

ВЕСТНИК

ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ



Russian Journal
of Transplantology
and Artificial Organs

ТОМ XXII

№3–2020

КОМПЛЕКСНЫЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ РЕШЕНИЯ ДЛЯ ЛАБОРАТОРИЙ, ОТДЕЛЕНИЙ ОБЩЕЙ И СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ХИРУРГИИ И ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ



119435, г. Москва, ул. М. Пироговская, д. 16, оф. 31, тел./факс +7 (495) 788 5730. E-mail: info@medabv.ru; www.medabv.ru

Реклама

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА • ЭНДОСКОПИЯ
РАСХОДНЫЕ МАТЕРИАЛЫ
ВЫСОКОТЕХНОЛОГИЧНОЕ МЕДИЦИНСКОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

ВЕСТНИК ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ



УЧРЕДИТЕЛИ: ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ
ОРГАНИЗАЦИЯ ТРАНСПЛАНТОЛОГОВ
«РОССИЙСКОЕ ТРАНСПЛАНТОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО»
ФГБУ «НМИЦ ТИО ИМЕНИ АКАДЕМИКА В.И. ШУМАКОВА»
МИНЗДРАВА РОССИИ
ФГАОУ ВО «ПЕРВЫЙ МГМУ ИМЕНИ И.М. СЕЧЕНОВА»
МИНЗДРАВА РОССИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

2020. Том XXII. № 3

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

Научный редактор – Б.Л. Миронков
(Москва, Россия), д. м. н., профессор.
E-mail: mironkov@rambler.ru

Ответственный секретарь – Д.А. Великий (Москва,
Россия), к. м. н. E-mail: dim_vel@mail.ru

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

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

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

С.А. Борзенко (Москва, Россия) – д. м. н., профессор
Д.А. Гранов (Санкт-Петербург, Россия) – академик РАН,
д. м. н., профессор
Ф. Дельмонико (Бостон, США) – профессор
В.М. Захаревич (Москва, Россия) – д. м. н.
Г.П. Иткин (Москва, Россия) – д. б. н., профессор
П. Каличинский (Варшава, Польша) – профессор
Н.Ф. Климушева (Екатеринбург, Россия) – д. м. н.
Я. Лерут (Брюссель, Бельгия) – профессор
Ж. Массард (Страсбург, Франция) – профессор
И.А. Милосердов (Москва, Россия) – к. м. н.
М.Г. Минина (Москва, Россия) – д. м. н.
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., профессор
Р.Ш. Сaitгареев (Москва, Россия) – д. м. н., профессор
В.И. Севастьянов (Москва, Россия) – д. б. н., профессор
О.М. Цирульников (Москва, Россия) – д. м. н., профессор
А.О. Шевченко (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»
SHUMAKOV NATIONAL MEDICAL RESEARCH CENTER
OF TRANSPLANTOLOGY AND ARTIFICIAL ORGANS
I.M. SECHENOV FIRST MOSCOW STATE MEDICAL UNIVERSITY
(SECHENOV UNIVERSITY)

2020. Vol. XXII. № 3

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,
Russia), MD, PhD, professor

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

Executive Editor – D.A. Velikiy (Moscow, Russia),
MD, PhD. E-mail: dim_vel@mail.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

C.A. Borzenok (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor
D.A. Granov (Saint Petersburg, Russia) – MD, PhD, professor,
member of Russian Academy of Sciences
F. Delmonico (Boston, USA) – MD, FACS, professor
V.M. Zakharevich (Moscow, Russia) – MD, PhD
G.P. Itkin (Moscow, Russia) – PhD, professor
P.J. Kaliciński (Warsaw, Poland) – MD, PhD, professor
N.F. Klimusheva (Ekaterinburg, Russia) – MD, PhD
J. Lerut (Brussels, Belgium) – MD, PhD, FACS
G. Massard (Strasbourg, France) – MD, PhD, professor
I.A. Miloserdov (Moscow, Russia) – MD, PhD
M.G. Minina (Moscow, Russia) – MD, PhD
Yu.P. Ostrovsky (Minsk, Belarus) – MD, PhD, professor,
member 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, professor
R.Sh. Saitgareev (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor
V.I. Sevastianov (Moscow, Russia) – PhD, professor
O.M. Tsurulnikova (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor
A.O. Shevchenko (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor,
corresponding 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. Васильев (Москва, Россия) – член-корреспондент РАН, д. б. н., профессор

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

Л.А. Габбасова (Москва, Россия) – д. м. н.

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

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

М.Г. Иткин (Филадельфия, США) – профессор

В.А. Порханов (Краснодар, Россия) – академик РАН, д. м. н., профессор

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

О.О. Руммо (Минск, Беларусь) – член-корреспондент НАНБ, д. м. н., профессор

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

В.А. Ткачук (Москва, Россия) – академик РАН, д. б. н., профессор

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

М.Ш. Хубутия (Москва, Россия) – академик РАН, д. м. н., профессор

А.М. Чернявский (Новосибирск, Россия) – 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

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» индексируется в Scopus и размещен на платформе Web of Science Core Collection: Emerging 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. Vasiliev (Moscow, Russia) – PhD, professor, corresponding member of Russian Academy of Sciences

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

L.A. Gabbasova (Moscow, Russia) – MD, PhD

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

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

M.G. Itkin (Philadelphia, USA) – MD, professor

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

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

O.O. Rummo (Minsk, Belarus) – MD, PhD, professor, corresponding member of National Academy of Sciences of Belarus

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

V.A. Tkachuk (Moscow, Russia) – PhD, professor, member of Russian Academy of Sciences

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

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

A.M. Chernyavskiy (Novosibirsk, Russia) – MD, PhD, professor

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

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

«Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs» is included in the list of leading peer-reviewed scientific publication editions, produced in the Russian Federation and is recommended for publication of primary results of dissertation research

«Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs» is indexed in Scopus and in the Emerging Science Citation Index of the Web of Science Core Collection

ISSN 1995-1191

Адрес для корреспонденции:

Россия, 123182, Москва, ул. Шукшинская, 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>

СОДЕРЖАНИЕ

СТРАНИЦА ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Трансплантация солидных органов в условиях пандемии новой коронавирусной инфекции COVID-19

С.В. Готье

АКТУАЛЬНАЯ ПРОБЛЕМА

Особенности клинического течения коронавирусной инфекции COVID-19 у реципиентов сердца, почки, печени: первые результаты национального многоцентрового наблюдательного исследования «РОККОР-реципиент»

С.В. Готье, А.О. Шевченко, О.М. Цирульников, С.М. Хомяков, О.Н. Котенко, В.Е. Виноградов, И.Н. Абызов, Г.Д. Аветисян, А.Ю. Анисимов, Л.Ю. Артюхина, М.Т. Беков, В.А. Бердинский, В.С. Богданов, А.Ю. Быков, А.Ю. Винокуров, А.Ю. Гончарова, Д.П. Евдокимов, Д.В. Езерский, В.Е. Загайнов, В.М. Захаревич, К.Н. Зеленин, Е.С. Иванова, А.А. Карташев, Н.Г. Квадратова, И.Г. Ким, Н.Н. Колоскова, В.Л. Коробка, И.Р. Курбануглов, М.А. Лысенко, И.А. Милосердов, Я.Г. Мойсюк, Г.В. Николаев, И.В. Островская, Н.Ю. Петрова, А.В. Петряев, А.В. Пинчук, В.С. Платонов, В.Н. Попцов, З.А. Порчихидзе, Д.А. Сайдулаев, А.Д. Сапожников, С.Б. Семченко, М.М. Скоробогатов, В.Ю. Терещенко, Н.Ф. Фролова, Д.В. Халикова, Т.А. Халилулин

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ОРГАНОВ

Лечение стриктур билиодигестивного анастомоза после трансплантации левого латерального сектора печени

А.Р. Монахов, Б.Л. Миронков, М.А. Восканов, С.В. Мещеряков, Э.Т. Азоев, К.О. Семаш, Т.А. Джанбеков, О.В. Силина, С.В. Готье

Определение приоритетности в выборе пациентов из листа ожидания для трансплантации печени

В.Л. Коробка, М.Ю. Кострыкин, В.Д. Пасечников, Е.С. Пак

Эффективность альбуминового диализа в качестве моста к трансплантации у детей с терминальными заболеваниями печени

А.Г. Строков, Я.Л. Поз, А.Р. Монахов, С.В. Мещеряков, М.А. Восканов, С.В. Готье

Организационные и медико-эпидемиологические предпосылки пересмотра донорских критериев при трансплантации сердца

Э.А. Тенчурина, М.Г. Минина

CONTENTS

EDITORIAL

- 6 Solid organ transplantation in the COVID-19 pandemic
S.V. Gautier

PRESSING CHALLENGES

- 8 COVID-19 in solid organ transplant recipients: initial report from national multicenter observational study «ROKKOR-recipient»
S.V. Gautier, A.O. Shevchenko, O.M. Tsirulnikova, S.M. Khomyakov, O.N. Kotenko, V.E. Vinogradov, I.N. Abyzov, G.D. Avetisyan, A.Yu. Anisimov, L.Yu. Artyukhina, M.T. Bekov, V.A. Berdinsky, V.S. Bogdanov, A.Yu. Bykov, A.Yu. Vinokurov, A.Yu. Goncharova, D.P. Evdokimov, D.V. Ezersky, V.E. Zagainov, V.M. Zakharevich, K.N. Zelenin, E.S. Ivanova, A.A. Kartashev, N.G. Kvadratova, I.G. Kim, N.N. Koloskova, V.L. Korobka, I.R. Kurbanuglov, M.A. Lysenko, I.A. Miloserdov, Ya.G. Moisyuk, G.V. Nikolaev, I.V. Ostrovskaya, N.Yu. Petrova, A.V. Petryaev, A.V. Pinchuk, V.S. Platonov, V.N. Poptsov, Z.A. Porchkhidze, D.A. Saydulaev, A.D. Sapozhnikov, S.B. Semchenko, M.M. Skorobogatov, V.Yu. Tereshchenko, N.F. Frolova, D.V. Khalikova, T.A. Khalilulin

ORGAN TRANSPLANTATION

- 18 Treatment of biliodigestive anastomotic strictures after transplantation of left lateral segment of the liver
A.R. Monakhov, B.L. Mironkov, M.A. Voskanov, S.V. Meshcheryakov, E.T. Azoev, K.O. Semash, T.A. Dzhanbekov, O.V. Silina, S.V. Gautier
- 26 Prioritization for liver transplantation
V.L. Korobka, M.Y. Kostykin, V.D. Passetchnikov, E.S. Pak
- 36 Efficacy of albumin dialysis as a bridge to transplantation in children with end-stage liver disease
A.G. Strokov, I.L. Poz, A.R. Monakhov, S.V. Meshcheryakov, M.A. Voskanov, S.V. Gautier
- 43 Organizational, medical and epidemiological prerequisites for reviewing donor criteria in heart transplantation
E.A. Tenchurina, M.G. Minina

Функциональное состояние кардиореспираторной системы после ортотопической трансплантации сердца с длительной холодовой ишемией трансплантата
И.Ю. Логинова, О.В. Каменская, А.В. Фомичев, Д.В. Доронин, А.М. Чернявский, В.В. Ломиворотов

Особенности личностных характеристик реципиентов после трансплантации сердца
М.А. Симоненко, П.А. Федотов, П.В. Широбокова, Ю.В. Сазонова, М.А. Борцова, А.В. Березина, М.А. Карпенко

Связь уровня экспрессии микроРНК в плазме крови реципиентов сердца с концентрацией биомаркеров посттрансплантационных осложнений
Д.А. Великий, О.Е. Гичкун, А.А. Улыбышева, С.О. Шарапченко, А.В. Марченко, О.П. Шевченко, А.О. Шевченко

ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ

Математическая оценка гемолиза канального центробежного насоса
А.П. Кулешов, Г.П. Иткин, А.С. Бучнев, А.А. Дробышев

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

Первый отечественный опыт аллотрансплантации трупной почки с использованием роботизированной системы Da Vinci
В.Л. Медведев, В.А. Порханов, К.Е. Чернов, С.Н. Волков, Г.А. Палагута, О.В. Арепьева, Е.В. Гердель

Первый опыт прямого перфузионного исследования трансплантата после ортотопической пересадки печени
А.В. Моисеенко, А.А. Поликарпов, П.Г. Таразов, Д.А. Гранов

Транскатетерная имплантация биопротеза аортального клапана на нитиноловом саморасширяющемся каркасе по методике «клапан в клапан» в связи с дегенерацией створок первичного биопротеза. Клиническое наблюдение пациентки с высоким хирургическим риском
Л.С. Коков, [В.В. Соколов], М.В. Пархоменко, Р.Ш. Муслимов, М.В. Буланова, Н.М. Бикбова

Эндопротез нижней челюсти с опорными зонами как искусственный орган
А.И. Шайхалиев, П.С. Петрук, И.М. Шницер, А.С. Мигачев, Л.Д. Арашвили, Т.Р. Давыдова, Г.А. Гасбанов, Р.С. Корголов

53 Functional state of the cardiorespiratory system after orthotopic heart transplantation with prolonged cold ischemia time
I.Yu. Loginova, O.V. Kamenskaya, A.V. Fomichev, D.V. Doronin, A.M. Chernyavskiy, V.V. Lomivorotov

62 Personality factors in heart transplant recipients
M.A. Simonenko, P.A. Fedotov, P.V. Shirobokova, Yu.V. Sazonova, M.A. Bortsova, A.V. Berezina, M.A. Karpenko

69 Correlation between microRNA expression levels and plasma concentrations of biomarkers of post-transplant complications in heart transplant recipients
D.A. Velikiy, O.E. Gichkun, A.A. Ulybysheva, S.O. Sharapchenko, A.V. Marchenko, O.P. Shevchenko, A.O. Shevchenko

ARTIFICIAL ORGANS

79 Mathematical evaluation of hemolysis in a channel centrifugal blood pump
A.P. Kuleshov, G.P. Itkin, A.S. Buchnev, A.A. Drobyshev

CLINICAL CASES

86 Cadaveric kidney allograft transplantation using the Da Vinci robotic surgical system. Initial experience in the Russian Federation
V.L. Medvedev, V.A. Porkhanov, K.E. Chernov, S.N. Volkov, G.A. Palaguta, O.V. Arepyeva, E.V. Gerdel

99 Initial experience in direct graft perfusion assessment following orthotopic liver transplant
A.V. Moiseenko, A.A. Polikarpov, P.G. Tarazov, D.A. Granov

107 Valve-in-valve transcatheter aortic valve replacement on a self-expandable nitinol frame due to degeneration of primary bioprosthetic valve cusps. Clinical case of a high-risk surgical female patient
L.S. Kokov, [V.V. Sokolov], M.V. Parkhomenko, R.Sh. Muslimov, M.V. Bulanova, N.M. Bikbova

115 Mandibular endoprosthesis with support zones as an artificial organ
A.I. Shaikhaliev, P.S. Petruk, I.M. Shpitser, A.S. Migachev, L.D. Arasashvili, T.R. Davydova, G.A. Gasbanov, R.S. Korgoloev

РЕГЕНЕРАТИВНАЯ МЕДИЦИНА И КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

Экспериментальные подходы к созданию
тканеспецифического матрикса
для биоискусственной печени

*А.М. Григорьев, Ю.Б. Басок, А.Д. Кириллова,
Л.А. Кирсанова, Н.П. Шмерко, А.М. Суббот,
Е.А. Немец, И.А. Милосердов, М.Ю. Шагидулин,
В.И. Севастьянов*

К механизму активации восстановительных
процессов в печени при использовании общей
РНК клеток костного мозга

*Н.А. Онищенко, Е.В. Фоменко, А.О. Никольская,
З.З. Гоникова, М.Ю. Шагидулин, М.В. Балясин,
А.В. Ельчанинов, В.И. Севастьянов*

