус может быть выявлен в ткани печени [14]. В основе этого явления лежит механизм репликации вируса. Генетический материал вируса присутствует в гепатоцитах в количестве, равном в среднем 1,5 (0,01–50) копии на клетку в виде ковалентно замкнутой ДНК (cccDNA) с возможностью дальнейшей интеграции в геном клетки [10]. Среди возможных причин, объясняющих наличие HBsAg-негативной HBV-инфекции, при наличии в печени генетического материала вируса могут быть:

- мутантный вариант HBsAg, не детектируемый доступными коммерческими тест-системами [15];
- связывание HBsAg с анти-HBc в составе иммунных комплексов [16];
- коинфицирование с HDV [17] и др.

Наиболее часто причина формирования скрытой HBV-инфекции обусловлена низкой репликацией вируса и низким уровнем экспрессии HBsAg [18].

В таких случаях концентрация HBsAg может быть ниже предела чувствительности скрининговой тест-системы. В РФ, согласно приказу МЗ РФ № 322 от 21.10.2002 «О применении в практике здравоохранения иммуноферментных тест-систем для выявления поверхностного антигена вируса гепатита В и антител к вирусу гепатита С в сыворотке крови человека», для тест-систем по определению HBsAg регламентируется чувствительность не более 0,1 нг/мл. Для примера, тест-системы по определению HBsAg, лицензированные в США, имеют пороговые значения чувствительности в пределах от <0,07 до 0,62 нг/мл, то есть в несколько раз более чувствительные, чем используемые в РФ [10]. Под определение скрытой формы может попадать период серологического окна HBV-инфекции, однако истинно скрытой считается форма инфекции, сохраняющая свой серологический профиль (отсутствие HBsAg при наличии HBV DNA в сыворотке крови и/или ткани печени) длительное время [19].

Наиболее современные из применяемых тест-систем для иммуноферментного определения HBsAg позволяют детектировать его в сыворотке крови в концентрации 0,01 нг/мл. Использование таких тест-систем позволяет значительно снизить частоту встречаемости скрытой HBV-инфекции. Группой исследователей под руководством М.И. Михайлова и соавт. [20] при тестировании сыворотки крови пациентов с заболеваниями печени различной этиологии с использованием тест-системы с чувствительностью 0,01 нг/мл удалось выявить HBsAg на 52,5% больше, чем при использовании тест-системы с чувствительностью 0,1 нг/мл.

Большинство коммерческих тест-систем приспособлены для выявления всех известных генотипов и субтипов «дикого» вируса, однако эффективность выявления мутантных форм может отличаться. Сегодня описано большое число мутантных вариантов HBV, которые не распознаются современными коммерческими тест-системами [21]. Опубликованы случаи, когда при тестировании нативных образцов сыворотки крови, содержащих мутантные варианты HBsAg, тест-системы не смогли подтвердить заявленные в инструкции показатели по чувствительности и способности выявлять мутантные формы HBsAg [20].

Данные о распространенности скрытой HBV-инфекции, а также ее влиянии на приживаемость трансплантата и продолжительность жизни пациентов, получивших трансплантацию органов в РФ, ограничены. Учитывая высокую частоту встречаемости маркеров HBV-инфекции среди населения РФ, проблема скрытой формы HBV-инфекции является весьма актуальной для российской трансплантологической службы, поскольку скрининг на

гепатит В у потенциальных доноров органов проводится только по одному тесту – HBsAg. Такие доноры представляют большую эпидемическую опасность в плане передачи HBV DNA реципиенту.

Одним из дополнительных серологических маркеров, указывающих на наличие текущей или перенесенной HBV-инфекции, является анти-HBc. Группа экспертов EASL считает anti-HBc не идеальным маркером HBV-инфекции, однако рекомендовала его применение в случае, когда тест на HBV DNA недоступен, например, в случае донорства органов [9].

В настоящее время автоматические ПЦР-станции для обследования доноров крови способны выявлять HBV DNA в концентрации <5 МЕ/мл (<32 копии/мл). Использование таких высокочувствительных автоматических станций особенно важно, поскольку при скрытой форме HBV-инфекции вирусная нагрузка редко превышает 200 копий/мл и составляет в среднем от 32 до 62 копий/мл [10].

Еще одним возможным способом диагностики скрытой HBV-инфекции является гистологический метод. Биопсия печени играет важную роль в оценке состояния ткани печени. Морфологическими признаками наличия HBsAg в печени являются «матовостекловидные» гепатоциты, HBcAg – гепатоциты с «песочными» ядрами.

Поверхностный антиген может быть выявлен благодаря использованию техники окрашивания орсеином по Shikata или с использованием метода иммуногистохимии с моноклональными антителами к HBsAg [23].

СКРЫТАЯ HBV-ИНФЕКЦИЯ У РЕЦИПИЕНТОВ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ

Наличие скрытых форм HBV-инфекции у доноров органов нередко приводит к реактивации вируса и возникновению новой (*de novo*) инфекции у реципиента после трансплантации. Поскольку в РФ в рутинный лабораторный скрининг не включено определение HBV DNA и анти-HBc ни у доноров органов, ни у реципиентов, невозможно разграничить реактивацию ранее бессимптомной формы HBV-инфекции у реципиента и инфицирование *de novo*. По данным литературы, в случаях ортотопической трансплантации печени от 17 до 94% HBsAg-негативных/анти-HBc-позитивных доноров могут передать HBV-инфекцию реципиентам [24]. При этом вероятность развития HBV-инфекции значительно снижается, если в сыворотке крови реципиентов присутствуют анти-HBs. Показано, что в среднем порядка половины случаев трансплантации печени от анти-HBc-позитивных доноров ($\pm$ анти-HBs) заканчиваются развитием у реципиентов острой

HBV-инфекции [25]. У реципиентов печени, имеющих в анамнезе перенесенную HBV-инфекцию или получивших орган от донора с положительным результатом на анти-HBc, несмотря на проводимую профилактику, может наблюдаться реактивация скрытой инфекции [26]. Наиболее часто реактивацию HBV-инфекции провоцирует применение медикаментозной иммуносупрессивной терапии [27].

Риск реактивации вируса у пациентов со скрытой HBV-инфекцией при иммуносупрессии не определен и зависит от ряда факторов: возраста пациентов, сопутствующих заболеваний и т. д. [28]. Передача HBV после трансплантации костного мозга, сердца, почек и других органов от доноров, позитивных по анти-HBc, в отличие от печени, происходит значительно реже [29–31].