Трехмерный анализ микро- и наноструктуры
ткани легкого методом сканирующей зондовой
нанотомографии

*А.Е. Ефимов, О.И. Агапова, Л.А. Сафонова,
М.М. Боброва, И.И. Агапов*

Влияние компонентов микроэмульсионной
системы на трансдермальный
перенос иммуномодулятора
глюкозаминилмуреамидпептида

*Е.Г. Кузнецова, О.М. Курьева, Л.А. Саломатина,
С.В. Курсаков, С.В. Гурьянова, В.И. Севастьянов*

Эффект интрамиокардиального
введения аллогенного биоматериала на
уровень ангиогенеза и ремоделирования
постинфарктного рубца у крыс

*А.И. Лебедева, С.А. Муслимов, Л.А. Мусина,
Е.М. Гареев, Р.З. Кадыров, Д.С. Кондратьева,
С.А. Афанасьев, С.В. Попов*

Технология получения ультратонкого заднего
послойного трансплантата роговицы в условиях
Глазного тканевого банка

*А.К. Ахмедов, Т.З. Керимов, Х.Д. Тонаева,
Б.Э. Малюгин, С.А. Борзенко*

ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ

Современные представления о критериях
селекции доноров сердца

Э.А. Тенчурина, М.Г. Минина

ИНФОРМАЦИЯ

Требования к публикациям

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

REGENERATIVE MEDICINE AND CELL TECHNOLOGIES

123 Experimental approaches to creating
a tissue-specific matrix for a bioartificial liver
*A.M. Grigoriev, Yu.B. Basok, A.D. Kirillova,
L.A. Kirsanova, N.P. Shmerko, A.M. Subbot, E.A. Nemets,
I.A. Miloserdov, M.Yu. Shagidulin, V.I. Sevastyanov*

134 Activation of regenerative processes in the liver
when using cell-bone marrow total RNA
*N.A. Onishchenko, E.V. Fomenko, A.O. Nikolskaya,
Z.Z. Gonikova, M.Yu. Shagidulin, M.V. Balyasin,
A.V. Elchaninov, V.I. Sevastyanov*

143 3D analysis of the micro- and nanostructure of lung
tissue by scanning probe nanotomography
*A.E. Efimov, O.I. Agapova, L.A. Safonova, M.M. Bobrova,
I.I. Agapov*

149 Influence of microemulsion components
on transdermal delivery of immunomodulator
glucosaminylmureamyl dipeptide
*E.G. Kuznetsova, O.M. Kuryleva, L.A. Salomatina,
S.V. Kursakov, S.V. Guryanova, V.I. Sevastyanov*

156 Effect of intramyocardial allogenic biomaterial
injection on angiogenesis and postischemic scar
remodeling in rats
*A.I. Lebedeva, S.A. Muslimov, L.A. Musina, E.M. Gareev,
R.Z. Kadyrov, D.S. Condratyeva, S.A. Afanasiev,
S.V. Popov*

167 Technology for obtaining an ultrathin posterior
lamellar corneal graft at the Eye Tissue Bank
*A.K. Ahmedov, T.Z. Kerimov, Kh.D. Tonaeva,
B.E. Malygin, S.A. Borzenok*

LITERATURE REVIEWS

174 Modern ideas in heart donor selection criteria
E.A. Tenchurina, M.G. Minina

INFORMATION

182 Instructions to authors

187 On scientific and medical personnel training
at Shumakov National Medical Research Center of
Transplantology and Artificial Organs

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ СОЛИДНЫХ ОРГАНОВ В УСЛОВИЯХ ПАНДЕМИИ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19

SOLID ORGAN TRANSPLANTATION IN THE COVID-19 PANDEMIC

В настоящем выпуске журнала опубликована статья, посвященная результатам национального многоцентрового исследования «Распространенность и Особенности Клинического течения **КОР**онавирусной инфекции у РЕЦИПИЕНТов сердца, почки, печени» (**РОККОР-реципиент**), организованного под эгидой Российского трансплантологического общества.

Беспрецедентная по масштабам и последствиям пандемия, вызванная новым коронавирусом SARS-CoV-2, охватила почти все страны мира; не явилась исключением и Российская Федерация. Нынешний этап развития отечественной трансплантологии характеризуется наличием достаточно большого числа граждан – различного пола, возраста и социального статуса, – перенесших трансплантацию солидных органов. Реципиенты сердца, почки, печени, пожизненно получающие иммуносупрессивную терапию и имеющие ряд сопутствующих заболеваний, подвержены риску тяжелых осложнений COVID-19. С другой стороны, новая коронавирусная инфекция в условиях пандемии представляет опасность и для больных тяжелыми хроническими заболеваниями с терминальной стадией поражения жизненно важных органов – потенциальных реципиентов. В этих условиях необходимо оценить соотношение потенциальной пользы и риска трансплантации донорского органа. Для решения указанных выше вопросов, как и ряда других, касающихся особенностей клинического течения и лечения коронавирусной инфекции у реципиентов органов, было инициировано исследование **РОККОР-реципиент**, первые результаты которого представлены в журнале.

Отрадно отметить, что в течение достаточно короткого времени удалось организовать



This journal issue features a paper devoted to the results of a national multicenter observational study titled «Prevalence and Features of the Clinical Course of Coronavirus Infection in Heart, Kidney, and Liver Recipients» (**ROKKOR-recipient**), organized under the auspices of the Russian Transplant Society.

The new coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic, unprecedented in scale and consequences, which is caused by the SARS-CoV-2 virus, has affected almost all countries in the world, including Russia. In the development of Russian transplantology currently, there is a fairly large number of solid organ recipients of different sex, age and social status. Heart, kidney, and liver recipients, who are permanently receiving immunosuppressive therapy and having a number of comorbidities, are at risk of severe complications from COVID-19. On the other hand, the new coronavirus infection in a pandemic is also dangerous for patients with severe chronic diseases with end-stage damage to vital organs – potential recipients. In these conditions, it is necessary to assess the relationship between the potential benefits and risks of donor organ transplantation. In order to address the above issues and a number of others related to the specifics of the clinical course and treatment of coronavirus infection in organ recipients, the **ROKKOR-recipient** study was initiated. The initial report is presented in the journal.

It is pleasing to note that within a fairly short time, it was possible to organize and conduct a multicenter observational study involving 20 institutions from different regions of the Russian Federation. Here we report the results of the first stage of the study. The next stage is currently ongoing

и провести по-настоящему многоцентровое исследование с участием двадцати учреждений из различных регионов РФ. После завершения первого этапа, результаты которого опубликованы в настоящем выпуске, исследование продолжается. Результаты второго этапа мы планируем получить в конце 2020 года и опубликовать в первом номере «Вестника» в 2021 году.

С уважением,
академик РАН С.В. Готье



and the results are anticipated towards the end of 2020 and will be highlighted in the first issue of our journal in 2021.

Sincerely,
S.V. Gautier.
Member, Russian Academy of Sciences

**По распоряжению Правительства РФ № 2206-р от 31 августа 2020 года
НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова вошел в список научных организаций,
которые вправе самостоятельно присуждать ученые степени кандидата и доктора наук**



ПРАВИТЕЛЬСТВО РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

РАСПОРЯЖЕНИЕ

от 31 августа 2020 г. № 2206-р

МОСКВА

Дополнить раздел I перечня научных организаций и образовательных организаций высшего образования, которым предоставляются права, предусмотренные абзацами вторым - четвертым пункта 3¹ статьи 4 Федерального закона "О науке и государственной научно-технической политике", утвержденного распоряжением Правительства Российской Федерации от 23 августа 2017 г. № 1792-р (Собрание законодательства Российской Федерации, 2017, № 35, ст. 5392; 2018, № 36, ст. 5677; 2019, № 36, ст. 5058), пунктом 4¹ следующего содержания:

"4¹. Федеральное государственное бюджетное учреждение "Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И.Шумакова" Министерства здравоохранения Российской Федерации".

Председатель Правительства
Российской Федерации



М.Мишустин

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-3-8-17

ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19 У РЕЦИПИЕНТОВ СЕРДЦА, ПОЧКИ, ПЕЧЕНИ: ПЕРВЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ НАЦИОНАЛЬНОГО МНОГОЦЕНТРОВОГО НАБЛЮДАТЕЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ «РОККОР-РЕЦИПИЕНТ»

С.В. Готье^{1, 2}, А.О. Шевченко^{1, 3}, О.М. Цирульников^{2, 1}, С.М. Хомяков¹, О.Н. Котенко⁴, В.Е. Виноградов^{4, 5}, И.Н. Абызов⁶, Г.Д. Аветисян⁷, А.Ю. Анисимов⁸, Л.Ю. Артюхина⁴, М.Т. Беков¹, В.А. Бердинский⁴, В.С. Богданов⁴, А.Ю. Быков⁹, А.Ю. Винокуров¹⁰, А.Ю. Гончарова¹, Д.П. Евдокимов¹¹, Д.В. Езерский¹², В.Е. Загайнов¹³, В.М. Захаревич^{1, 2}, К.Н. Зеленин¹⁴, Е.С. Иванова⁴, А.А. Карташев¹, Н.Г. Квадратова¹, И.Г. Ким⁴, Н.Н. Колоскова¹, В.Л. Коробка¹⁵, И.Р. Курбануглов¹, М.А. Лысенко⁴, И.А. Милосердов^{1, 2}, Я.Г. Мойсюк¹⁶, Г.В. Николаев¹⁷, И.В. Островская⁴, Н.Ю. Петрова¹⁸, А.В. Петряев¹⁹, А.В. Пинчук²⁰, В.С. Платонов²¹, В.Н. Попцов¹, З.А. Порчхидзе¹, Д.А. Сайдулаев¹, А.Д. Сапожников²², С.Б. Семченко²³, М.М. Скоробогатов²¹, В.Ю. Терещенко²⁴, Н.Ф. Фролова⁴, Д.В. Халикова¹, Т.А. Халилулин^{1, 2}

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

² ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация

³ ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

⁴ Московский городской научно-практический центр нефрологии и патологии трансплантированной почки ГБУЗ «ГКБ № 52 ДЗМ», Москва, Российская Федерация

⁵ ГБУ «Научно-исследовательский институт организации здравоохранения и медицинского менеджмента ДЗМ», Москва, Российская Федерация

⁶ БУ «Республиканская клиническая больница», Чебоксары, Российская Федерация

⁷ ОГБУЗ «Клиническая больница № 1», Смоленск, Российская Федерация

⁸ ГАУЗ «Городская клиническая больница № 7», Казань, Российская Федерация

⁹ ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», Новосибирск, Российская Федерация

¹⁰ ГБУЗ «Ленинградская областная клиническая больница», Санкт-Петербург, Российская Федерация

¹¹ КГБУЗ «Краевая клиническая больница», Красноярск, Российская Федерация

¹² КГБУЗ «Краевая клиническая больница № 1 имени профессора С.И. Сергеева», Хабаровск, Российская Федерация

¹³ ФБУЗ «Приволжский окружной медицинский центр» ФМБА, Нижний Новгород, Российская Федерация

¹⁴ Министерство здравоохранения Архангельской области, Архангельск, Российская Федерация

¹⁵ ГБУ РО «Ростовская областная клиническая больница, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

¹⁶ ГБУЗ МО «МОНИКИ имени М.Ф. Владимирского», Москва, Российская Федерация

¹⁷ ФГБУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии имени В.А. Алмазова», Санкт-Петербург, Российская Федерация

¹⁸ ГБУЗ «Саратовская областная клиническая больница», Саратов, Российская Федерация

Для корреспонденции: Шевченко Алексей Олегович. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (495) 190-35-62. E-mail: alxxshevchenko@aol.com

Corresponding author: Alexey Shevchenko. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (495) 190-35-62. E-mail: alxxshevchenko@aol.com

¹⁹ ГУЗ ТО «Тульская областная клиническая больница», Тула, Российская Федерация

²⁰ ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи имени Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва, Российская Федерация

²¹ Окружная клиническая больница, Ханты-Мансийск, Российская Федерация

²² ФГБУ «НМИЦ ТИО имени ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, филиал в г. Волжский, Волжский, Российская Федерация

²³ Центр трансплантации органов и тканей ГБУЗ Тюменской области «Областная клиническая больница № 1», Тюмень, Российская Федерация

²⁴ Городская клиническая больница № 1 имени Кабанова А.Н., Омск, Российская Федерация

В статье представлены первые результаты национального многоцентрового исследования «РОККОР-реципиент», имевшего целью изучить распространенность, факторы риска, клинические проявления и исходы новой коронавирусной инфекции (COVID-19) у реципиентов солидных органов, получающих иммуносупрессивную терапию. В исследование включен 251 пациент (220 реципиентов почки, 7 реципиентов печени, 1 реципиент печени и почки, 23 реципиента сердца) из 20 регионов России с COVID-19. Описаны симптомы, клинические проявления, результаты инструментальных и лабораторных обследований, терапия и исходы коронавирусной инфекции. Выявлено, что наличие трансплантированного органа повышает риск нежелательных событий на фоне COVID-19, предикторами которых являются сопутствующие сердечно-сосудистые, легочные заболевания, сахарный диабет и почечная недостаточность, наличие в качестве симптомов манифестации заболевания одышки, сыпи и катаральных явлений, а также исходно низкая сатурация кислорода ($SpO_2 < 92\%$), лейкоцитоз более $10 \times 10^9/\text{л}$, повышение уровней креатинина более 130 мкмоль/л и значимое снижение скорости клубочковой фильтрации, требующее проведения гемодиализа. Выполнение трансплантации органов на фоне пандемии COVID-19 не повышает риск развития нежелательных событий у реципиентов, но позволяет спасти жизни больных с терминальными заболеваниями, включенных в лист ожидания.

Ключевые слова: трансплантация органов, пандемия, COVID-19, SARS-CoV-2, факторы риска, Российское трансплантологическое общество.

COVID-19 IN SOLID ORGAN TRANSPLANT RECIPIENTS: INITIAL REPORT FROM NATIONAL MULTICENTER OBSERVATIONAL STUDY «ROKKOR-RECIPIENT»

S.V. Gautier^{1, 2}, A.O. Shevchenko^{1, 3}, O.M. Tsirulnikova^{2, 1}, S.M. Khomyakov¹, O.N. Kotenko⁴, V.E. Vinogradov^{4, 5}, I.N. Abyzov⁶, G.D. Avetisyan⁷, A.Yu. Anisimov⁸, L.Yu. Artyukhina⁴, M.T. Bekov¹, V.A. Berdinsky⁴, V.S. Bogdanov⁴, A.Yu. Bykov⁹, A.Yu. Vinokurov¹⁰, A.Yu. Goncharova¹, D.P. Evdokimov¹¹, D.V. Ezersky¹², V.E. Zagainov¹³, V.M. Zakharevich^{1, 2}, K.N. Zelenin¹⁴, E.S. Ivanova⁴, A.A. Kartashev¹, N.G. Kvadrato¹, I.G. Kim⁴, N.N. Koloskova¹, V.L. Korobka¹⁵, I.R. Kurbanuglov¹, M.A. Lysenko⁴, I.A. Miloserdov^{1, 2}, Ya.G. Moisyuk¹⁶, G.V. Nikolaev¹⁷, I.V. Ostrovskaya⁴, N.Yu. Petrova¹⁸, A.V. Petryaev¹⁹, A.V. Pinchuk²⁰, V.S. Platonov²¹, V.N. Poptsov¹, Z.A. Porchkhidze¹, D.A. Saydulaev¹, A.D. Sapozhnikov²², S.B. Semchenko²³, M.M. Skorobogatov²¹, V.Yu. Tereshchenko²⁴, N.F. Frolova⁴, D.V. Khalikova¹, T.A. Khalilulin^{1, 2}

¹ Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation

² Sechenov University, Moscow, Russian Federation

³ Pirogov Medical University, Moscow, Russian Federation

⁴ Moscow City Scientific and Practical Center for Nephrology and Transplant Kidney Pathology, City Clinical Hospital No. 52, Moscow, Russian Federation

⁵ Research Institute of Health Care Organization and Medical Management, Moscow, Russian Federation

⁶ Republican Clinical Hospital, Cheboksary, Russian Federation

⁷ Clinical Hospital No. 1, Smolensk, Russian Federation

⁸ City Clinical Hospital No. 7, Kazan, Russian Federation

⁹ State Novosibirsk Regional Clinical Hospital, Novosibirsk, Russian Federation

¹⁰ Leningrad Regional Clinical Hospital, St. Petersburg, Russian Federation

¹¹ Regional Clinical Hospital, Krasnoyarsk, Russian Federation

¹² Sergeev Regional Clinical Hospital No. 1, Khabarovsk, Russian Federation

¹³ Volga Regional Medical Center, Nizhny Novgorod, Russian Federation

¹⁴ Ministry of Health of the Arkhangelsk Oblast, Arkhangelsk, Russian Federation

¹⁵ Rostov Regional Clinical Hospital, Rostov-on-Don, Russian Federation

¹⁶ Vladimirsky Moscow Regional Research Clinical Institute, Moscow, Russian Federation

¹⁷ Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russian Federation

¹⁸ Saratov Regional Clinical Hospital, Saratov, Russian Federation

¹⁹ Tula Regional Clinical Hospital, Tula, Russian Federation

²⁰ Sklifosovsky Research Institute of Emergency Care, Moscow, Russian Federation

²¹ District Clinical Hospital, Khanty-Mansiysk, Russian Federation

²² Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs in the city of Volzhsky, Volzhsky, Russian Federation

²³ Center for Organ and Tissue Transplantation, Regional Clinical Hospital No. 1, Tyumen, Russian Federation

²⁴ Kabanov City Clinical Hospital No. 1, Omsk, Russian Federation

We herein present our initial report from «ROKKOR-recipient», a national multicenter observational study. The prevalence, risk factors, clinical manifestations and outcomes of the novel coronavirus disease 2019 (COVID-19) in solid organ transplant recipients receiving immunosuppressive therapy were investigated. The study enrolled 251 COVID-19 patients (220 kidney recipients, 7 liver recipients, 1 liver-kidney recipient, and 23 heart recipients). The subjects came from 20 regions in Russia. The symptoms, clinical presentation, imaging and lab test results, therapy and outcomes of COVID-19 were described. It was established that solid organ transplant recipients with COVID-19 have a higher risk of developing adverse events. Predictors of adverse events include associated cardiovascular diseases, pulmonary diseases, diabetes, and kidney failure. Symptoms of the disease include dyspnea, rash and catarrhal signs, as well as initial low blood oxygen saturation ($\text{SpO}_2 < 92\%$), leukocytosis (white blood cell count $> 10 \times 10^9/\text{L}$), elevated creatinine levels ($> 130 \mu\text{mol/L}$) and a marked decrease in glomerular filtration rate, requiring hemodialysis. Performing organ transplant surgery in COVID-19 does not increase the risk of adverse events but could save the lives of waitlisted terminally ill patients.

Keywords: organ transplantation, pandemic, COVID-19, SARS-CoV-2, risk factors, Russian Transplant Society.

ВВЕДЕНИЕ

Беспрецедентная по масштабам и последствиям пандемия, вызванная новым коронавирусом SARS-CoV-2, в первой половине 2020 года охватила практически все, за редким исключением, страны мира, где к концу июля насчитывалось более 16 миллионов заболевших и более 650 тысяч погибли. В России в период с 31 января по 17 июля 2020 года выявлено 759 203 подтвержденных случаев COVID-19, зарегистрировано 12 123 смерти [1]. Высокая скорость распространения вируса обусловлена бессимптомным носительством, высокой контагиозностью и длительным сохранением во внешней среде. Около 20% больных нуждаются в госпитализации, смертность сильно варьирует в разных странах и зависит от ряда факторов, составляя от 1 до 15,2% [2, 3].

Инфекция, вызванная новым коронавирусом SARS-CoV-2, является малоизученным заболеванием, и несмотря на огромную распространенность коронавирусной болезни в мире, количество наблюдений у реципиентов трансплантированных органов

мало. Важной особенностью этой категории пациентов является перманентный риск развития отторжения трансплантата, что предполагает необходимость в иммуносупрессивной терапии. Реципиенты трансплантированных органов – сердца, печени, почки, – вынужденные пожизненно получать иммуносупрессивную терапию и имеющие ряд сопутствующих заболеваний, представляют собой группу лиц с потенциально высоким риском тяжелых осложнений COVID-19 [4, 5].

На фоне развития отечественной трансплантологии к началу 2020 года в Российской Федерации сформировалась многочисленная популяция лиц, перенесших трансплантацию органов. Трансплантация сердца, печени и почки позволяет спасти жизнь, восстановить трудоспособность пациентов с критическими, жизнеугрожающими состояниями, добиться физической и социальной реабилитации. Реципиенты имеют ряд особенностей, обусловленных физиологией трансплантированных органов и необходимостью в пожизненной иммуносупрессив-

ной терапии, что может оказывать непредсказуемое влияние на риск заражения вирусом SARS-CoV-2 и клиническое течение заболевания COVID-19. В частности, иммуносупрессия повышает вероятность инфекционных заболеваний [6], но снижает риск развития острого воспалительного ответа («цитокинового шторма»), более того, существует предположение, что ингибиторы кальциневрина, являющиеся основой комплексной иммуносупрессивной терапии, могут подавлять внутриклеточную репликацию коронавируса [7].

Пандемия COVID-19 представляет опасность не только для реципиентов органов, но и для тяжелых больных с терминальными заболеваниями сердца, печени и почек, включенных в лист ожидания [8], и для оценки соотношения пользы и риска оперативного вмешательства необходимы клинические данные.

Под эгидой Российского трансплантологического общества было организовано национальное многоцентровое исследование «Распространенность и Особенности Клинического течения КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ у РЕЦИПИЕНТОВ сердца, почки, печени» (РОККОР-реципиент) с целью изучить распространенность, факторы риска, клинические проявления и исходы новой коронавирусной инфекции (COVID-19) у реципиентов солидных органов – сердца, почки, печени, – получающих иммуносупрессивную терапию.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие российские федеральные и региональные центры, оказывающие медицинскую помощь реципиентам трансплантированных органов в условиях пандемии COVID-19. Критерием включения пациента в исследование являлось наличие трансплантированного органа – печени, почки или сердца и выявленное заболевание COVID-19, а также информированное согласие пациента на обработку данных.

Для диагноза коронавирусной инфекции, вызванной вирусом COVID-19, требовалось либо лабораторное подтверждение, либо наличие характерных клинических признаков, включая пневмонию [9], что соответствует следующим кодам МКБ-10: U07.1, U07.2, J12–J18. Для лабораторной диагностики инфицирования вирусом SARS-CoV-2 использовалось выделение вирусной РНК методом полимеразной цепной реакции в образцах, взятых со слизистых оболочек. В качестве клинических критериев учитывались наличие признаков острой респираторной инфекции и дыхательной недостаточности, а также снижения сатурации кислорода при дыхании атмосферным воздухом ($SpO_2 < 92\%$) и характерные изменения, выявляемые при помощи компьютерной томографии органов грудной клетки (уплотнения легочной ткани по типу «матового стекла», наличие

ретикулярных изменений, участков консолидации и уплотнений легочной ткани).

Для определения степени тяжести COVID-19 использовалась классификация, представленная во «Временных методических рекомендациях по диагностике, профилактике и лечению новой коронавирусной инфекции МЗ РФ» [9] (табл. 1).

Таблица 1

Классификация степени тяжести COVID-19 («Временные методические рекомендации по диагностике, профилактике и лечению новой коронавирусной инфекции МЗ РФ» [9])

COVID-19 severity classification («Temporary guidelines for the diagnosis, prevention and treatment of a new coronavirus infection of the Ministry of health of the Russian Federation» [9])

Степень тяжести	Критерии
Легкая	$T < 38^\circ C$, кашель, слабость, боли в горле Отсутствие критериев среднетяжелого и тяжелого течения
Средняя	$t > 38^\circ C$ ЧДД > 22 Одышка на фоне физической нагрузки Пневмония по КТ $SpO_2 < 95\%$ СРБ > 10 мг/л
Тяжелая	ЧДД > 30 $SpO_2 \leq 93\%$ $PaO_2/FiO_2 \leq 300$ мм рт. ст. Прогрессирование изменений в легких по данным рентгенографии, КТ (увеличение в объеме изменений в легких более чем на 50% через 24–48 ч) Снижение уровня сознания, ажитация Нестабильная гемодинамика (систолическое АД < 90 мм рт. ст. или диастолическое АД < 60 мм рт. ст., диурез < 20 мл/ч) Лактат артериальной крови > 2 ммоль/л qSOFA > 2 балла
Крайняя степень тяжести	ОДН с необходимостью респираторной поддержки (ИВЛ) Септический шок Полиорганная недостаточность

Протокол исследования включал сбор и анализ демографических и антропометрических данных, а также жалоб, результатов физикального, лабораторного и инструментального обследования, трансплантологического анамнеза, данных о назначаемой терапии и клинических исходах коронавирусной инфекции. Все реципиенты получали иммуносупрессивную терапию с учетом индивидуальных особенностей (индивидуальная переносимость, тяжесть инфекции, риск развития отторжения и пр.), а также симптоматическую и иную патогенетически обоснованную терапию, определенную актуальными клиническими

рекомендациями и протоколами лечения с учетом клинического статуса.

Статистическая обработка результатов исследования производилась с использованием пакета программного обеспечения SPSS 18.0 (SPSS Inc., США). Для проверки нормальности распределения использовали критерий Шапиро–Уилка. Достоверность различий количественных показателей, отвечающих критериям нормального распределения, определялась по t-критерию Стьюдента, в остальных

случаях – с использованием критерия Манна–Уитни. Сравнение групп по непараметрическим признакам проводилось с использованием критерия «хи-квадрат» Пирсона (при количестве наблюдений в группе ≥ 10) и точного критерия Фишера (при количестве наблюдений в группе < 10). Во всех методах статистического анализа достоверными считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В период с 01.04.2020 по 17.07.2020 в 20 регионах РФ были выявлены и находились под наблюдением 251 реципиент с диагнозом «COVID-19», большая часть в Москве (66,9%), Московской области (5,6%), в Ленинградской (4%) и Нижегородской (4,0%) областях (табл. 2).

Средний возраст больных составил $48,3 \pm 1,5$ (от 13 до 77) года, женщин было 108 (43%), мужчин – 143 (57%). Среди пациентов было 220 реципиентов почки, 7 реципиентов печени, 1 реципиент печени и почки, 23 реципиента сердца (рис. 1).

Средний период от трансплантации органа до появления первых клинических признаков COVID-19 составил $363,6 \pm 265,4$ дня (от 2 дней до 11,5 года); у 12 больных COVID-19 был выявлен в течение первых 14 суток после трансплантации (6 – после трансплантации сердца, 6 – после трансплантации почки).

Самыми частыми симптомами коронавирусной инфекции были общее недомогание и утомляемость (84,4%), боли в мышцах (70,1%) и кашель (68,9%), в то время как аносмия и сыпь встречались реже (13,5 и 4,4% соответственно), у 12,4% больных инфекция протекала бессимптомно (табл. 3).

В большинстве случаев основным клиническим проявлением COVID-19 была пневмония (78,1%); признаки внелегочной патологии – сердечной или почечной недостаточности разной степени выражен-

Таблица 2

Распределение реципиентов органов с COVID-19 по регионам

Distribution of recipients of organs with COVID-19 by region

Город, область	Количество, п
Москва	168
Московская область	14
Ленинградская область	10
Нижегородская область	10
Новосибирская область	9
Омская область	5
Чувашская Республика	5
Республика Татарстан	4
Санкт-Петербург	4
ХМАО	4
Волгоградская область	3
Красноярский край	3
Тульская область	3
Архангельская область	2
Ростовская область	2
Воронежская область	1
Саратовская область	1
Смоленская область	1
Тюменская область	1
Хабаровский край	1

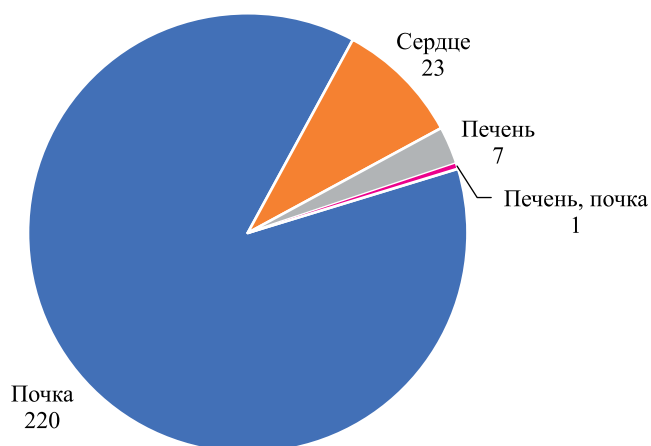


Рис. 1. Распределение больных в зависимости от трансплантированного органа

Fig. 1. Distribution of patients by transplanted organ

Таблица 3

Симптомы COVID-19 у реципиентов органов

COVID-19 symptoms in organ recipients

Симптом	Частота, %
Утомляемость	84,4
Боли в мышцах	70,1
Кашель	68,9
Одышка	55,7
Дискомфорт в грудной клетке	45,0
Катаральные явления	30,0
Диарея	25,5
Боль в груди	24,3
Аносмия	13,5
Сыпь	4,4
Нет симптомов	12,4

ности – отмечались у 38,3%, в 1,2% развился пароксизм фибрилляции предсердий. Средний период от появления первых симптомов до обращения к врачу составил $5,2 \pm 3,1$ дня (от 1 до 12). При первичном осмотре повышение температуры выше $38,5^\circ\text{C}$ отмечалось у 26%, $37\text{--}38,5^\circ\text{C}$ – у 69,0%, у 10,8% повышения температуры не отмечалось. В 19,3% случаев при неинвазивном определении выявлено $\text{SpO}_2 < 90\%$, в 41,2% – 90–95%, в 39,5% – выше 95%.

При компьютерной томографии органов грудной клетки, выполнявшейся у 208 (82,9%) реципиентов, изменения отсутствовали (КТ-0) у 12 (5,8%), зоны уплотнения по типу «матового стекла», занимавшие менее 25% паренхимы легких (КТ-1), выявлены у 44 (21,2%), от 25 до 50% паренхимы (КТ-2) – у 52 (25,0%), от 50 до 75% (КТ-3) – у 88 (42,3%), более 75% (КТ-4) – у 12 (5,8%).

Госпитализированы в стационар 233 пациента (92,8%), остальные 18 с легким или бессимптомным течением коронавирусной инфекции наблюдались амбулаторно. У 39 больных, госпитализированных с клиническими признаками COVID-19, первичный тест ПЦР на ДНК вируса был отрицательным, но при повторном анализе были получены положительные результаты теста.

Критериям легкой степени тяжести течения COVID-19 соответствовали 41 случай (16,3%), средней – 82 (32,8%), тяжелой – 60 (24,1%), крайней степени тяжести – 67 (26,8%) (рис. 2).