ПОНЯТИЕ О СКРЫТОЙ HCV-ИНФЕКЦИИ

В 2004 г. группой исследователей под руководством I. Castillo и соавт. [32] был исследован биопсийный материал печени от пациентов со стабильно повышенным уровнем печеночных трансаминаз (АСТ, АЛТ, ГГТ), наблюдавшихся в течение последнего года. Генетический материал вируса – HCV RNA был выявлен в 57% случаев. При этом в образцах сыворотки крови отсутствовали как анти-HCV (исследования выполнены двукратно с использованием тест-систем разных производителей), так и HCV RNA. Наличие генетического материала HCV-инфекции подтверждалось выявлением РНК вируса в мононуклеарах периферической крови. Таким образом, авторами был впервые установлен факт существования новой формы гепатита С – скрытой HCV-инфекции. Проведенный генетический анализ всех 57 изолятов установил их принадлежность к генотипу 1b.

Показано, что формирование скрытой HCV-инфекции у пациентов связано с особенностями функционирования иммунной системы. Это проявляется в контроле над вирусом, что подтверждается усиленной пролиферацией клеток CD8+ Т-лимфоцитов и выработкой γ -интерферона в ответ на антигенную стимуляцию неструктурными белками HCV – NS3 и NS4 [33].

Характерной особенностью скрытой HCV-инфекции является низкий уровень репликации вируса. Вирусная нагрузка в биоптатах печени и сыворотке крови может варьировать от 10 до 200 копий/мл [34], что затрудняет выявление вируса большинством коммерчески доступных ПЦР тест-систем.

Позднее наблюдения I. Castillo были подтверждены в работах других авторов. Скрытый гепатит С выявлен у пациентов, находящихся на программном гемодиализе [35], в семьях, где один из супругов имел хронический гепатит С [36], а также среди

условно-здорового населения Италии в возрасте от 40 до 65 лет [37].

СКРЫТАЯ HCV-ИНФЕКЦИЯ У РЕЦИПИЕНТОВ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ

Несмотря на достигнутые к настоящему времени успехи в изучении HCV, проблема его своевременной диагностики для трансплантологии остается по-прежнему весьма актуальной. Актуальность обусловлена существующим риском передачи HCV через пересаживаемые органы.

В 2011 году M.G. Ison и соавт. [38] описан случай передачи HIV- и HCV-инфекции от серонегативного по данным инфекциям донора 4 реципиентам через почки, сердце и печень. Из факторов риска, известных на момент трансплантации: донор практиковал секс с мужчинами; черепно-мозговая травма получена в результате поездки на мотоцикле. Авторами сделан вывод о необходимости пересмотреть существующий алгоритм отбора потенциальных доноров органов и внедрить NAT-тестирование на ГВИ. В этом же году в штате Кентукки, США, специалистами центра по контролю и профилактике заболеваний (CDC) зафиксирован случай передачи гепатита С от серонегативного донора двум реципиентам почек, реципиентам печени и тканевого трансплантата [39]. Авторами отмечено, что, несмотря на низкую частоту встречаемости ГВИ у потенциальных доноров органов, необходимо включить в рутинный скрининг тестирование донора на ГВИ методом ПЦР.

ДИАГНОСТИКА HIV-ИНФЕКЦИИ У ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ДОНОРОВ ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ

Своевременное выявление лабораторных маркеров HIV-инфекции имеет первостепенное значение для обеспечения инфекционной безопасности органного донорства. По данным специалистов Московского городского центра профилактики и борьбы со СПИДом, существующий в настоящее время арсенал серологических методов диагностики позволяет выявить HIV-инфекцию только спустя 2–3 недели после возможного инфицирования, не давая возможности выявлять инфекцию в период серологического окна [40]. Случаи передачи HIV-инфекции реципиенту при трансплантации почки от серонегативного донора описаны В. Borghi и соавт. [41] и Р. Mukhopadhyay и соавт. [42]. Внедрение метода NAT-тестирования позволяет выявлять инфекцию через 1 неделю после инфицирования [40]. Однако даже наличие обязательного скрининга методом ПЦР не гарантирует 100% защиты от передачи ГВИ. В 2009 году М. Schmidt и соавт. [43]

опубликован случай передачи HIV при переливании реципиенту отмытых эритроцитов при отрицательном результате NAT-тестирования донорской крови. При проведении эпидемиологического расследования было установлено, что чувствительность детекции HIV RNA автоматической ПЦР-станции в мини-пулах оказалась недостаточной для выявления вирусной РНК.

ОБСУЖДЕНИЕ

Рассматривая проблему инфекционной безопасности органного донорства, невозможно не остановиться на проблеме качества донорского пула. Согласно действующим нормативно-правовым актам РФ, при посмертном донорстве потенциальным донором органов может стать только пациент, госпитализированный в отделения реанимации или палаты интенсивной терапии [44]. Показано, что частота встречаемости ГВИ у потенциальных доноров органов многократно выше, чем у доноров крови, и обусловлено это медико-социальными особенностями пациентов таких отделений [45]. Донорами органов становятся, как правило, в силу случайных обстоятельств, например, в результате падения с высоты собственного роста в состоянии алкогольного опьянения, совершения ауто- и гетероагрессивных действий и получения черепно-мозговой травмы. На первый взгляд может показаться, что подобные повреждения обусловлены непредумышленным, «случайным» характером травмы. Вместе с тем весьма часто подобные травмы являются следствием особенностей социальной модели поведения граждан, которая оценивается как девиантная – поведение, не подпадающее под уголовную ответственность и не требующее вмешательства специалистов психиатрической службы. Наиболее часто такие лица склонны к асоциальному и рискованному образу жизни, алкоголизму, употреблению психоактивных веществ, занятиям высокотравматичными видами спорта и т. д. [46]. Подобные закономерности обычно удается выявить при анализе социального и психологического статуса пострадавшего [47]. Нередко в основе получения травм лежат психические расстройства. По данным Роспотребнадзора, только в 2013 году удельный вес психических расстройств и расстройств поведения в результате злоупотребления алкоголем и дегенерации нервной системы, вызванной алкоголем, как причин смерти, составил 16,2 и 10,4% соответственно [48].