Необходимость в респираторной поддержке (ИВЛ) была у 32 (12,8%) больных, среднее время ИВЛ составило $9,3 \pm 5,5$ (3–17) суток. Неинвазивная вентиляция легких проводилась у 96 (38,3%) больных, у остальных 123 больных необходимости в вентиляции легких не было. В связи с развитием выраженной дыхательной и сердечной недостаточности у 4 больных с крайне тяжелым течением COVID-19 выполнена имплантация периферической системы экстракорпоральной мембранной оксигенации (ЭКМО), двое из них погибли на 6-е и 8-е сутки после имплантации ЭКМО, у двоих была достигнута ремиссия.

Средний период госпитализации составил $16,1 \pm 1,9$ дня (от 7 до 49). По данным на 17.07.2020, на фоне инфекции COVID-19 погибли 34 (13,5%) пациента, у 186 (74,1%) диагностирована ремиссия инфекционного заболевания, 31 (12,4%) продолжает лечение, у 1 реципиента почки выполнена ретрансплантация.

Среди реципиентов печени ($n = 7$) на фоне COVID-19 ни у кого не было выявлено ни отторжения, ни признаков дисфункции трансплантата; пятеро пациентов выписаны из стационара с ремиссией, двое пациентов со среднетяжелым течением COVID-19 продолжают лечение (длительность госпитализации 63 и 18 суток). У 11 из 23 (47,8%) реципиентов сердца отмечались клинические признаки

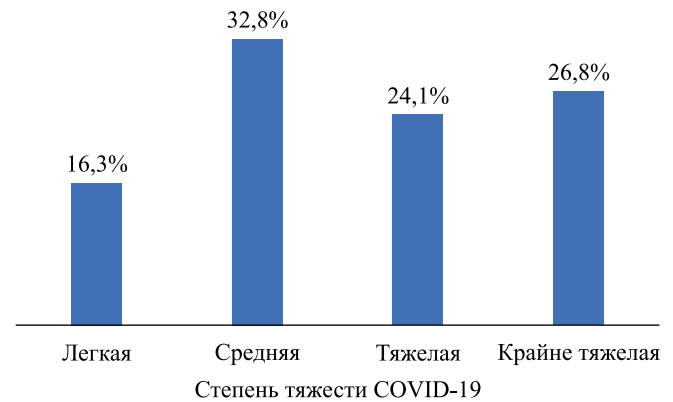


Рис. 2. Распределение реципиентов по степени тяжести COVID-19

Fig. 2. The distribution of recipients according to COVID-19 severity

сердечной недостаточности, при этом, по данным эндомиокардиальной биопсии, острое отторжение сердечного трансплантата выявлено лишь у 7 больных – в пяти случаях были гистологические признаки острого клеточного отторжения, в двух – острого антителоопосредованного отторжения. Один реципиент сердца без признаков отторжения сердечного трансплантата погиб на фоне острой сердечной и дыхательной недостаточности, во всех остальных случаях достигнута ремиссия. Из 220 реципиентов почки у 78 (35,5%) отмечалось снижение скорости клубочковой фильтрации разной степени выраженности. В 17 случаях выявлены признаки острого клеточного или антителоопосредованного отторжения, в 2 случаях – признаки острого канальцевого некроза без признаков отторжения. Необходимость в заместительной почечной терапии была у 37 (16,8%) реципиентов почки. На фоне ремиссии коронавирусной инфекции у большинства пациентов отмечалось восстановление функции почек, у 3 пациентов – стойкая утрата функции трансплантата, в 1 случае выполнена ретрансплантация почки.

В табл. 4 представлены средние величины лабораторных показателей, определенных до пандемии (осень–зима 2019 года), на пике манифестации вирусной инфекции и через месяц после наступления ремиссии.

Лимфоцитопения на фоне коронавирусной инфекции отмечалась у 53,9% больных, тромбоцитопения – у 27,1%. Сравнительный анализ показал, что на фоне коронавирусной инфекции у реципиентов отмечается достоверное снижение средних уровней лейкоцитов с последующим их восстановлением (с исходных $10,7 \pm 3,3 \times 10^9/\text{л}$ снижение до $6,1 \pm 0,7 \times 10^9/\text{л}$ на фоне инфекции с последующим восстановлением до $9,2 \pm 2,8 \times 10^9/\text{л}$ после наступления ремиссии). Средние уровни общего билирубина, мочевины, креатинина, калия и D-димера повышались на фоне ост-

Таблица 4

Динамика лабораторных показателей у реципиентов почки, печени, сердца

Dynamics of laboratory parameters in kidney, liver, and heart recipients

Показатель	Исходно	Пик манифестации COVID-19	Ремиссия
Эритроциты ($\times 10^{12}/л$)	$3,5 \pm 0,4$	$3,5 \pm 0,2$	$3,6 \pm 0,3$
Гемоглобин (г/л)	$97,9 \pm 8,5$	$96,2 \pm 7,0$	$108,9 \pm 9,8$
Лейкоциты ($\times 10^9/л$)	$10,7 \pm 3,3$	$6,1 \pm 0,7^1$	$9,2 \pm 2,8$
Нейтрофилы ($\times 10^9/л$)	$37,6 \pm 22,3$	$49,9 \pm 11,6$	$34,9 \pm 21,8$
Лимфоциты ($\times 10^9/л$)	$4,6 \pm 3,3$	$5,1 \pm 1,7$	$5,5 \pm 1,1$
Моноциты ($\times 10^9/л$)	$3,4 \pm 1,7$	$5,9 \pm 1,6$	$6,2 \pm 3,2$
Тромбоциты ($\times 10^9/л$)	$233,6 \pm 38,7$	$205,6 \pm 22,4$	$213,3 \pm 42,7$
Глюкоза натощак, ммоль/л	$5,1 \pm 1,1$	$5,6 \pm 0,5$	$5,9 \pm 1,5$
Альбумин, г/л	$35,4 \pm 2,9$	$35,6 \pm 17,1$	$37,5 \pm 1,8$
Билирубин общий, мкмоль/л	$7,6 \pm 1,2$	$11,6 \pm 1,1^1$	$8,0 \pm 0,9$
АсТ, Ед/л	$23,4 \pm 9,6$	$31,6 \pm 5,8^1$	$52,8 \pm 13,4^2$
АлТ, Ед/л	$15,3 \pm 5,6$	$31,9 \pm 10,7^1$	$65,2 \pm 15,0^2$
Мочевина, ммоль/л	$9,3 \pm 7,3$	$20,9 \pm 4,4^1$	$15,3 \pm 5,2$
Креатинин, мкмоль/л	$149,3 \pm 18,7$	$244,5 \pm 32,3^1$	$150,1 \pm 14,5$
Калий, ммоль/л	$4,7 \pm 0,3$	$5,1 \pm 1,7^1$	$3,9 \pm 0,2$
Протромбиновое время, с	$14,5 \pm 13,4$	$17,1 \pm 12,8$	$18,1 \pm 15,5$
D-димер, нг/мл	$203,2 \pm 104,2$	$1304,3 \pm 346,5^1$	$162,2 \pm 107,1$
АЧТВ, с	$30,6 \pm 4,8$	$32,7 \pm 3,4$	$35,9 \pm 6,9$

Примечание. Под исходным значением показателей подразумевались значения, определенные осенью–зимой 2019 года. ¹ – значение показателя на пике манифестации инфекции COVID-19 достоверно отличается от исходных показателей и показателей на фоне ремиссии; ² – значение показателя на фоне ремиссии достоверно отличается от исходных значений и значений на пике манифестации инфекции COVID-19.

Note. The initial value of the parameters meant the values determined in the fall-winter of 2019. ¹ – the value of parameter at the peak of the manifestation of COVID-19 infection significantly differs from the baseline parameters and values during remission; ² – the value of values during remission significantly differs from the baseline values and values at the peak of the manifestation of COVID-19 infection.

рой инфекции и восстанавливались через 2–4 недели после ремиссии. В то же время повышенные средние уровни АсТ и АлТ после ремиссии не снижались.

Несмотря на то что до настоящего времени эффективная этиотропная терапия COVID-19 отсутствует, эмпирический протокол лечения включал минимизацию иммуносупрессивной терапии и назначение лекарственных средств с теоретически оправданным патогенетическим действием. Препараты микофеноловой кислоты были отменены у всех пациентов после выявления клинических признаков вирусной инфекции. В качестве иммуносупрессивной терапии все реципиенты сердца на фоне манифестации вирусной инфекции получали препараты такролимуса в монотерапии либо в комбинации с метилпреднизолоном. Среди 228 реципиентов печени и почки 2 (0,9%) реципиента почки получали метилпреднизолон в монотерапии, 8 (3,5%) – метилпреднизолон в комбинации с эверолимусом, 10 (4,4%) – эверолимус в комбинации с циклоспорином или такролимусом, 17 (7,5%) – циклоспорин в монотерапии или в комбинации с метилпреднизолоном, 191 (83,8%) – такролимус в монотерапии либо в комбинации с метилпреднизолоном. Антикоагулянтную терапию

(низкомолекулярные гепарины) получали 74 госпитализированных пациента с уровнями D-димера выше 300 нг/мл. Дополнительно к иммуносупрессивной терапии препараты гидроксихлорохина были назначены 81 пациенту, препараты антагонистов рецепторов к ИЛ-6 тоцилизумаб – 26, арилумаб – 8, препараты ингибитора янус-киназ (ЯК) тофациитиниб – 12, барицитиниб – 9, препарат ингибитора ИЛ-1бета канакинумаб – 2, ингибитор ИЛ-17 нетакимаб – 2, ингибитор C-5 компонента комплемента человека экулизумаб – 2 пациентам; 45 пациентам вводили внутривенный иммуноглобулин, 64 пациентам – свежзамороженную плазму.

Анализ нежелательных исходов показал, что среди 34 погибших реципиентов печени не было, 33 перенесли трансплантацию почки (15% от всех реципиентов почки) и 1 – трансплантацию сердца (4,3% от всех реципиентов сердца). Выявлено, что основным предиктором летального исхода была тяжесть COVID-19. Так, согласно построенной прогностической модели, у больных с легким течением коронавирусной инфекции вероятность гибели составила 1,9% (95% ДИ: 0,1–4,3%), средней тяжести – 9,7% (95% ДИ: 3,7–15,8%), тяжелым – 11,8 (95% ДИ:

4,2–19,3%), крайней степени тяжести – 50% (95% ДИ: 32,4–67,6%).

Факторами, достоверно связанными с тяжестью течения COVID-19 и риском гибели реципиентов, оказались сопутствующие заболевания: ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертензия, цереброваскулярная болезнь и бронхоспазм, из симптомов – наличие одышки, сыпи и катаральных явлений, а также значение показателя сатурации кислорода при госпитализации $SpO_2 < 92\%$, лейкоцитоз более $10 \times 10^9/\text{л}$, повышение уровней креатинина более 130 мкмоль/л и значимое снижение скорости клубочковой фильтрации, требующее проведения гемодиализа. При этом для других клинических и лабораторных показателей, включающих возраст старше 60 лет, пол, степень повышения уровней D-димера, прием препаратов гидроксихлорохина и пр., достоверной связи с риском нежелательных исходов на фоне COVID-19 выявлено не было.

В период с 29 января по 1 июля 2020 года, совпавший с периодом распространения в России коронавирусной инфекции, трансплантация органов была выполнена у 70 из 251 включенных в исследование пациентов. Среди них 56 реципиентов почки, 12 реципиентов сердца, 1 реципиент печени и 1 реципиент печени и почки. У 12 больных (4,8%) инфекция была выявлена в течение первых 7 дней после трансплантации сердца ($n = 6$) или почки ($n = 6$). Среди реципиентов почки, погибших на фоне коронавирусной инфекции, пятеро (14,7%) погибли в течение 30 дней после трансплантации почки. У одного из пациентов с заболеванием COVID-19, диагностированным в течение недели после трансплантации почки, развилась дисфункция трансплантата, и на 8-е сутки после первой операции была выполнена ретрансплантация. Сравнительный анализ не выявил достоверных различий ($p = 0,53$) в количестве погибших пациентов между теми, кого оперировали в период пандемии COVID-19 ($n = 11$, 15,7%) и в другие годы с 1995-го по 2019-й ($n = 23$, 12,7%).

ОБСУЖДЕНИЕ

Первые результаты многоцентрового национального исследования «РОККОР-реципиент», представленные в статье, полученные при анализе данных обследования и наблюдений 251 реципиента печени, почки и сердца с заболеванием COVID-19 из 20 регионов России, свидетельствуют о важности профилактики и своевременного выявления коронавирусной инфекции у реципиентов трансплантированных органов. Свидетельством тому являются относительно высокая смертность (13,5%) на фоне COVID-19. Этот показатель существенно выше показателя смертности в общей популяции России (1,6%), США (3,4%) и Китая (5,4%) [3].

Отсутствие систематизированных данных не позволяло сформировать единого мнения о влиянии коронавирусной инфекции на лиц с трансплантированными органами. Так, в одном из первых сообщений китайских авторов о 2 случаях COVID-19 у реципиентов сердечного трансплантата было высказано предположение, что благодаря иммуносупрессивной терапии у реципиентов заболевание может протекать легче и не прогрессировать до стадии гипервоспалительного ответа [10]. Другие китайские авторы на основании анализа результатов небольшого когортного исследования [11] сделали вывод об отсутствии значимых особенностей течения коронавирусной инфекции у реципиентов сердца. Существует эмпирическая гипотеза, что ингибиторы кальциневрина, особенно такролимус, могут специфически подавлять коронавирусную инфекцию [12]. Однако, в нашем исследовании не было выявлено связи между различными иммуносупрессивными средствами и риском тяжелого течения или осложнений коронавирусной инфекции. Среди реципиентов с тяжелым течением коронавирусной инфекции средняя концентрация такролимуса в крови была ниже, доля больных, не получавших ингибиторов кальциневрина, – выше, но этот факт может объясняться тем, что при тяжелом течении инфекции иммуносупрессивная терапия была редуцирована лечащими врачами.

В исследовании были выявлены клинические и лабораторные предикторы тяжелого течения COVID-19 и гибели реципиентов. Примечательно, что связь с частотой нежелательных исходов была статистически достоверной для сопутствующих заболеваний (ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертензия, цереброваскулярная болезнь, бронхоспазм, сахарный диабет, почечная недостаточность), но не для возраста. В опубликованных работах возраст, наряду с сопутствующими сердечно-сосудистыми, легочными заболеваниями, ожирением и сахарным диабетом, представляется как фактор риска тяжелых осложнений и смерти больных COVID-19 [13, 14].

В этой связи заслуживают внимания результаты крупного российского исследования, выполненного на базе Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, куда были включены 1007 больных COVID-19. Авторы показали, что острый респираторный дистресс-синдром, вызванный SARS-CoV-2, чаще развивается у лиц старше 40 лет при наличии сердечно-сосудистых заболеваний, сахарного диабета 2-го типа и/или ожирения [15].

Согласно полученным результатам, самым частым проявлением коронавирусной инфекции у реципиентов была пневмония, однако при этом наблюдалась высокая частота (38,3%) внелегочных проявлений. Тот факт, что явления недостаточности кровообращения и почечной недостаточности у большинства реципиентов не были связаны с отторжением транс-

плантированного органа на фоне редукции иммуносупрессии и проходили на фоне наступления ремиссии COVID-19, может свидетельствовать о прямом вирусном поражении органов-мишеней.

Действительно, мембранные рецепторы ангиотензин-превращающего фермента 2-го типа (АПФ2), помимо легких, выявлены на поверхности клеток эндотелия, гладкомышечных клеток, кардиомиоцитов и пр. [16, 17]. Недавно российские авторы опубликовали описание клинического случая коронавирусного поражения миокарда у пожилой пациентки с артериальной гипертонией [18].

Дисфункция эндотелия, как следствие прямого и опосредованного действия коронавирусной инфекции, активация тромбоцитов и системный воспалительный ответ предполагают высокий риск тромботических осложнений [19]. Несмотря на то что на фоне COVID-19 у обследованных пациентов отмечалось почти шестикратное повышение средних уровней D-димера, мы не выявили связи между уровнями этого маркера и риском осложнений. Отчасти это можно объяснить высокой частотой эмпирического назначения препаратов низкомолекулярных гепаринов у пациентов с высоким риском развития тромботических осложнений [9].

Одним из наиболее важных вопросов, обсуждаемых в различных странах, является вопрос о целесообразности выполнения трансплантации органов в условиях пандемии COVID-19. Пандемия явилась серьезным испытанием для всех национальных систем здравоохранения. На фоне пандемии коронавирусной инфекции в мире отмечается снижение количества больных, госпитализируемых с заболеваниями, требующими неотложной помощи и хирургических вмешательств [20, 21], в том числе и трансплантаций органов [22].

Риск инфицирования реципиентов органов, особенно в раннем послеоперационном периоде, когда требуется максимальная иммуносупрессия, достаточно высок в связи с необходимостью назначения высоких доз иммуносупрессивных препаратов и риском инфицирования из нераспознанных источников – донора, медицинского персонала, предметов и пищевых продуктов. В нашем исследовании у 6 реципиентов сердца и 6 реципиентов почки вирус SARS-CoV-2 был выявлен в течение недели после трансплантации, причем источник инфицирования остался неизвестен. Отчасти это может быть связано с ограниченными возможностями самого метода лабораторной диагностики и вероятностью получения ложнонегативных результатов имеющихся в арсенале тестов [23]. Роль донора как источника инфицирования практически не рассматривается – доказательств возможности заражения вирусом SARS-CoV-2 посредством трансплантации сердца или почки в настоящее время нет, хотя количество данных ограничено.

По крайней мере, исследование результатов биопсии четырех пациентов не подтвердило такую возможность для вируса SARS-CoV-1 [24]. Важно отметить, что выполненный нами сравнительный анализ исходов коронавирусной инфекции у реципиентов, оперированных на фоне разгара эпидемии в России и в предыдущие годы, не выявил достоверных различий.

Таким образом, результаты исследования «РОККОР-трансплант» свидетельствуют о том, что наличие трансплантированного органа повышает риск неблагоприятных исходов на фоне коронавирусной инфекции COVID-19. Факторами риска тяжелого течения и смерти у реципиентов органов, инфицированных вирусом SARS-CoV-2, являются сопутствующие сердечно-сосудистые, легочные заболевания, сахарный диабет и почечная недостаточность, наличие в качестве симптомов манифестации заболевания одышки, сыпи и катаральных явлений, а также исходно низкая сатурация кислорода ($SpO_2 < 92\%$), лейкоцитоз более $10 \times 10^9/\text{л}$, повышение уровней креатинина более 130 мкмоль/л и значимое снижение скорости клубочковой фильтрации, требующее проведения гемодиализа.

Анализ полученных данных позволил сделать важный вывод о том, что выполнение трансплантации органов на фоне пандемии COVID-19 не повышает риск развития нежелательных событий у реципиентов, но позволяет спасти жизни больных с терминальными заболеваниями, включенных в лист ожидания.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. WHO Coronavirus Disease (COVID-19) pandemic statistics [updated 2020 July 17]. Available from: <https://covid19.who.int/region/euro/country/ru>.
2. Li Q, Guan X, Wu P et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. *N Engl J Med*. 2020; 382: 1199–1207.
3. The Johns Hopkins Coronavirus Resource Center (CRC) [Internet]. COVID-19 mortality in the most affected countries [updated 2020 July 29]. Available from: <https://coronavirus.jhu.edu/data/mortality>.
4. Gori A, Dondossola D, Antonelli B, Mangioni D, Alagna L, Reggiani P et al. Coronavirus disease 2019 and transplantation: A view from the inside. *Am J Transplant*. 2020; 1939–1940. doi: 10.1111/ajt.15853.
5. Alberici F, Delbarba E, Manenti C et al. A single center observational study of the clinical characteristics and short-term outcome of 20 kidney transplant patients admitted for SARS-CoV-2 pneumonia. *Kidney International*. 2020; 97 (6): 1083–1088. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2020.04.002>.

6. Russell CD, Millar JE, Baillie JK. Clinical evidence does not support corticosteroid treatment for 2019-nCoV lung injury. *Lancet*. 2020; 395: 473–475.
7. Siddiqi HK, Mehra MR. COVID-19 illness in native and immunosuppressed states: A clinical-therapeutic staging proposal. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2020; 39 (5): 405–407. <https://doi.org/10.1016/j.healun.2020.03.012>.
8. Junpeng Wang, Xin Li, Guanghui Cao, Xiaoqiang Wu, Zhiwei Wang, Tianzhong Yan. COVID-19 in a Kidney Transplant Patient. *European Urology*. 2020; 77 (6): 769–770.
9. Камкин ЕГ и др. Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID 2019), Версия 6 (28.04.2020). Министерство здравоохранения Российской Федерации; 2020. Kamkin EG et al. Temporary guidelines. Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID 2019), Version 6 (04/28/2020). Ministry of Health of the Russian Federation; 2020. [In Russ]. URL: http://www.rdkb.med.cap.ru/UserFiles/main/sitemap/doc/2290dc80-f2c5-4cfd-ac5c-e81d87523d97/28042020_mr_covid-19_v6.pdf.
10. Li F, Cai J, Dong N. First cases of COVID-19 in heart transplantation from China. *J Heart Lung Transplant*. 2020; 39: 418–419.
11. Ren ZL, Hu R, Want ZW et al. Epidemiological and clinical characteristics of heart transplant recipients during the 2019 coronavirus outbreak in Wuhan, China: a descriptive survey report. *J Heart Lung Transplant*. 2020; 39: 412–417.
12. Carbajo-Lozoya J, Müller MA, Kallies S et al. Replication of human coronaviruses SARS-CoV, HCoV-NL63 and HCoV-229E is inhibited by the drug FK506. *Virus Res*. 2020; 165 (1): 112–117. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2012.02.002>.
13. Джисоева ОН, Драпкина ОМ. Особенности ультразвукового исследования сердца у пациентов с новой коронавирусной инфекцией. *Артериальная гипертензия*. 2020; 26 (3): 270–276. Dzhiioeva ON, Drapkina OM. Osobennosti ul'trazvukovogo issledovaniya serdca u pacientov s novoi koronavirusnoi infekciei. *Arterial'naya gipertenziya*. 2020; 26 (3): 270–276. doi: 10.18705/1607-419X-2020-26-3-270-276.
14. Clerkin KJ, Fried JA, Raikhelkar J, Sayer G, Griffin JM, Masoumi A et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) and cardiovascular disease. *Circulation*. 2020; 141 (20): 1648–1655. doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.046941.
15. Глыбочко ПВ, Фомин ВВ, Авдеев СН и др. Клиническая характеристика 1007 больных тяжелой SARS-CoV-2 пневмонией, нуждавшихся в респираторной поддержке. *Клиническая фармакология и терапия*. 2020; 29 (2): 21–29. Glybochko P, Fomin V, Avdeev S et al. Clinical characteristics of 1007 intensive care unit patients with SARS-CoV-2 pneumonia. *Clin Pharmacol Ther*. 2020; 29 (2): 21–29. [In Russ]. doi 10.32756/0869-5490-2020-2-21-29.
16. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 2020; <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>.
17. Барбараш ОЛ, Каретникова ВН, Кашталап ВВ, Зверева ТН, Кочергина АМ. Новая коронавирусная болезнь (COVID-19) и сердечно-сосудистые заболевания. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2020; 9 (2): 17–28. Barbarash OL, Karetnikova VN, Kashtalap VV, Zvereva TN, Kochergina AM. New coronavirus disease (COVID-19) and cardiovascular disease. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2020; 9 (2): 17–28. [In Russ]. doi: 10.17802/2306-1278-2020-9-2-17-28.
18. Потешкина НГ, Лысенко МА, Ковалевская ЕА, Фомина ДС, Самсонова ИВ, Паршин ВВ и др. Кардиальное повреждение у пациентов с коронавирусной инфекцией COVID-19. *Артериальная гипертензия*. 2020; 26 (3): 277–287. Poteschkina NG, Lysenko MA, Kovalevskaya EA, Fomina DS, Samsonova IV, Parshin VV et al. Cardiac damage in patients with COVID-19 coronavirus infection. *Arterial Hypertension*. 2020; 26 (3): 277–287. [In Russ]. doi: 10.18705/1607-419X-2020-26-3-277-287.
19. Баринов ВЕ, Бояринцев ВВ. Венозные тромботические осложнения как спутник новой коронавирусной инфекции COVID-19. *Кремлевская медицина. Клинический вестник*. 2020; 2: 22–27. Barinov VE, Boyarin-tsev VV. Venous thrombotic complications as a satellite of the new coronavirus infection COVID-19. *Kremlevskaya medicina. Klinicheskii vestnik*. 2020; 2: 22–27. [In Russ]. doi: 10.26269/ayxs-2p77.
20. De Filippo O, D'Ascenzo F, Angelini F et al. Reduced rate of hospital admissions for ACS during COVID-19 outbreak in northern Italy. *N Engl J Med*. doi: 10.1056/NEJMc2009166.
21. Garcia S, Albaghdadi MS, Meraj PM et al. Reduction in ST-segment elevation cardiac catheterization laboratory activations in the United States during COVID-19 pandemic. *J Am Coll Cardiol*. 2020; 75 (22): 2871–2872. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2020.04.011>.
22. Chui KK, Rao ARN, Chan HLY, Hui AY. Impact of severe acute respiratory syndrome on liver transplantation service. *Transplantation Proceedings*. 2004; 36 (8): 2302–2303. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2004.08.018>.
23. Winichakoon P, Chaiwarith R, Liwsrisakun C et al. Negative Nasopharyngeal and Oropharyngeal Swabs Do Not Rule Out COVID-19. *Journal of Clinical Microbiology*. 2020; 58 (5): e00297-20. doi: 10.1128/JCM.00297-20.
24. Ding Y, He L, Zhang Q et al. Organ distribution of severe acute respiratory syndrome (SARS) associated coronavirus (SARS-CoV) in SARS patients: implications for pathogenesis and virus transmission pathways. *J Pathol*. 2004; 203: 622–630.

Статья поступила в редакцию 20.08.2020 г.
The article was submitted to the journal on 20.08.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-3-18-25

ЛЕЧЕНИЕ СТРИКТУР БИЛИОДИГЕСТИВНОГО АНАСТОМОЗА ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ЛЕВОГО ЛАТЕРАЛЬНОГО СЕКТОРА ПЕЧЕНИ

А.Р. Монахов^{1, 2}, Б.Л. МIRONKOV¹, М.А. Восканов¹, С.В. Мещеряков¹, Э.Т. Азоев¹,
К.О. Семаш¹, Т.А. Джанбеков¹, О.В. Силина¹, С.В. Готье^{1, 2}

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

² ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация

Введение. Билиарные осложнения после трансплантации левого латерального сектора (ЛЛС) печени, согласно многим исследованиям, негативно влияют на выживаемость трансплантатов и реципиентов. Таким образом, своевременная коррекция билиарных осложнений, и в частности стриктур, позволяет улучшить отдаленные результаты трансплантации. **Цель.** Проанализировать собственный опыт лечения билиарных стриктур при трансплантации ЛЛС печени. **Материалы и методы.** С февраля 2014-го по апрель 2020 года проведено 425 трансплантаций ЛЛС печени детям. У 19 (4,5%) пациентов диагностированы стриктуры желчных протоков в разные сроки после трансплантации (от 0,2 до 97 мес.). **Результаты.** Билиарные стриктуры чаще формировались через год после трансплантации ($17,8 \pm 23,9$ мес.). У 14 из 19 было успешно проведено наружно-внутреннее дренирование желчных протоков с этапной заменой дренажа на больший диаметр (с 8,5 до 14 Fr). Дренажи удалены у 8 пациентов после завершения цикла лечения. За период наблюдения ($13 \pm 8,7$ мес.) после удаления дренажа рестенозов не отмечалось. В 5 случаях антеградное прохождение стриктуры не удалось, в связи с чем в 4 (21,1%) случаях выполнена билиарная реконструкция и в 1 (5,3%) случае потребовалась ретрансплантация. **Выводы.** Антеградный мини-инвазивный подход позволяет успешно устранить билиарные стриктуры у большинства детей после трансплантации ЛЛС печени. Предложенный алгоритм лечения является эффективным и безопасным.

Ключевые слова: трансплантация печени у детей, билиарная стриктура, факторы риска, радиология, перкутанное наружно-внутреннее дренирование.

TREATMENT OF BILIODIGESTIVE ANASTOMOTIC STRICTURES AFTER TRANSPLANTATION OF LEFT LATERAL SEGMENT OF THE LIVER

A.R. Monakhov^{1, 2}, B.L. Mironkov¹, M.A. Voskanov¹, S.V. Meshcheryakov¹, E.T. Azoev¹,
K.O. Semash¹, T.A. Dzhanbekov¹, O.V. Silina¹, S.V. Gautier^{1, 2}

¹ Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation

² Sechenov University, Moscow, Russian Federation

Many studies have shown that biliary complications after transplantation of the left lateral segment (LLS) of the liver reduce graft and recipient survival. Thus, timely correction of biliary complications, and strictures in particular, improves long-term outcomes in transplantation. **Objective:** to analyze our own experience in correcting biliary strictures in LLS graft transplantation. **Materials and methods.** From February 2014 to April 2020, 425 LLS grafts were transplanted in children. 19 (4.5%) patients were diagnosed with biliary strictures at different times after transplantation (from 0.2 to 97 months). **Results.** Biliary strictures were more often formed

Для корреспонденции: Монахов Артем Рашидович. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1.
Тел. (906) 078-16-21. E-mail: a.r.monakhov@gmail.com

Corresponding author: Artem Monakhov. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation.
Phone: (906) 078-16-21. E-mail: a.r.monakhov@gmail.com

a year after transplantation (17.8 ± 23.9 months). In 14 out of the 19 patients, internal-external biliary drainage was successfully performed with phased replacement of the catheter with one that was larger in diameter (from 8.5 Fr to 14 Fr). The catheters were removed in 8 patients after completion of the treatment cycle. Restenosis was not observed during follow-up (13 ± 8.7 months) after the internal-external biliary drainage catheter had been removed. In 5 cases, antegrade passage of a guide wire through the stricture was unsuccessful. As a result, biliary reconstruction was performed in 4 (21.1%) patients and retransplantation was required in 1 (5.3%) patient. **Conclusion.** An antegrade minimally invasive approach can successfully eliminate biliary strictures in most children after liver LLS graft transplantation. The proposed technique is effective and safe.

Keywords: transplantation of the left lateral segment of the liver, long-term transplant outcomes, complications, biliary strictures, correction.

ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация фрагментов печени детям берет начало с конца 80-х годов, когда R. Pichlmayer впервые в мире применил методику сплит-трансплантации печени, разделив ее по серповидной связке на левый латеральный сектор (ЛЛС) и расширенную правую долю, включавшую I, IV–VIII сегменты печени [1]. Вместе с тем в 1989 году Strong осуществил первую успешную пересадку ЛЛС от прижизненного донора, таким образом став пионером родственной трансплантации наряду с Raia [2,3]. 90-е годы ознаменовались прорывом в области хирургической гепатологии и трансплантологии. С середины 90-х годов трансплантация фрагментов печени успешно осуществляется во многих странах, в том числе и в России, демонстрируя хорошие результаты и позволяя спасти ранее инкурабельных больных. Тем не менее серьезной проблемой остаются билиарные осложнения, которые давно зарекомендовали себя как «ахиллесова пята» трансплантации печени [4]. Причем трансплантация фрагментов печени характеризуется более высоким уровнем этих осложнений. Частота билиарных осложнений при трансплантации фрагментов печени детям, по разным данным, варьирует от 4 до 47,4% и в большинстве центров составляет около 15% [5]. Билиарные осложнения обычно классифицируют на желчные свищи, или затеки, анастомотические стриктуры (АС) и неанастомотические стриктуры билиарного анастомоза (НАС) [6].