Определяя пригодность каждого отдельного органа для трансплантации с учетом клинических, лабораторных и инструментальных данных, чрезвычайно важно установить момент возможного изъятия донорских органов. Поскольку получение согласия на трансплантацию у человека, находящегося

в терминальном состоянии, практически невозможно, чаще всего решение об изъятии органов принимают родственники или медицинский персонал, не в полной мере владеющие информацией о возможном социальном и медицинском статусе пациента. Для медицинских работников на первый план выступают не социальные характеристики индивидуума, а его биологическая пригодность стать донором органов.

Развитие медицинских технологий при существующей нехватке донорских органов позволяет врачам использовать пул потенциальных доноров, которые ранее считались не пригодными для донорства – доноров с расширенными критериями, в том числе лиц с маргинальным типом поведения [49], что, в свою очередь, приводит к увеличению риска переноса инфекционных агентов от донора реципиенту.

По мнению Ю.А. Щербук и соавт. [44], альтернативой лицам с маргинальным типом поведения могли бы стать пациенты с сосудистыми заболеваниями головного мозга и нарушениями мозгового кровообращения, смертность которых достаточно высока вне отделений реанимации и палат интенсивной терапии.

Ряд авторов рассматривает высокую распространенность ГВИ у потенциальных доноров органов как результат лабораторной гипердиагностики. Так, Т. Shafer и соавт. [50], проведя анализ 56 (0,45%) первично реактивных образцов, полученных при обследовании на HIV-инфекцию 12 397 доноров с использованием ИФА и NAT-тестирования, смогли подтвердить полученный результат только у 8 (14,3%), используя подтверждающие тесты последнего поколения, вестерн-блотт и проведя повторное NAT-тестирование архивного биоматериала. По мнению Г.С. Борты и соавт. [51], причины получения ложноположительных или сомнительных реакций на ГВИ обусловлены неспецифическим взаимодействием компонентов тест-системы со свободным гемоглобином в результате гемолиза крови. Иной точки зрения придерживаются С. Edler и соавт. [52]. Проанализировав результаты обследования образцов сыворотки трупной крови, полученных в интервале от 12 до 48 ч после гибели потенциального донора органов, в том числе с визуальными признаками гемолиза, авторы не выявили какого-либо влияния на качество полученного лабораторного результата. Нередко причиной получения ложноположительных результатов является использование иммуноферментных тест-систем, не предназначенных для тестирования крови от умерших пациентов [53]. Не существует и единого мнения об использовании молекулярно-генетического тестирования на ГВИ при рутинном обследовании потенциальных доноров органов, а также об интер-

претации данных в случае получения сомнительных результатов [54].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Число пациентов в листах ожидания трансплантации донорских органов в РФ будет год от года увеличиваться. Ограниченный объем донорского пула органов, наличие большого количества маргинальных доноров и высокая частота встречаемости населения с ГВИ являются факторами риска передачи инфекции при трансплантации через пересаживаемый орган. Существующий алгоритм обследования потенциальных доноров органов на ГВИ не позволяет выявлять скрытые формы этих инфекций.

Снижение риска инфицирования реципиентов при трансплантации органов может быть достигнуто за счет совершенствования отбора ПДО по медико-социальным характеристикам, изменения алгоритма их лабораторного обследования, использования высокочувствительных тест-систем, расширения спектра определяемых маркеров инфекционных заболеваний, в том числе с целью выявления скрытых форм инфекций.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Хубутия МШ, ред. Трансплантация органов и тканей в многопрофильном научном центре. М.: АирАрт, 2011; 424. *Hubutiya MSh*, red. Organ and tissue transplantation in a multifield scientific center. M.: AirArt, 2011; 424.
2. <http://www.who.int> [Internet]. WHO Media centre. HIV/AIDS; [updated 2014 November; cited 2015 Apr 10]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs360/en/>.
3. <http://www.who.int> [Internet]. WHO Media centre. Hepatitis B; [updated 2014 Jul; cited 2015 Apr 10]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/>.
4. <http://www.who.int> [Internet]. WHO Media centre. Hepatitis C; [updated 2014 Apr; cited 2015 Apr 10]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/>.
5. Ющук НД, Климова ЕА, Знойко ОО, Кареткина ГН, Максимов СЛ, Маев ИВ. Вирусные гепатиты: клиника, диагностика, лечение. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014; 151. *Yushchuk ND, Klimova EA, Znoyko OO, Karetkina GN, Maksimov SL, Maev IV*. Viral hepatitis: clinical features, diagnosis, treatment. M.: GEOTAR-Media, 2014; 151.
6. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2013 г. Гос. доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2014; 191. http://rospotrebnadzor.ru/upload/iblock/3b8/gd_2013_dlya-sayta.pdf. <http://www.rospotrebnadzor.ru/> [Internet]. About the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in the Russian Federation in 2013: state report. Moscow: Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 2014; 191. [updated 2014; cited 2015 Apr 10] Available from: http://rospotrebnadzor.ru/upload/iblock/3b8/gd_2013_dlya-sayta.pdf.
7. Ison MG, Llata E, Conover CS, Friedewald JJ, Gerber SI, Grigoryan A et al. HIV-HCV Transplantation Transmission Investigation Team. Transmission of human immunodeficiency virus and hepatitis C virus from an organ donor to four transplant recipients. *Am J Transplant*. 2011; 11 (6): 1218–1225. doi: 10.1111/j.1600-6143.2011.03597.x. PMID: 21645254
8. Katchaki JN, Siem TH, Brouwer R. Serological evidence of presence of HBsAg undetectable by conventional radioimmunoassay in anti-HBc positive blood donor. *J Clin Pathol*. 1978; 31 (9): 837–839. PMID: 711912.
9. Raimondo G, Allain JP, Brunetto MR, Buendia MA, Chen DS, Colombo M et al. Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis B virus infection. *J Hepatol*. 2008; 49 (4): 652–657. doi: 10.1016/j.jhep.2008.07.014. PMID: 18715666.
10. Hollinger FB, Sood G. Occult hepatitis B virus infection: a covert operation. *J Viral Hepat*. 2010 Jan; 17 (1): 1–15. doi: 10.1111/j.1365-2893.2009.01245.x. PMID: 20002296.
11. Toyoda H, Hayashi K, Murakami Y, Honda T, Katano Y, Nakano I et al. Prevalence and clinical implications of occult hepatitis B viral infection in hemophilia patients in Japan. *J. Med. Virol*. 2004; 73: 195–199. PMID: 15122792.
12. Hollinger FB. Hepatitis B virus infection and transfusion medicine: science and the occult. *Transfusion*. 2008; 48 (5): 1001–1026. doi: 10.1111/j.1537-2995.2008.01701.x. PMID: 18454738.
13. Gutiérrez-García ML, Fernandez-Rodriguez CM, Lledo-Navarro JL, Buhigas-García I. Prevalence of occult hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol*. 2011; 17 (12): 1538–1542. doi: 10.3748/wjg.v17.i12.1538. PMID: 21472117.
14. Wang H, Fang M, Gu X, Ji Q, Li D, Cheng SQ et al. The intracellular HBV DNAs as novel and sensitive biomarkers for the clinical diagnosis of occult HBV infection in HBeAg negative hepatocellular carcinoma in China. *PLoS One*. 2014; 9 (9): e107162. doi: 10.1371/journal.pone.0107162. PMID: 25229710.
15. Hollinger FB. Hepatitis B virus genetic diversity and its impact on diagnostic assays. *J Viral Hepat*. 2007; 14 (Suppl. 1): 11–15. PMID: 17958637.
16. Yotsuyanagi H, Yasuda K, Moriya K, Shintani Y, Fujie H, Tsutsumi T et al. Frequent presence of HBV in the sera of HBsAg-negative, anti-HBc-positive blood donors. *Transfusion*. 2001; 41 (9): 1093–1099. PMID: 11552064.
17. Farci P, Niro GA. Clinical features of hepatitis D. *Semin Liver Dis*. 2012; 32 (3): 228–236. doi: 10.1055/s-0032-1323628. PMID: 22932971.
18. Allain JP, Cox L. Challenges in hepatitis B detection among blood donors. *Curr. Opin. Hematol*. 2011; 18: 461–466. doi: 10.1097/MOH.0b013e32834bac10.
19. Gerlich WH, Brener C, Saniewski M, Schüttler CG, Wend UC, Willems WR et al. Occult hepatitis B virus in-

- fection: detection and significance. *Dig Dis*. 2010; 28 (1): 116–125. doi: 10.1159/000282074. PMID: 21912252.
20. Михайлов МИ, Кюрегян КК. Молекулярно-биологические основы контроля вирусных гепатитов. М.: Икар, 2013; 336. *Mikhailov MI, Kyuregyan KK. Molecular and biological basis of control for viral hepatitis. M.: Ikar, 2013; 336.*
 21. Sticchi L, Caligiuri P, Cacciani R, Alicino C, Bruzzone B. Epidemiology of HBV S-gene mutants in the Liguria Region, Italy: Implications for surveillance and detection of new escape variants. *Hum Vaccin Immunother*. 2013; 9 (3): 568–571. PMID: 23296324
 22. Баженов АИ, Коноплева МВ, Фельдшерова АА, Эльгорт ДА, Хац ЮС, Лапина НЕ и др. Оценка чувствительности коммерческих тест-систем для иммунодетекции HBsAg по их способности выявлять HBsAg-мутанты вируса гепатита В. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2008; 3: 48–52. *Bazhenov AI, Konopleva MV, Fel'dsherova AA, El'gort DA, Khats YuS, Lapina NE et al. Assessment of sensitivity of commercial test-systems for HBsAg immunodetection according to their ability to detect HBsAg-mutants of hepatitis B virus. Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol*. 2008; 3: 48–53. [In Russ, English abstract]. PMID: 18597996.
 23. Чирский ВС. Биопсийная диагностика неопухолевых заболеваний печени. СПб.: СПб МАПО, 2009. 80. *Chirskiy VS. Biopsy diagnostics of nonneoplastic diseases of the liver. SPb.: SPb MAPO, 2009. 80.*
 24. Kwak MS, Kim YJ. Occult hepatitis B virus infection. *World J Hepatol*. 2014; 6 (12): 860–869. doi: 10.4254/wjh.v6.i12.860. PMID: 25544873.
 25. Cholongitas E, Papatheodoridis GV, Burroughs AK. Liver grafts from anti-hepatitis B core positive donors: a systematic review. *J Hepatol*. 2010; 52 (2): 272–279. doi: 10.1016/j.jhep.2009.11.009. PMID: 20034693.
 26. Cheung CK, Lo CM, Man K, Lau GK. Occult hepatitis B virus infection of donor and recipient origin after liver transplantation despite nucleoside analogue prophylaxis. *Liver Transpl*. 2010; 16 (11): 1314–1323. doi: 10.1002/lt.22169. PMID: 21031547.
 27. Seetharam A, Perrillo R, Gish R. Immunosuppression in Patients with Chronic Hepatitis B. *Curr Hepatol Rep*. 2014; 13: 235–244. PMID: 25101233.
 28. Huang X, Hollinger FB. Occult hepatitis B virus infection and hepatocellular carcinoma: a systematic review. *J Viral Hepat*. 2014; 21 (3): 153–162. doi: 10.1111/jvh.12222. PMID: 24438677.
 29. Schubert A, Michel D, Mertens T. Late HBsAg seroreversion of mutated hepatitis B virus after bone marrow transplantation. *BMC Infect Dis*. 2013; 13: 223. doi: 10.1186/1471-2334-13-223. PMID: 23679074.
 30. Tsai MC, Chen YT, Chien YS, Chen TC, Hu TH. Hepatitis B virus infection and renal transplantation. *World J Gastroenterol*. 2010; 16 (31): 3878–3887. PMID: 20712048.
 31. Chamorro C, Aparicio M. Influence of HBcAb positivity in the organ donor in heart transplantation. *Med Intensiva*. 2012; 36 (8): 563–570. doi: 10.1016/j.medint.2012.01.011. PMID: 22440791.
 32. Castillo I, Pardo M, Bartolomé J, Ortiz-Movilla N, Rodríguez-Iñigo E, de Lucas S et al. Occult hepatitis C virus infection in patients in whom the etiology of persistently abnormal results of liver-function tests is unknown. *J Infect Dis*. 2004; 189 (1): 7–14. PMID: 14702147.
 33. Quiroga JA, Llorente S, Castillo I, Rodríguez-Iñigo E, Pardo M, Carreño V. Cellular immune responses associated with occult hepatitis C virus infection of the liver. *J Virol*. 2006; 80 (22): 10972–10979. PMID: 17071928.
 34. Pham TNQ, Coffin GS, Michalak T. Occult hepatitis C virus infection: what does it mean? *Liver International*. 2010; 30 (4): 502–511. doi: 10.1111/j.1478-231.2009.02193.x. PMID: 20070513.
 35. Barril G, Castillo I, Arenas MD, Espinosa M, Garcia-Valdecasas J, Garcia-Fernández N et al. Occult hepatitis C virus infection among hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol*. 2008; 19 (12): 2288–2292. doi: 10.1681/ASN.2008030293. PMID: 18684893.
 36. Castillo I, Bartolomé J, Quiroga JA, Barril G, Carreño V. Hepatitis C virus infection in the family setting of patients with occult hepatitis C. *J Med Virol*. 2009; 81 (7): 1198–1203. doi: 10.1002/jmv.21483. PMID: 19475603.
 37. De Marco L, Gillio-Tos A, Fiano V, Ronco G, Krogh V, Palli D et al. Occult HCV infection: an unexpected finding in a population unselected for hepatic disease. *PLoS One*. 2009; 4 (12): e8128. doi: 10.1371/journal.pone.0008128. PMID: 19956542.
 38. Ison MG, Llata E, Conover CS, Friedewald JJ, Gerber SI, Grigoryan A et al. Transmission of human immunodeficiency virus and hepatitis C virus from an organ donor to four transplant recipients. *Am J Transplant*. 2011; 11 (6): 1218–12125. doi: 10.1111/j.1600-6143.2011.03597.x. PMID: 21645254.
 39. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Transmission of hepatitis C virus through transplanted organs and tissue – Kentucky and Massachusetts, 2011. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2011; 60 (50): 1697–700. Erratum in: *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2012; 61: 80. PMID: 22189891.
 40. Мазус АИ, Каминский ГД, Зимина ВН, Бессараб ТП, Пронин АЮ, Цыганова ЕВ и др. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению ВИЧ-инфекции у взрослых. 2-е изд. М., 2014; 75. *Mazus AI, Kaminskiy GD, Zimina VN, Bessarab TP, Pronin AJu, Tsyganova EV et al. National clinical guidelines for the diagnosis and treatment of HIV infection in adults. Second edition. M., 2014; 75.*
 41. Borchini B, Ambu S, Bresci S, Zanazzi M, Salvadori M, Leoncini F. Case report: HIV infection from a kidney transplant. *Transplant Proc*. 2010; 42 (6): 2267–2269. doi: 10.1016/j.transproceed.2010.05.026. PMID: 20692460.
 42. Mukhopadhyay P, Kumar V, Rath M, Kohli HS, Jha V, Sakhuja V. Transmission of human immunodeficiency virus infection by renal transplantation. *Indian J Nephrol*. 2012; 22 (2): 133–135. doi: 10.4103/0971-4065.97135. PMID: 22787317.
 43. Schmidt M, Korn K, Nübling CM, Chudy M, Kress J, Horst HA et al. First transmission of human immunodeficiency virus Type 1 by a cellular blood product after mandatory nucleic acid screening in Germany. *Trans-*