Основными факторами риска развития билиарных осложнений при трансплантации фрагментов печени являются нарушение артериального кровотока, наличие концевое билиобилиарного анастомоза, а также факторы со стороны донора, такие как коагуляционное повреждение протоков на этапе изъятия, наличие нескольких протоков и их малый диаметр [7].

На сегодняшний день существует ряд мини-инвазивных методик, направленных на коррекцию билиарных стриктур. Эндоскопическое ретроградное стентирование может быть применено у детей, однако в связи с тем, что в детской практике в основном используется билиодигестивный вариант реконструкции, широкое применение этого метода

не представляется возможным. Однако существует метод двухбаллонной энтероскопии, который используется в некоторых клиниках, но и у него есть ограничения по применению у детей с весом 15 и менее килограммов [6].

Перкутанные методы активно применяются у детей со стриктурами билиодигестивного анастомоза в двух основных вариантах: баллонная дилатация и наружное дренирование. При неэффективности указанных методов показана билиарная реконструкция.

НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова обладает наибольшим в России опытом в области трансплантации фрагментов печени детям. Таким образом, анализ собственного опыта и детальное изложение применяемой методики лечения билиарных стриктур при трансплантации ЛЛС печени может иметь научно-практический интерес.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Данное исследование является ретроспективным анализом проспективно заполняемой базы данных, а также медицинских записей в истории болезни, результатов лабораторных анализов и инструментальных исследований. С февраля 2014-го по апрель 2020 года в НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова проведено 425 трансплантаций ЛЛС печени детям: в 399 случаях от родственного донора, в 26 случаях от посмертного донора (сплит-трансплантация). У 19 (4,5%) пациентов диагностированы стриктуры желчных протоков в разные сроки после трансплантации (от 0,2 до 97 мес.). Эти пациенты включены в настоящее исследование. Исследование одобрено этическим комитетом Центра.

Иммуносупрессия

Иммуносупрессивная терапия включала в себя индукционную терапию базиликсимабом, внутривенную инфузию метилпреднизолона на момент реперфузии трансплантата в дозировке 10 мг/кг (с последующей минимизацией или отменой в течение раннего послеоперационного периода) и поддерживающей терапией на основе ингибиторов кальциневрина (такролимус), препараты микофеноловой

кислоты и сиролimus использовались опционально, сообразно клинико-лабораторной картине. В случаях трансплантации печени от не совместимого по группе крови родственного донора применялся протокол подготовки, описанный в предыдущих работах и включавший возможность применения плазмаферезов с замещением СЗП АВ (IV) и введением ритуксимаба.

Билиарная реконструкция

Билиарная реконструкция выполнялась после сосудистой реваскуляризации трансплантата на выключенной по Ру петле тощей кишки. Длина петли составляла 40–50 см. В случае предшествующей портоэнтеростомии ранее сформированную петлю сохраняли при следующих условиях: уверенность в жизнеспособности петли (отсутствие обширных десерозаций, множественных перфораций и нарушений кровообращения в петле после проведения энтеролиза), длина петли более 35 см, отсутствие многократно рецидивирующих холангитов в анамнезе. Анастомоз формировали отдельными узловыми швами нитью PDS 6.0 с шагом на протоке 1–1,5 мм. При наличии двух и более протоков на расстоянии менее 4 мм их объединяли на препаровочном столике или непосредственно перед началом билиарной реконструкции по медиальным стенкам с целью формирования общей орифиции. Если объединение протоков не представлялось возможным, формировали отдельные соустья. Выполнение анастомоза осуществлялось с применением бинокулярных луп с увеличением в 3,5 раза. С целью профилактики желчеистечения применялась оригинальная методи-

ка перитонизации стенки билиодигестивного анастомоза круглой связкой трансплантата [8]. С сентября 2017 года каркасное наружное дренирование катетером 22–16 Ga (в зависимости от диаметра протоков) по Фелькеру используется рутинно.

Диагностика стриктур

Динамическое наблюдение пациентов после трансплантации является стандартной практикой трансплантационного центра. В протокол стационарного и амбулаторного обследования детей после пересадки печени входит физикальное обследование и контроль лабораторных параметров, а также УЗИ брюшной полости. В случае если клинико-лабораторная картина холестаза (в том числе зуд, повышение уровня ГГТ, билирубина, гипохолурия стула и т. д.) или явления холангита сочетались с расширением желчных протоков более 5 мм, пациенту выполняли МР-холангиографию, на основании чего устанавливали диагноз «стриктура билиодигестивного анастомоза». При этом наличие в анамнезе нарушений артериального кровотока и характерная картина на МР-холангиографии и при УЗИ были основанием для диагноза НАС.

Однако если дилатация протоков не сопровождалась какими-либо клиническими и лабораторными изменениями, продолжали динамическое наблюдение и проведение консервативной терапии, в том числе холеретической.

Описание методики чрескожного чреспеченочного наружно-внутреннего дренирования

За основу применяемой нами методики чрескожного чреспеченочного наружно-внутреннего дренирования была принята техника, детально изложенная в работе Feier, с некоторыми незначительными допущениями [5]. В нашей практике для чрескожной пункции использовалась игла Chiba 18 Ga. Пункция выполнялась в условиях рентгеноперационной (аппарат Philips Allura Xper FD 20 OR Table, Нидерланды и Shimadzu Bransist alexa, Япония) под ультразвуковой навигацией (рис. 1). Точка пункции, как правило, располагалась в эпигастрии по средней линии. Оптимальным для дренирования считали проток 2 сегмента. После поступления желчи при удалении мандрена вводили небольшое количество водорастворимого контраста (Ультравист 370, Оптирей 350 в разведении со стерильным физраствором 1:4) и таким образом частично контурировали билиарное дерево трансплантата. После этого заводили проводник, иглу Chiba меняли на интродьюсер Terumo Radifocus Introducer II 4 Fr, 5 Fr, 6F и с использованием различных катетеров (Merit Medical



Рис. 1. Пункция желчных протоков трансплантата печени под ультразвуковой навигацией

Fig. 1. Ultrasound-guided puncture of the bile ducts of a liver transplant

Performa CB1 5F, США, Merit medical Performa KA2 4-5F, США, Terumo Radifocus Optitorque radial TIG II 3,5 5F, Япония) диагностических проводников: Asahi intecc UniQual Slip-Coat Guidewire 0,035", Biometrix Angio-Line guidewire 0,35", а также коронарных проводников: Asahi intecc Prowaterflex 0.014", Япония; Asahi intecc Fielder 0,014", Япония; Boston Scientific PT2 LS 0.014" США, выполняли попытку пройти стриктуру. В случае успешного прохождения стриктуры с характерными признаками попадания проводника и контрастного вещества в отводящую петлю кишки (формирование проводником «крупных петель», контрастирование циркулярных складок слизистой тонкой кишки) по проводнику устанавливали дренаж Доусона-Мюллера (Cook Medical, США) диаметром 8,5 Fr с дополнительно сформированными 2–3 отверстиями на прямой части дренажа. При невозможности проведения дренажа из-за выра-

женных стриктур выполняли баллонную дилатацию баллонными катетерами Medtronic Sprinter Legend RX d – 1,25 мм, l – 10–12 мм; d – 1,5 мм, l – 12–15 мм; d – 2,0 мм, l – 15–20 мм, США. Дистальную петлю устанавливали в кишке с помощью встроенного в дренаж фиксирующего механизма (рис. 2).

В течение 2–3 суток для профилактики реактивного холангита выполнялось наружное желчеотведение по дренажу, затем при отсутствии признаков холангита и улучшающейся лабораторной картине дренаж перекрывали, наблюдали ребенка еще в течение нескольких дней и выписывали. В последующем дренаж меняли с ориентировочным промежутком в 3 месяца на большие диаметры (10,2; 12; 14 Fr), по достижении максимального диаметра дренаж удаляли с контролем баллоном для ангиопластики диаметром 5–7 мм (контроль отсутствия «тали» на баллоне).

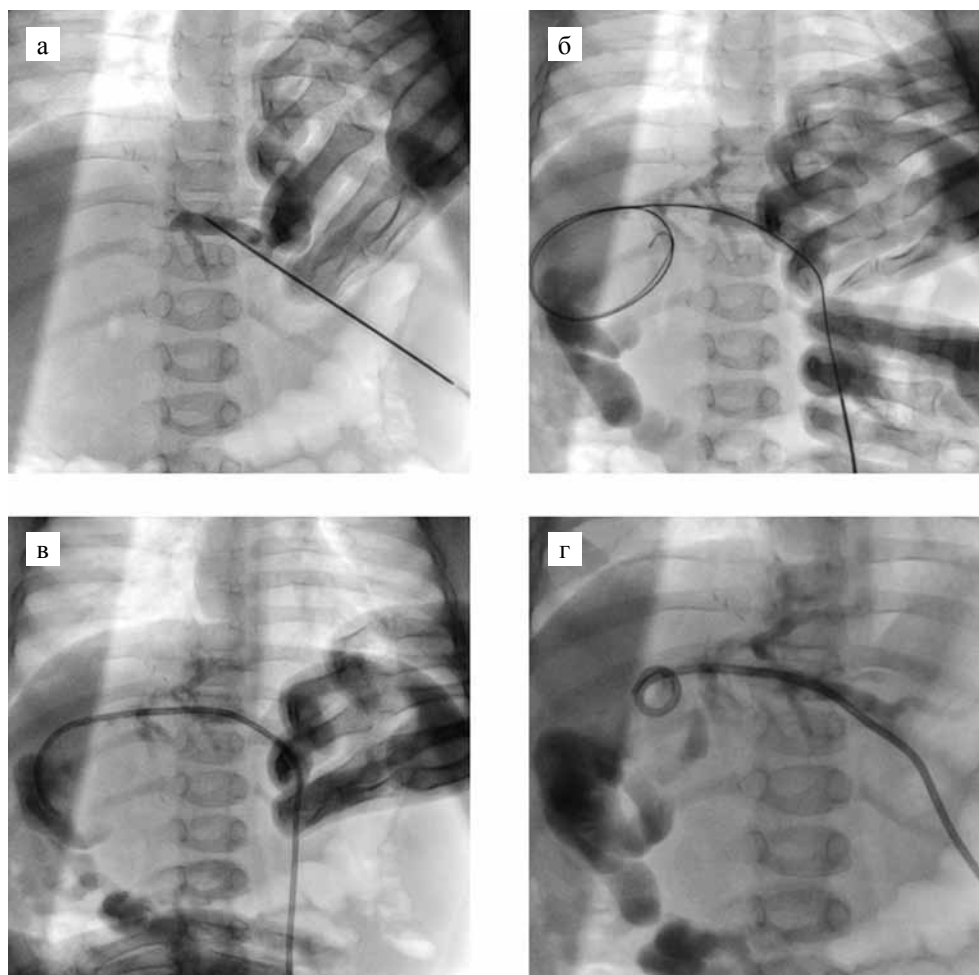


Рис. 2. Этапы постановки наружно-внутреннего дренажа: а – контраст введен через иглу Chiba в расширенный проток; б – проводник проведен через стриктуру в отводящую петлю кишки; в – дренаж Доусона-Мюллера по проводнику проведен через стриктуру; г – дистальная петля дренажа установлена в кишке за стриктурой

Fig. 2. The steps of an internal-external drainage set up: а – a contrast agent inserted to the dilated biliary duct; б – the guide conducted through the stricture into the Roux limb; в – the Dawson-Muller drainage passed into the Roux limb; г – the pig-tail of internal-external drainage placed behind the stricture and locked

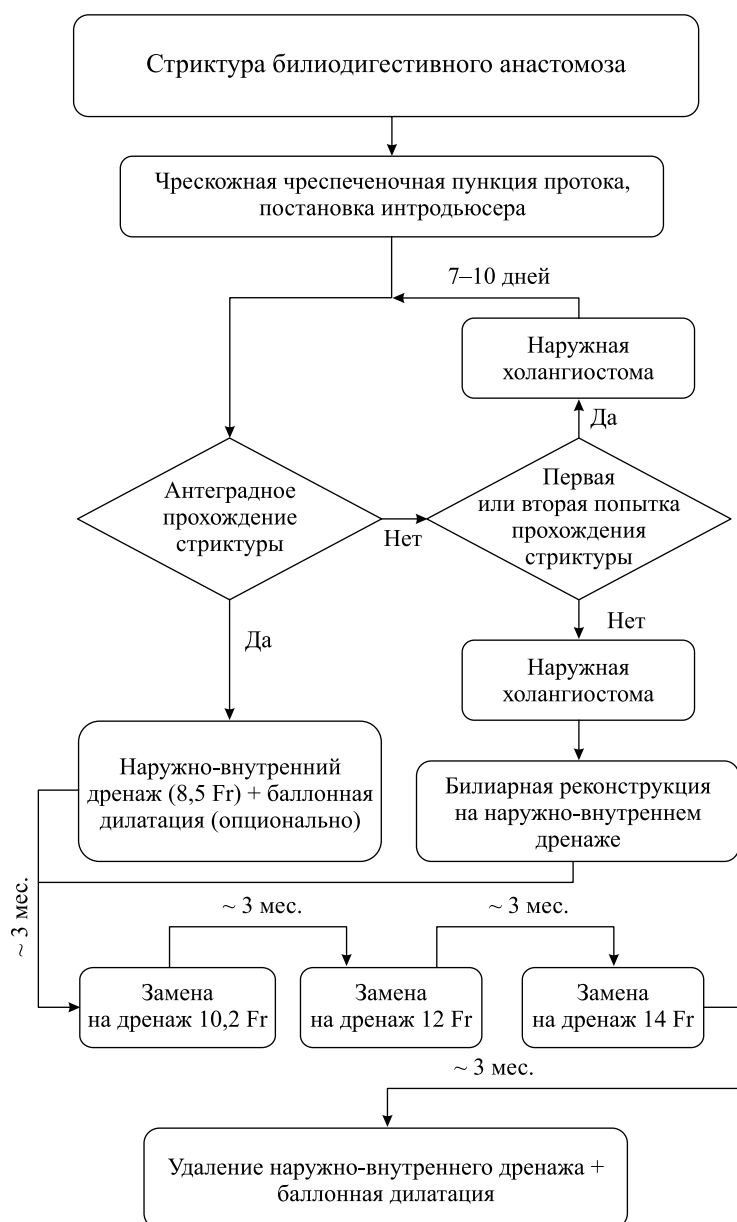


Рис. 3. Алгоритм лечения стриктуры билиодигестивного анастомоза после трансплантации ЛЛС печени

Fig. 3. The algorithm of biliary stricture management after LLS transplantation

Если стриктуру пройти не удавалось, оставляли наружную холангиостому для декомпрессии желчных протоков и через 7–10 дней выполняли повторную попытку прохождения стриктуры. Если же стриктура не была пройдена, то индивидуально решалась необходимость третьей попытки или же выполняли билиарную реконструкцию в плановом порядке. В виде блок-схемы этот алгоритм представлен на рис. 3.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Демографические и клинические параметры реципиентов отображены в табл. 1. Наиболее частым заболеванием, приведшим к необходимости трансплантации у исследуемых пациентов, явилась били-

арная атрезия 8 наблюдений (42,1%) и фиброхолангиоз или синдром Кароли – 6 случаев (31,6%). В большинстве случаев была проведена родственная трансплантация ЛЛС (84,2%). Билиарные стриктуры чаще развивались более чем через год после трансплантации ($17,8 \pm 23,9$ мес.) и в большинстве случаев были анастомотическими ($n = 17$; 89,5%).