- fusion*. 2009; 49 (9): 1836–1844. doi: 10.1111/j.1537-2995.2009.02203.x. PMID: 19453990.
44. Щербук ЮА, Багненко СФ, Гриненко ОА, Полушин ЮС, Логинов ИВ, Бутина ЛВ и др. Дефицит донорских органов: причины, проблемы, пути решения. *Вестник анестезиологии и реаниматологии*. 2011; 2: 31–42. Shcherbuk YuA, Bagnenko SF, Grinenko OA, Polushin YuS, Loginov IV, Butina LV et al. Shortage of donor organs: reasons, problems, ways of solution. *Vestnik anesteziologii i reanimatologii*. 2011; 2: 31–42. [In Russ, English abstract].
45. Хубутия МШ, Солонин СА, Годков МА, Баженов АИ, Кобзева ЕН, Смирнова ЮВ и др. Эпидемиологические и медико-социальные особенности распространения гемоконтактных вирусных инфекций у потенциальных доноров органов и доноров крови. *Вестник службы крови России*. 2014; 1: 17–24. Khubutiya MSh, Solonin SA, Godkov MA, Bazhenov AI, Kobzeva EN, Smirnova YuV et al. Epidemiological and medical-social features of the spread of bloodborne infectious diseases among potential organ donors and blood donors. *Vestnik sluzhby krovi Rossii*. 2014; 1: 17–24. [In Russ, English abstract].
46. Решетников АВ. Социология медицины: руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 863. Reshetnikov AV. Sociology of Medicine: guide. Moscow: GEOTAR-Media, 2010. 863.
47. Даниелян ШН, Годков МА, Абакумов ММ, Зубарева ОВ, Саприн АА. Медико-социальная характеристика пострадавших с гнойными осложнениями после закрытой травмы груди. *Хирургия*. 2013; 5: 19–25. Danielian ShN, Godkov MA, Abakumov MM, Zubareva OV, Saprin AA. Medical and social characteristics of patients with septic complications of the closed thoracic injury. *Khirurgiia* (Mosk). 2013; 5: 19–25. [In Russ, English abstract]. PMID: 23715417.
48. Смертность населения Москвы от причин, связанных с употреблением алкоголя, за январь–декабрь 2013 года <http://77.rospotrebnadzor.ru/index.php/san-epid/40-2009-08-20-06-08-14/1909-san-epid>. <http://77.rospotrebnadzor.ru> [Internet]. Mortality among Moscow's citizens from causes related to alcohol consumption in January–December 2013. [updated 2013 Mar; cited 2015 Apr 10]. Available from: <http://77.rospotrebnadzor.ru/index.php/san-epid/40-2009-08-20-06-08-14/1909-san-epid>.
49. Минина МГ. О некоторых аспектах организации органного донорства. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2010; 3: 81–88. Minina MG. To some organizational aspects of organ donation. *Vestnik transplantologii i iskusstvennyh organov = Russian journal of transplantology and artificial organs*. 2010; 3: 81–88. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2010-3.
50. Shafer TJ, Schkade D, Schkade L, Geier SS, Orlovski JP, Klintmalm G. Zero risk tolerance costs lives: loss of transplantable organs due to human immunodeficiency virus nucleic acid testing of potential donors. *Prog. Transplant*. 2011; 21 (3): 236–247. PMID: 21977885.
51. Борт ГС, Иванов ИИ, Савельев ВИ, Резник АГ, Рыков ЮА, Афиногенова АГ и др. Диагностика маркеров инфекционных заболеваний в перикардиальной жидкости и крови трупов доноров при заготовке тканей для трансплантации в травматологии и ортопедии. *Травматология и ортопедия России*. 2008; 2: 72–76. Bort GS, Ivanov IN, Savelev VI, Reznik AG, Rykov YuA, Afinogenova AG et al. The diagnostics of the markers of infectious diseases in the pericardial fluid and blood of cadavers, donors at the purveyance of tissues for transplantation in traumatology and orthopedics. *Traumatology and orthopedics of Russia*. 2008; 2: 72–76. [In Russ, English abstract].
52. Edler C, Wulff B, Schröder AS, Wilkemeyer I, Polywka S, Meyer T et al. A prospective time-course study on serological testing for human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and hepatitis C virus with blood samples taken up to 48 h after death. *J. Med. Microbiol*. 2011; 60 (Pt7): 920–926. doi: 10.1099/jmm.0.027763-0. PMID: 21436373.
53. Theodoropoulos N, Ison MG, Jaramillo A. Screening deceased organ donors for infectious diseases: optimization of testing. *ASHI Quarterly*. 10/2012; 36 (3): 18–26.
54. Humar A, Morris M, Blumberg E, Freeman R, Preiksaitis J, Kiberd B et al. Nucleic acid testing (NAT) of organ donors: is the 'best' test the right test? A consensus conference report. *Am. J. Transplant*. 2010; 10 (4): 889–899. doi: 10.1111/j.1600-6143.2009.02992.x. PMID: 20121734.

Статья поступила в редакцию 17.04.2015 г.
The article was submitted to the journal on 17.04.2015

ПОЗДРАВЛЯЕМ ПРЕЗИДЕНТА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК ВЛАДИМИРА ЕВГЕНЬЕВИЧА ФОРТОВА

23 января 2016 года исполнилось 70 лет президенту Российской академии наук Владимиру Евгеньевичу Фортову.

Владимир Евгеньевич родился в городе Ногинске Московской области. В 1968 году с отличием окончил Московский физико-технический институт по специальности «термодинамика и аэродинамика» и поступил в аспирантуру МФТИ. В 1971 году защитил кандидатскую диссертацию на тему «Теплофизика плазмы ядерных ракетных двигателей», а в 1976 году – докторскую диссертацию «Исследование неидеальной плазмы динамическими методами». С 1982 года – профессор по специальности «химическая физика», с 1986-го по 1992 год работал заведующим отделом Института высоких температур АН СССР и по совместительству в Институте химической физики в должности заведующего лабораторией.

В 1987 году Владимир Евгеньевич избран членом-корреспондентом АН СССР по специальности «теплофизика» отделения физико-технических проблем энергетики, а в 1990 году – и по отделению общей и технической химии. В 1991 году В.Е. Фортов стал академиком РАН и в том же году занял пост заведующего кафедрой теплофизики экстремальных состояний МФТИ. С 1996-го по 2001 год В.Е. Фортов – вице-президент РАН. В августе 1996 года был назначен председателем Государственного комитета РФ по науке и технологиям, затем – министром науки и технологий, одновременно являлся заместителем председателя Правительства РФ. В марте 1998 года В.Е. Фортов вышел в отставку в составе кабинета Виктора Черномырдина.

С 2002 года Владимир Евгеньевич – академик-секретарь отделения энергетики, машиностроения, механики и процессов управления РАН. В 1992–2007 годах – директор Института теплофизики экстремальных состояний Объединенного института высоких температур РАН, а с 2007 года по настоящее время – директор этого института. 29 мая 2013 года Владимир Евгеньевич Фортов был избран президентом Российской академии наук.

Академик В.Е. Фортов успешно сочетает исследовательскую деятельность с научно-педагогической работой в МИФИ, где под его научным руководством защищено 11 докторских и более 30 кандидатских диссертаций. Владимир Евгеньевич – почетный работник высшего профессионального образования Российской Федерации.

Академиком В.Е. Фортovým опубликовано более 500 научных работ и 40 монографий. Научные исследования Владимира Евгеньевича имеют фундаментальное значение для развития импульсной и промышленной энергетики, управляемого термоядерного синтеза, ракетной техники и ряда специальных приложений. Им разработаны генераторы мощных ударных волн и экспериментальные методы изучения физических свойств вещества при экстремальных параметрах с использованием взрывчатых веществ, лазерных, релятивистских электронных и ионных пучков. Работы В.Е. Фортова по созданию научных основ защиты космического аппарата, а также



исследования формирования квазикристаллических упорядоченных структур в плазме внесли значительный вклад в развитие космической физики.

Владимир Евгеньевич Фортков является членом научно-технического совета Госкорпорации «Роснано» и консультативного научного совета Инновационного центра «Сколково».

Мировой науке академик В.Е. Фортков известен как создатель и руководитель нового научного направления – динамической физики неидеальной плазмы. Сохраняет и преумножает ценнейшие традиции Российской академии наук, обеспечивая отечественной исследовательской школе лидирующую роль в мировых научных процессах.

Академик В.Е. Фортков многие годы представляет Россию в Исполнительном комитете Международного общества по физике высоких давлений (AIRAPT), является членом многих академий и научных обществ, почетным профессором ряда университетов стран мира. Владимир Евгеньевич награжден международной научной премией им. А.П. Карпинского за выдающиеся достижения в области теплофизики, теоретической и экспериментальной физики, Золотой медалью имени П. Бриджмена за заслуги в области физики и техники высоких давлений, премией им. Макса Планка за научные работы в области физики плазмы, премией Ханнеса Альфвена Европейского физического общества по физике плазмы за выдающиеся исследования в области высокотемпературной плазмы, Золотой медалью ЮНЕСКО имени Альберта Эйнштейна «За научные заслуги», энергетической премией «Глобальная энергия» за исследование свойств материалов в условиях высоких температур и многими другими наградами, свидетельствующими о международном признании научных достижений академика В.Е. Форткова.

Академик В.Е. Фортков – лауреат государственных премий СССР и РФ, премий правительства СССР и РФ. Награжден орденом Трудового Красного Знамени СССР, орденами «За заслуги перед Отечеством» III и IV степени, орденом Почета, орденом Дружбы и другими государственными и почетными наградами нашей страны и иностранных государств, среди которых орден Почетного легиона Франции, орден «Крест за заслуги» I степени (ФРГ), орден Королевы Виктории (Великобритания).

Академик В.Е. Фортков является главным редактором международных журналов «В мире науки» и «Теплофизика высоких температур», членом редколлегий ряда международных и российских журналов.