В табл. 2 суммированы некоторые характеристики этапного лечения согласно представленному выше алгоритму. Так, успешное антеградное прохождение стриктуры было в 14 из 19 наблюдений. Причем чаще успешной была вторая попытка прохождения ($n = 7$; 36,8%), то есть уже после формирования наружной холангиостомы. На момент подачи рукописи у 8 из 14 пациентов (42,1%) наружно-внутренний дренаж

Таблица 1

Основные демографические и клинические характеристики реципиентов ЛЛС со стриктурой билиодигестивного анастомоза
Baseline demographic and clinical characteristics in LLS recipients with biliary stricture

Параметры	
Возраст*, мес., среднее значение $\pm$ СО	27,9 $\pm$ 30,1
Вес*, среднее значение $\pm$ СО	11,3 $\pm$ 4,3
Пол, n (%)	
мужской	11 (57,6)
женский	8 (42,1)
Диагноз, n (%)	
Атрезия	8 (42,1)
Байлер	1 (5,3)
Кароли	6 (31,6)
Гипоплазия	1 (5,3)
Тирозинемия	1 (5,3)
Галактоземия	1 (5,3)
Дефицит альфа1-АТ	1 (5,3)
PELD, балл, среднее значение $\pm$ СО	21 $\pm$ 9,4
Вид трансплантации, n (%)	
Родственный ЛЛС	16 (84,2)
Сплит ЛЛС	3 (15,8)
Билиарных анастомозов, n (%)	
Один	13 (68,4)
Два	5 (26,3)
Три	1 (5,3)
Тип билиарной стриктуры, n (%)	
Анастомотическая	17 (89,5)
Неанастомотическая	2 (10,5)
Сроки развития стриктуры после трансплантации, мес., среднее значение $\pm$ СО	17,8 $\pm$ 23,9

Примечание. * – на момент трансплантации; PELD – Pediatric End-stage Liver Disease.

Note. * – at the time of transplantation; PELD – Pediatric End-stage Liver Disease.

был удален, т. е. завершен цикл лечения. Из пяти случаев, когда антеградно стриктуру пройти не удалось, в четырех была выполнена билиарная реконструкция и в одном успешная ретрансплантация печени от посмертного донора в связи с формированием вторичного билиарного цирроза.

Результаты лечения у пациентов с антеградным наружно-внутренним стентированием представлены в табл. 3. Период между этапными заменами дренажа ранжировался от 101 до 116 дней. Средний период наблюдения у 8 пациентов с полностью завершенным лечением составил более года ($13 \pm 8,7$ мес.). За этот период лишь у одного из этих пациентов развился холангит, купировавшийся на фоне применения системной антибактериальной терапии, и ни в одном

Таблица 2

Особенности лечения пациентов со стриктурами билиодигестивного анастомоза после трансплантации печени
Features of treatment of recipients with biliary stricture after liver transplantation

Характеристики	
Прохождение стриктуры, n (%)	
На первом этапе	5 (26,3)
На втором этапе	7 (36,8)
На третьем этапе	2 (10,5)
Не удалось	5 (26,3)
Замен дренажа, n (%)	
Одна	2 (10,5)
Две	2 (10,5)
Три	2 (10,5)
Полный цикл (удаление)	8 (42,1)
Билиарная реконструкция	4 (21,1)
Ретрансплантация, n (%)	1 (5,3)

Таблица 3

Результаты лечения у пациентов с чрескожным чреспеченочным антеградным наружно-внутренним дренированием
The results of treatment in patients with percutaneous transhepatic antegrade external-internal drainage

Пациенты с интервенционным лечением (n = 14)	
Средний период между заменами, дней, среднее значение $\pm$ СО	
Первая замена (10,5 Fr)	101,8 $\pm$ 47,3
Вторая замена (12 Fr)	106 $\pm$ 41
Третья замена (14 Fr)	110,6 $\pm$ 28
Удаление дренажа	115,7 $\pm$ 34,2
Период наблюдения*, мес., среднее значение $\pm$ СО	13 $\pm$ 8,7
Исход манипуляций, n (%)	
благоприятный	7 (87,5)
рестеноз	–
эпизоды холангита	1 (12,5)

Примечание. * – после удаления наружно-внутреннего дренажа.

Note. * – after removing the external-internal drainage.

случае не отмечалось рестеноза билиодигестивного анастомоза.

ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно многочисленным исследованиям, билиарные осложнения оказывают влияние на выживание как трансплантатов, так и реципиентов [9–12].

Эндоскопические методы по ряду причин также не всегда являются оптимальными. Открытые реконструкции становятся зачастую обширным хирургическим вмешательством, особенно на отдаленных

сроках после трансплантации, ввиду интенсивного спаечного процесса. Наличие в арсенале трансплантолога эффективного малоинвазивного метода коррекции осложнений является необходимым. Этот тезис касается и других аспектов программы трансплантации печени, что делает наличие интервенционной рентгенрадиологии немаловажной частью трансплантационного центра.

Перкутанное наружно-внутреннее (антеградное) дренирование с постановкой стентирующего дренажа получило популярность в лечении различного рода стриктур гепато-панкреато-билиарной зоны. Основные принципы и подходы были транспонированы и на лечение билиарных стриктур после трансплантации фрагментов печени.

В представленной работе изложены основные принципы антеградного лечения билиарных стриктур у достаточно узкой категории пациентов – реципиентов ЛЛС печени. Состояние перманентной медикаментозной супрессии, детский возраст, вид трансплантируемого фрагмента и билиодигестивный вариант желчеотведения являются отличительными особенностями этих пациентов.

Применение исключительно баллонной дилатации без длительного формирования соустья на каркасе в виде наружно-внутреннего дренажа характеризуется более высокой частотой рестенозов [13–15]. В связи с этим представленная методика позволяет разрешить стриктуру с хорошим долгосрочным эффектом. Также следует отметить два случая успешного лечения такого грозного и тяжелого осложнения, как НАС, что позволило избежать необходимости ретрансплантации у этих больных. В нашем исследовании антеградное прохождение стриктуры оказалось безуспешным в 5 наблюдениях, из которых в четырех случаях (21,1%) потребовалось выполнение билиарной реконструкции и в одном случае (5,3%) потребовалось проведение ретрансплантации. Следует отметить, что наличие холангиостомы перед операцией не только позволяло стабилизировать больного, разрешив желтуху и/или холангит, но и являлось удобным ориентиром для навигации в условиях выраженного спаечного процесса. А также позволяло комфортно сформировать анастомоз на наружно-внутреннем дренаже.

Данная работа лимитирована относительно небольшим числом наблюдений, что связано с относительной невысокой частотой этого осложнения (4,5%). Несмотря на то что исследование является одноцентровым и нерандомизированным, успешный многолетний опыт клиники может быть полезен для других клиник, занимающихся трансплантацией фрагментов печени.

ВЫВОДЫ

Своевременная диагностика и коррекция билиарных стриктур после трансплантации фрагментов печени позволяет избежать утраты трансплантата. Использование малоинвазивных подходов с применением методов интервенционной радиологии позволяет эффективно устранить билиарные стриктуры у большинства детей после трансплантации левого латерального сектора печени. Предложенная методика является эффективной и безопасной.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Pichlmayr R, Ringe B, Gubernatis G, Hauss J, Bunzendahl H. Transplantation of a donor liver to 2 recipients (splitting transplantation) – a new method in the further development of segmental liver transplantation. *Langenbecks Archiv fur Chirurgie*. 1988; 373 (2): 127–130. PMID: 3287073.
2. Strong RW, Lynch SV, Ong TH, Matsunami H, Koido Y, Balderson GA. Successful liver transplantation from a living donor to her son. *N Engl J Med*. 1990; 322: 1505–1507. doi: 10.1056/NEJM199005243222106.
3. Raia S, Nery JR, Mies S. Liver transplantation from a live donors. *Lancet*. 1989; 8661: 497. doi: 10.1016/s0140-6736(89)92101-6.
4. Yoshizumi T, Harada N, Mori M. Biliary stricture: the achilles heel of pediatric living donor liver transplantation. *Transplantation*. 2019; 103 (9): 1758–1759. doi: 10.1097/TP.0000000000002573.
5. Feier FH, da Fonseca EA, Seda-Neto J, Chapchap P. Biliary complications after pediatric liver transplantation: Risk factors, diagnosis and management. *World J Hepatol*. 2015; 7 (18): 2162–2170. doi: 10.4254/wjh.v7.i18.2162.
6. Jagannath S, Kalloo AN. Biliary complications after liver transplantation. *Curr Treat Options Gastroenterol*. 2002; 5 (2): 101–112. doi: 10.1007/s11938-002-0057-3.
7. Feier FH, Chapchap P, Pugliese R et al. Diagnosis and management of biliary complications in pediatric living donor liver transplant recipients. *Liver Transpl*. 2014; 20 (8): 882–892. doi: 10.1002/lt.23896.
8. Готье СВ, Монахов АР, Цирульников ОМ, Джанбеков ТА, Мещеряков СВ, Семаш КО. Ретроспективный анализ применения модификации билиарной реконструкции при трансплантации левого латерального сектора печени. Третий российский национальный конгресс с международным участием «Трансплантация и донорство органов», 2–4 октября 2017 г. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2017; 19 (3): 6–230. Gautier SV, Monakhov AR, Tsiroulnikova OM, Dzhambekov TA, Meshcheryakov SV, Semash KO. Retrospektivnyj analiz primeneniya modifikacii biliarnoj rekonstrukcii pri transplantacii levogo lateral'nogo sektora pecheni. *Russian Journal of Transplantation*

- and Artificial Organs*. 2017; 19 (3): 6–230. [In Russ] <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2017-3-6-230>.
9. *Darius T, Rivera J, Fusaro F et al*. Risk factors and surgical management of anastomotic biliary complications after pediatric liver transplantation. *Liver Transpl*. 2014; 20 (8): 893–903. doi: 10.1002/lt.23910.
10. *Chok KS, Chan SC, Chan KL et al*. Bile duct anastomotic stricture after pediatric living donor liver transplantation. *J Pediatr Surg*. 2012; 47 (7): 1399–1403. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2011.12.014.
11. *Lüthold SC, Kaseje N, Jannot AS et al*. Risk factors for early and late biliary complications in pediatric liver transplantation. *Pediatr Transplant*. 2014; 18 (8): 822–830. doi: 10.1111/petr.12363.
12. *Feier FH, Seda-Neto J, da Fonseca EA et al*. Analysis of factors associated with biliary complications in children after liver transplantation. *Transplantation*. 2016; 100 (9): 1944–1954. doi: 10.1097/TP.0000000000001298.
13. *Охотников ОИ, Яковлева МВ*. Рентгенохирургическая антеградная транспеченочная коррекция стриктуры билиодигестивного анастомоза. *Анналы хирургической гепатологии*. 2012; 17 (3): 110–113. *Okhotnikov OI, Yakovleva MV*. Radiosurgical antegrade transhepatic correction of the biliodigestive anastomosis stricture. *Annals of HPB Surgery*. 2012; 17 (3): 110–113 [In Russ].
14. *Кулезнева ЮВ, Бруслик СВ, Мусаев ГХ, Израилов РЕ, Кириллова МС*. Антеградные методы декомпрессии желчных протоков: эволюция и спорные вопросы. *Анналы хирургической гепатологии*. 2011; 16 (3): 35–43. *Kulezneva YV, Bruslik SV, Musaev GH, Israilov RE, Kirillova MS*. Percutaneous modalities of biliary decompression: development and disputable items. *Annals of HPB Surgery*. 2011; 16 (3): 35–43 [In Russ].
15. *Prajapati HJ, Kavali P, Kim HS*. Percutaneous interventional management of biliary complications after pediatric liver transplantation: A 16-year single-institution experience. *Pediatr Transplant*. 2017; 21 (1): 10.1111/petr.12837. doi: 10.1111/petr.12837.

Статья поступила в редакцию 17.06.2020 г.
The article was submitted to the journal on 17.06.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-3-26-35

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРИОРИТЕТНОСТИ В ВЫБОРЕ ПАЦИЕНТОВ ИЗ ЛИСТА ОЖИДАНИЯ ДЛЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ

В.Л. Коробка^{1, 2}, М.Ю. Кострыкин¹, В.Д. Пасечников^{1, 3}, Е.С. Пак^{1, 2}

¹ ГБУ Ростовской области «Ростовская областная клиническая больница», Ростов-на-Дону, Российская Федерация

² ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет», Ростов-на-Дону, Российская Федерация

³ ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет», Ставрополь, Российская Федерация

Цель. Определить пороговое значение показателя MELD при оценке приоритетности выбора пациентов в качестве кандидатов на трансплантацию печени. **Материалы и методы.** Проведено когортное исследование 350 пациентов, находившихся в листе ожидания трансплантации печени в период с 2015-го по 2020 г. **Результаты.** Для определения независимых предикторов смертности пациентов в листе ожидания трансплантации печени использовалась логистическая регрессионная модель. Значимыми предикторами смертного исхода стали показатели MELD и альбумина плазмы крови при включении в лист ожидания ($p = 0,001$ и $p = 0,004$ соответственно). Предсказательная ценность выявленных предикторов была подтверждена с помощью ROC-анализа (Receiver Operating Characteristic). Площадь под ROC-кривой (Area Under Curve – AUC) для показателя MELD оказалась равной 0,883 [95% доверительный интервал (ДИ) 0,828–0,939; $p < 0,001$]. AUC ROC для показателя альбумина оказалась равной 0,841 [95% ДИ 0,775–0,907; $p < 0,001$]. Отношение шансов для развития смертного исхода при условии, если показатель MELD при включении в лист ожидания ≥ 25 , оказалось равным 3,778, 95% ДИ (1,619–7,765). Отношение шансов для развития смертного исхода при условии, если концентрация альбумина плазмы крови при включении в лист ожидания $\leq 30,1$ г/л, оказалось равным 2,979 (95% ДИ 1,63–5,95). При пороговом значении MELD, равном 25 баллам, имелись значимые различия между выживаемостью пациентов при сравнении когорт пациентов с показателями MELD ≥ 25 и MELD ≤ 25 (Log-rank, $p < 0,0001$). **Заключение.** Исследование подтвердило высокую предсказательную способность модели MELD при определении приоритетности пациентов в листе ожидания для выполнения трансплантации печени. Определено пороговое значение этого показателя, предикторы смертного исхода, показаны значимые различия между выживаемостью пациентов при сравнении когорт пациентов с показателями MELD ≥ 25 и MELD ≤ 25 .

Ключевые слова: лист ожидания трансплантации печени, пороговое значение показателя MELD, выживаемость пациентов, приоритет в выборе пациентов для трансплантации печени.

PRIORITIZATION FOR LIVER TRANSPLANTATION

V.L. Korobka^{1, 2}, M.Y. Kostykin¹, V.D. Passetchnikov^{1, 3}, E.S. Pak^{1, 2}

¹ Rostov Regional Clinical Hospital, Rostov-on-Don, Russian Federation

² Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

³ Stavropol State Medical University, Stavropol, Russian Federation

Objective: to determine the threshold MELD scores when prioritizing for liver transplantation. **Materials and methods.** We conducted a cohort study of 350 patients who were waitlisted for liver transplantation between 2015 and 2020. **Results.** A logistic regression model was used to identify the independent predictors of liver transplantation waitlist mortality. MELD scores and serum albumin at the time of listing were significant predictors of mortality ($p = 0.001$ and $p = 0.004$, respectively). Their predictive values were confirmed using ROC (Receiver Operating Characteristic) analysis. The area under the ROC curve (AUC) was 0.883 [95% confidence interval (CI) 0.828–0.939; $p < 0.001$] for MELD, and 0.841 [95% CI 0.775–0.907; $p < 0.001$] for serum albumin.