Несмотря на огромную занятость, Владимир Евгеньевич находит время для занятий спортом, где он также добился выдающихся достижений. Ученый является мастером спорта по баскетболу и парусному спорту, кандидатом в мастера спорта по шахматам, участвовал в экспедиционных путешествиях к мысу Доброй Надежды, Северному и Южному полюсам.

Коллектив сотрудников ФГБУ «ФНЦТИО им. академика В.И. Шумакова» Минздрава России и редколлегия журнала «Вестник трансплантологии и искусственных органов» вместе с главным редактором академиком РАН Сергеем Владимировичем Готье поздравляют Владимира Евгеньевича Форткова с юбилеем, желают крепкого здоровья и новых научных свершений.

ПОЗДРАВЛЯЕМ ВИЦЕ-ПРЕЗИДЕНТА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК ИВАНА ИВАНОВИЧА ДЕДОВА

12 февраля 2016 года исполнилось 75 лет вице-президенту Российской академии наук академику Ивану Ивановичу Дедову – директору Эндокринологического научного центра МЗ РФ, главному эндокринологу МЗ РФ, президенту Российской ассоциации эндокринологов, заведующему кафедрой эндокринологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова.

Иван Иванович Дедов окончил Воронежский медицинский институт в 1964 году. С 1967-го по 1982 год был аспирантом, научным сотрудником, старшим научным сотрудником Института медицинской радиологии, Всесоюзного онкологического научного центра АМН СССР. Ранние научные интересы И.И. Дедова, связанные с исследованием эндокринной системы и патогенеза нарушений ее функций на уровне нейрогормональной регуляции, предопределили направление его работы как ученого-теоретика и эндокринолога-клинициста.

В 1976 году Иван Иванович защитил докторскую диссертацию, в 1987 году утвержден в звании профессора. С 1982-го по 1988 год заведовал курсом эндокринологии кафедры факультетской терапии, а в 1988 году организовал кафедру эндокринологии Первого ММИ им. И.М. Сеченова, которую возглавляет по настоящее время. В том же году И.И. Дедов был избран директором Всесоюзного эндокринологического научного центра.

В 1991 году И.И. Дедов избран членом-корреспондентом РАМН, в 1996-м – действительным членом РАМН, а в 1998-м – действительным членом РАН. В 2011 году Иван Иванович Дедов был избран президентом Российской академии медицинских наук. С 2014 года академик И.И. Дедов – вице-президент Российской академии наук.

Масштаб научной и клинической деятельности академика И.И. Дедова огромен. Целеустремленность, высочайшая творческая активность, умение находить принципиально новые подходы к решению поставленных задач привели к организации в 1989 году первого в России Института диабета. Под руководством И.И. Дедова в Эндокринологическом центре РАМН была проведена большая организационная работа по модификации деятельности Центра. В структуре Центра появились новые научные и лечебные подразделения, ведутся фундаментальные исследования по изучению патогенеза сахарного диабета, получившие международное признание.

Академик И.И. Дедов – основоположник комплексного подхода к лечению больных сахарным диабетом с привлечением специалистов в области диабетологии, кардиологии, хирургии, сосудистой хирургии, нефрологии, офтальмологии, функциональных методов диагностики. Являясь членом Международной и Европейской диабетологических ассоциаций, академик И.И. Дедов участвует в формировании политики этих органов, представляет отечественную эндокринологию на крупнейших научных форумах, постоянно принимает участие в работе ряда ведущих зарубежных журналов. На протяжении многих лет академик И.И. Дедов является экспертом



Всемирной организации здравоохранения и руководителем сотрудничающего центра ВОЗ по сахарному диабету.

Академик И.И. Дедов энергично внедряет в клиническую практику новейшие технологии диагностики, лечения и профилактики эндокринопатий у детей, организовал национальный регистр детей и подростков с наиболее распространенными и социально значимыми заболеваниями эндокринной системы (сахарный диабет, врожденный гипотиреоз, врожденная дисфункция коры надпочечников, карликовость, опухоли эндокринной системы).

Под руководством академика И.И. Дедова – президента Российской ассоциации эндокринологов – регулярно проводятся национальные конгрессы с широким участием региональных и международных представителей, реализуется Федеральная целевая программа «Сахарный диабет», координирующая организацию диабетологической службы в стране.

Значительное место в научных изысканиях академика И.И. Дедова занимает изучение генетических и гормонально-метаболических аспектов патогенеза, клиники и лечения эндокринопатий аутоиммунного генеза. Под его руководством разработаны оптимальные методы и средства диагностики, лечения и реабилитации при опухолях гипоталамо-гипофизарной области, надпочечников, щитовидной железы и околощитовидных желез, созданы новые технологии популяционной, групповой и индивидуальной профилактики эндемического зоба, мониторинга йододефицитных состояний в России.

Творческий диапазон академика И.И. Дедова необычайно широк. Он уделяет большое внимание социальному аспекту заболеваний эндокринной системы, руководит выполнением крупных государственных программ, ищет новые прогрессивные методы интеграции науки и высшей школы. За большой личный вклад в развитие отечественной медицины академик И.И. Дедов награжден орденами «За заслуги перед Отечеством» II, III и IV степени, орденом Дружбы народов, премией и Золотой медалью имени Н.И. Пирогова – высшей наградой отечественной медицины.

Сотрудники ФГБУ «ФНЦТИО им. академика В.И. Шумакова» Минздрава России и редколлегия журнала «Вестник трансплантологии и искусственных органов» с главным редактором академиком Сергеем Владимировичем Готье сердечно поздравляют Ивана Ивановича с юбилеем и желают ему крепкого здоровья, многих лет успешной творческой деятельности.



ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ТРАНСПЛАНТОЛОГОВ «РОССИЙСКОЕ ТРАНСПЛАНТОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО»

123298, г. Москва
ул. Маршала Малиновского, д. 6,
корп. 1, офис 3

Тел: (499) 196-87-97
E-mail: rotransplant@mail.ru

VIII ВСЕРОССИЙСКИЙ СЪЕЗД ТРАНСПЛАНТОЛОГОВ

Приглашаем Вас принять участие в работе *VIII Всероссийского съезда трансплантологов*, который состоится **27–29 июня 2016 года** в ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России по адресу: г. Москва, ул. Щукинская, д. 1.

**Российское трансплантологическое общество объявило 2016 год
годом Владимира Петровича Демихова**

Съезд посвящен 100-летию В.П. Демихова

Научная программа съезда

1. Биологические и клинические аспекты трансплантации органов.
2. Биомаркеры и регуляторные механизмы в трансплантологии.
3. Актуальные вопросы сердечно-сосудистой и эндоваскулярной хирургии в аспекте трансплантации органов.
4. Системы вспомогательного кровообращения и искусственное сердце.
5. Биоискусственные системы, клеточные технологии и регенеративная медицина.
6. Аспекты органного донорства (эффективность использования донорского ресурса, расширение критериев, прижизненное донорство органов).

Тезисы будут опубликованы в отдельном выпуске журнала «Вестник трансплантологии и искусственных органов».

Заявки на участие в работе съезда (*указать: Ф. И. О., учреждение, должность, ученую степень, ученое звание, контакты (телефон, электронный адрес, почтовый адрес, факс)*) и **тезисы** необходимо выслать по электронной почте: transplantology@mail.ru.

Тезисы должны быть представлены текстом в объеме 1 страницы формата А4 с полями 3 см с каждой стороны, через 1 интервал шрифтом Times New Roman, размер 12. Название тезисов – заглавными буквами жирным шрифтом; авторы (инициалы после фамилий) – строчными буквами жирным шрифтом; название учреждения, город – строчными буквами обычным шрифтом; между названием учреждения и текстом тезисов – 2 интервала.

**ОПТИМИЗАЦИЯ ИММУНОСУПРЕССИВНОЙ ТЕРАПИИ
У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА****Сидоров В.Г., Петров Д.Е., Иванов А.Б.**

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

Основная задача иммуносупрессивной терапии

Образец оформления тезисов

Оперативная информация о подготовке к VIII Всероссийскому съезду трансплантологов размещена на сайте www.transpl.ru.

*Председатель Российского трансплантологического общества,
главный специалист трансплантолог
Минздрава России,
академик РАН*



С.В. Готье

ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ ИМЕНИ АКАДЕМИКА В.И. ШУМАКОВА» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ОТДЕЛ ПОДГОТОВКИ НАУЧНЫХ И МЕДИЦИНСКИХ КАДРОВ

Лицензия на осуществление образовательной деятельности № 1007 от 16.05.2014 г.

Россия, 123182, г. Москва, ул. Щукинская, д.1, тел.: 8(499)193-36-37

ФГБУ «ФНЦТИО имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России является ведущим научно-исследовательским медицинским учреждением, успешно развивающим одно из приоритетных направлений в современной хирургической науке – трансплантологию.

В Центре осуществляются все виды трансплантации органов пациентам от 3 месяцев до старшего возраста, проводятся все виды кардиохирургических вмешательств. Учреждение оснащено новейшим высокотехнологичным оборудованием, на котором работают высококвалифицированные научные кадры и медицинские специалисты – доктора наук, осуществляющие подготовку врачей и научных работников для регионов Российской Федерации.

ПОВЫШЕНИЕ КВАЛИФИКАЦИИ организовано для усовершенствования подготовки специалистов с высшим медицинским образованием в форме стажировки (до 144 часов) с выдачей удостоверения государственного образца по следующим направлениям:

- Анестезиологические пособия и интенсивная терапия при трансплантации жизненно важных органов.
- Болезни почек, почечная недостаточность и заместительная почечная терапия.
- Донорство в клинической трансплантологии.
- Клиническая трансплантация печени.
- Клиническая трансплантация печени у детей.
- Клиническая трансплантация почки.
- Клиническая трансплантация сердца.

- Клиническая лабораторная диагностика.
- Клиническое применение мультиспиральной компьютерной томографии.
- Лучевая диагностика и лучевая терапия.
- Основы и техника экстракорпорального кровообращения.
- Основы трансплантологии и искусственных органов.
- Патологическая анатомия у больных после аллотрансплантации органов и имплантации искусственных органов.
- Трансплантационная иммунология и иммуносупрессия.
- Тканевая инженерия и регенеративная медицина.

Гарантийное письмо на обучение специалистов от организаций присылается по электронной почте. E-mail: osetrova_ov@mail.ru

После получения гарантийного письма отправляются путевка с указанием даты прибытия специалиста на цикл повышения квалификации, договор, счет.

Консультации организованы в отделе подготовки научных и медицинских кадров (Щукинская, 1, 3-й этаж, кабинет 5310, заведующая отделом – докт. пед. наук Осетрова Ольга Вениаминовна).

Центр оказывает содействие в предоставлении койко-места в общежитиях медицинских вузов Москвы и Российской академии наук на период обучения.

Организовано питание в столовой учреждения.

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 А4 (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, Филиппов 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, Pfalzer 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.: MIA (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 vas-kulopatii 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

Названия таблиц, иллюстраций и рисунков, а также объяснения к ним должны быть представлены на русском и английском языках.

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 comply with the numbers in the text, but should not dupli-

cate 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

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 22.03.16.

Тираж 1000 экз.

ООО «Издательство «Триада».

ИД № 06059 от 16.10.01 г.

170034, г. Тверь, пр. Чайковского, 9, оф. 514,

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, Бежковский пер., 46.

Заказ 2302

CUTANPLAST – ГЕМОСТАТИЧЕСКИЕ ГУБКИ И ПЛЕНКА НА ОСНОВЕ ЖЕЛАТИНА

MASCIA BRUNELLI

- Эффективное кровоостанавливающее действие
- Совместим с тромбинами и любыми лекарственными препаратами
- Саморассасывающийся, не требующий удаления
- Высокая впитываемость и биоинертность
- Не прилипает к перевязочным материалам и инструментам



www.mba-group.ru

тел. 8 495 982 59 56
e-mail: info@mba-group.ru

ЭЛЕКТРОХИРУРГИЧЕСКОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

MEGADYNE MEDICAL PRODUCTS INC.

- MegaSoft – запатентованный и абсолютно безопасный многоразовый возвратный электрод. Не оставляет ожогов, подходит для всех категорий пациентов.



- ACE Blade режет кожу, не оставляя некроза на ткани, мышечную и хрящевую ткань, альтернатива обычному скальпелю.



- EZ-Clean минимизирует повреждение ткани даже при высоких температурах, не образует нагар, легко очищается, имеет большой модельный ряд конфигураций и размеров.



- Mega Power – усовершенствованный электрохирургический генератор, сочетающий в себе уникальные режимы, работает слаженно и безупречно на любых видах ткани.



- MegaVac обеспечивает качественное удаление хирургического дыма как при открытых, так и при лапароскопических операциях, оснащен двумя фильтрами и практически бесшумен.