Для корреспонденции: Пасечников Виктор Дмитриевич. Адрес: 355017, Ставрополь, ул. Авиационная, 21. Тел. (962) 447-75-13. E-mail: passetchnikov@mail.ru

Corresponding author: Victor Passetchnikov. Address: 21, Aviatsionnaya str., Stavropol, 355017, Russian Federation. Phone: (962) 447-75-13. E-mail: passetchnikov@mail.ru

Mortality odds ratio was 3.7778, 95% CI (1.619–7.765) provided that the listing MELD score was ≥ 25 . Mortality odds ratio was 2.979 (95% CI 1.63–5.95) provided that the listing serum albumin concentration was ≤ 30.1 g/L. With a threshold MELD score of 25, there were significant differences between patient survival when comparing patient cohorts with MELD ≥ 25 and with MELD ≤ 25 (Log-rank, $p < 0.0001$). **Conclusion.** The MELD model has a high predictive ability in prioritization of waitlisted candidates for liver transplantation. The threshold MELD score and mortality predictors were determined. There were significant differences between patient survival among patient cohorts with MELD ≥ 25 and with MELD ≤ 25 .

Keywords: liver transplant waiting list, MELD threshold, patient survival, prioritization for liver transplantation.

ВВЕДЕНИЕ

С момента осуществления первой пересадки печени человеку американским хирургом Томасом Старзлом [1] эта операция коренным образом изменила подходы к терапии тяжелых заболеваний печени, существенно улучшив выживаемость пациентов.

В настоящее время трансплантация печени (ТП) является терапией выбора для терминальных заболеваний печени, фульминантной печеночной недостаточности и для некоторых вариантов гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) [2]. Расширение показаний, увеличение количества пациентов, включаемых в лист ожидания (ЛО) трансплантации печени обусловило проблему острого дефицита донорской печени, которая существует практически во всех странах [3–5].

В Российской Федерации необходимость ТП большим с различными тяжелыми заболеваниями печени значительно превышает активность трансплантационных центров. По данным национального регистра, на 2018 г. в ЛО состояло 1830 человек, ТП выполнена 505 пациентам в том же году, что составило показатель 3,4 на 1 млн населения [6].

Таким образом, продолжающийся рост количества пациентов, включенных в ЛО ТП во всем мире, ставит задачу перед организаторами здравоохранения, специалистами-трансплантологами определить наилучшие пути в приоритизации пациентов, нуждающихся в этом лечении. С этой целью во многих странах мира созданы организации, регулирующие распределение донорских органов для пациентов с наиболее высоким риском смертности в короткие сроки. В США такую тактику распределения донорских органов выполняет неправительственная организация «The United Network for Organ Sharing» (UNOS) [7].

Оптимальное время для проведения ТП до сих пор не определено, поскольку не ясно, в какие сроки течения цирроза печени возникает необходимость выполнения этой операции [8]. Кроме того, в условиях значительного превышения спроса донорской печени, когда он превышает предложение, перво-степенной задачей является не только определение

сроков пересадки органа, но и правильность отбора реципиентов [8, 9].

На этапах развития ТП для приоритизации пациентов использовались такие методы, как время нахождения в ЛО, степень тяжести заболевания, индекс MELD и др. [10, 12–14]. Однако до сих пор в сообществе трансплантологов нет единого мнения о том, каким же должен быть идеальный показатель распределения донорского органа для ТП. Так, например, существует мнение о том, что приоритизация пациентов при ТП должна определяться на основе разницы между показателем выживаемости после пересадки печени и показателем выживаемости пациентов, оставшихся в ЛО [11].

Наличие идеального показателя для распределения органов позволит определить относительно узкую группу пациентов, то есть такую, которая по размеру схожа с числом доступных доноров, и придерживаться принципа приоритизации в соответствии с медицинскими потребностями. Пороговое значение MELD, выше которого ТП принесет максимальную пользу для снижения смертности пациентов, должно быть принято во внимание при определении приоритетности пациентов в ЛО.

Цель исследования: определение порогового значения MELD при оценке приоритетности выбора пациентов в качестве кандидатов на ТП.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В ходе когортного исследования пациентов, наблюдавшихся в Центре хирургии и координации донорства Ростовской областной клинической больницы, в период с 2015-го по 2020 г. в ЛО были включены 350 пациентов – кандидатов на ТП. Одобрение исследования было получено в Этическом комитете при Ростовской областной клинической больнице.

Критерии включения в исследование

Абсолютным показанием для включения в ЛО пациентов с терминальными заболеваниями печени являлось отсутствие эффекта консервативной терапии на предшествующих этапах. Дополнительными показаниями стали следующие факторы: развитие асцита или печеночного гидроторакса, купирование

антибиотиками спонтанного бактериального перитонита (СБП) в анамнезе заболевания, наличие холестаза, печеночной энцефалопатии (ПЭ) и/или варикозных кровотечений ЖКТ. Условием включения в ЛО больных с алкогольной болезнью печени (АБП) являлось наличие абстиненции, сохранявшейся как минимум в течение 3 месяцев, подтвержденное заключениями наркологов и психиатров. При включении в ЛО, а также в динамике течения заболевания и развития того или иного исхода рассчитывались следующие показатели: оригинальный и усовершенствованный индексы: MELD [14] и MELD-Na [15] и индекс коморбидности Charlson – CCI и Child-Turcotte-Pugh (СТР). Больные включались в ЛО при индексе MELD ≥ 16 .

Критерии исключения из исследования

Из исследования были исключены пациенты с выраженной легочно-сердечной патологией, а также продолжавшие прием алкоголя на момент исследования. Не вошли в исследование и пациенты с ГЦК, больные, включенные в ЛО вследствие декомпенсации и подвергшиеся делистингу вследствие иных причин, чем рекомпенсация. Из исследования исключались пациенты, включенные в ЛО по причинам, иным, чем декомпенсация (рецидивирующий холангит при первичном склерозирующем холангите), а также пациенты, включенные в ЛО по поводам: распространенного тромбоза воротной вены и ее магистральных притоков; синдрома Бадда–Хиари, синдрома синусоидальной обструкции; поликистоза печени, амилоидоза. Исключению из исследования подлежали пациенты, включенные в ЛО для ретрансплантации, или с предшествующими трансплантациями других органов, а также пациенты с острой печеночной недостаточностью.

Диагностические исследования

При включении пациентов в ЛО проводился клинический осмотр, осуществлялись лабораторные исследования крови и мочи, биохимические исследования, исследования параметров гемостаза. Скрининг и диагностика HBV- и HCV-инфекции проводились на основе иммуноферментного анализа (ИФА) на маркеры этих инфекций, а также качественного и количественного определения вирусов в крови с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Всем пациентам выполнялась эластография, в части случаев – биопсия печени с последующим морфологическим исследованием. У части больных выполнялся анализ асцитической жидкости.

Лечение

Консервативную терапию больным, включенным в ЛО, проводили посиндромно, с назначением

неселективных β -блокаторов, мочегонных средств, L-орнитин-L-аспартата в комбинации с пероральным приемом лактулозы и рифаксимины (при наличии явной или скрытой ПЭ). У части больных проводили экстракорпоральную гемокоррекцию (плазмасорбция и продленная вено-венозная гемодиализация). В случае диагностики HCV- и HBV-инфекции всем пациентам осуществляли противовирусную терапию, включавшую препараты прямого противовирусного действия (HCV) и нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы (HBV). У больных с аутоиммунными заболеваниями в терапию включали иммуносупрессанты и глюкокортикостероиды.

В связи с рецидивными варикозными кровотечениями у части пациентов проводилось трансюгулярное портосистемное шунтирование (TIPS) и операция азиго-портального разобщения (АПР) по оригинальной методике (патент РФ 2412657) [16]. Ортотопическая трансплантация печени (ОТП) была выполнена 59 больным.

Дизайн исследования

В зависимости от исхода заболевания пациенты из ЛО Центра хирургии и координации донорства Ростовской областной клинической больницы были распределены на 4 когорты. В первую когорту вошел 51 пациент с рекомпенсацией ЦП, наступившей в результате проводимой терапии. Критериями диагноза «рекомпенсация ЦП» являлись: отсутствие асцита и/или печеночного гидроторакса; отсутствие периферических отеков (при прекращении приема диуретиков); отсутствие ПЭ (без препаратов, направленных на ее купирование); снижение индекса MELD (≤ 15) и СТР как минимум в течение 6 месяцев, с подтверждением устойчивого состояния компенсации функции печени [17]. Вторую когорту (субкомпенсация функции печени) составили 153 пациента, у которых добиться рекомпенсации ЦП не удалось, они продолжали находиться в ЛО. В третью когорту вошли 87 пациентов со смертным исходом. Четвертая когорта состояла из 59 пациентов, которым была выполнена ОТП.

Первичной конечной точкой исследования стало исследование выживаемости пациентов, включенных в ЛО. **Вторичной конечной точкой** исследования стало определение пороговых значений индекса MELD в целях приоритетного выбора кандидатов на ТП.

Статистическое исследование

Для анализа данных использовали программу IBM SPSS Statistics (v. 21). Определение вида распределения полученных данных и последующий выбор параметрического или непараметрического анализа осуществляли посредством критерия Колмогорова.

ва–Смирнова. В случае нормального распределения выборки данные представляли средними арифметическими величинами (M) и стандартным отклонением (SD, standard deviation) с определением 95% доверительного интервала (ДИ). Статистическую значимость различий между сравниваемыми параметрами при нормальном распределении определяли по t-критерию Стьюдента. Если выборка демонстрировала отсутствие нормального распределения данных, использовали непараметрические критерии: Уилкоксона для парных сравнений зависимых переменных, Манна–Уитни (U-критерий), Хи-квадрат Пирсона – для сравнения независимых переменных. Количественные показатели в выборках с распределением, отличным от нормального, представляли в виде медианы и интерквартильного размаха (IQR) – интервала между 25-м и 75-м процентилем. Для оценки качественных данных рассчитывали частоты и доли (%). Различия между сравниваемыми параметрами считали статистически значимыми при условии вероятности ошибки менее 0,05 ($p < 0,05$).

Для определения предикторов смертного исхода использовали регрессионный анализ (логистическую регрессию). Рассчитывали отношение шансов для значимых предикторов смертного исхода с определением 95% ДИ. Для оценки качества регрессионной модели (предсказательная способность модели) строили ROC-кривые (Receiver Operating Characteristic) и вычисляли площадь под кривой AUC (Area Under Curve). В качестве нулевой гипотезы принимали утверждение, что AUC ROC не отличается от величины 0,5 [18].

Оценку выживаемости проводили методом Каплана–Мейера, определяли среднее и медиану времени

дожития, критерии: Log-Rank (Mantel-Cox), Breslow и Tarone-Ware.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При использовании критерия Колмогорова–Смирнова нормальному распределению соответствовали показатели возраста пациентов, индекса массы тела (ИМТ), количества лейкоцитов, концентрации альбумина, индексов MELD, MELD-Na на момент включения в ЛО, которые анализировали с помощью методов параметрической статистики.

Показатели степени ПЭ, активности щелочной фосфатазы, концентрации Na, креатинина и билирубина, МНО, индексов CCI и CTP на момент включения в ЛО не соответствовали нормальному распределению, и для их последующего анализа использовали непараметрические методы статистики (критерий Манна–Уитни – U-критерий, Хи-квадрат).

В табл. 1 и 2 представлены показатели демографических, клинических, лабораторных исследований, индексов ИМТ, MELD, MELD-Na, CCI и CTP в когортах больных с рекомпенсацией ЦП ($n = 51$), субкомпенсацией ЦП ($n = 153$), умерших в период пребывания в ЛО ($n = 87$) и перенесших ОТП ($n = 59$).

На рис. 1 представлены показатели MELD больных из ЛО всех когорт. Показатель MELD в группе больных со смертным исходом значимо отличался от показателей других сравниваемых когорт. Показатели пациентов с рекомпенсацией ЦП и смертным исходом были подвергнуты регрессионному анализу (логистическая регрессия). Значимыми предикторами смертного исхода стали показатели MELD и альбумина плазмы крови ($p = 0,001$ и $p = 0,004$ соответственно).

Таблица 1

Сравнительная характеристика показателей пациентов исследуемых когорт (при нормальном распределении выборки данных)

Comparative characteristics of patient indices in study cohorts with normal distribution of the data sample

Показатели на момент включения в ЛО	Когорты больных			
	1 ($n = 51$) M $\pm$ SD	2 ($n = 153$) M $\pm$ SD	3 ($n = 87$) M $\pm$ SD	4 ($n = 59$) M $\pm$ SD
Возраст, годы	48,35 $\pm$ 9,93*	51,85 $\pm$ 9,32	50,98 $\pm$ 11,35 ^c	45,02 $\pm$ 11,94 ^a
ИМТ, кг/м ²	27,72 $\pm$ 4,47	26,80 $\pm$ 4,46	24,50 $\pm$ 4,18 ^c	25,29 $\pm$ 4,13 ^{ad}
Лейкоциты, $\times 10^9$ /л	3,75 $\pm$ 0,49*	3,34 $\pm$ 0,69 ^c	2,69 $\pm$ 0,74 ^m	3,22 $\pm$ 0,70 ^{cd}
Альбумин плазмы, г/л	37,76 $\pm$ 4,73	33,27 $\pm$ 6,79	28,39 $\pm$ 7,67 ^m	31,69 $\pm$ 5,18 ^{acd}
MELD-Na	18,33 $\pm$ 1,93*	20,59 $\pm$ 4,46 ^c	25,97 $\pm$ 8,30 ^m	20,93 $\pm$ 5,64 ^{cd}

Примечание. 1 – рекомпенсация ЦП; 2 – субкомпенсация ЦП; 3 – умершие в ЛО; 4 – ОТП; * – $p < 0,05$ при сравнении групп 1 и 2; ^a – $p < 0,05$ при сравнении групп 2 и 4; ^c – $p < 0,05$ при сравнении групп 3 и 4; ^d – $p < 0,05$ при сравнении групп 1 и 4; ^e – $p < 0,05$ при сравнении групп 2 и 3; ^m – $p < 0,05$ при сравнении групп 1 и 3.

Note. 1 – LC recompensation; 2 – LC subcompensation; 3 – died in WL; 4 – OLT; * – $p < 0,05$ comparison between groups 1 and 2; ^a – $p < 0,05$ comparison between groups 2 and 4; ^c – $p < 0,05$ comparison between groups 3 and 4; ^d – $p < 0,05$ comparison between groups 1 and 4; ^e – $p < 0,05$ comparison between groups 2 and 3; ^m – $p < 0,05$ comparison between groups 1 and 3.

Таблица 2

**Сравнительная характеристика показателей пациентов исследуемых когорт
(при отсутствии нормального распределения выборки данных)**

**Comparative characteristics of patient indices in study cohorts in the absence of normal distribution
of the data sample**

Показатели на момент включения в ЛО	Когорты больных			
	1 (n = 51) Медиана (IQR) или %	2 (n = 153) Медиана (IQR) или %	3 (n = 87) Медиана (IQR) или %	4 (n = 59) Медиана (IQR) или %
Мужской пол, %	64,7	50,3	55,2	57,6
Степень ПЭ	2,0 (1,0–2,0)*	2,0 (2,0–2,0) ^e	2,0 (3,0–3,0) ^m	2,0 (2,0–3,0) ^d
CCI	7,0 (5,0–8,0)*	9,0 (7,5–11,0)	14,0 (13,0–14,0) ^m	9,0 (7,0–11,0) ^d
СТР	14,0 (13,0–14,0)	14,0 (12,0–14,0)	14,0 (13,0–14,0)	14,0 (13,0–14,0) ^a
Тромбоциты, ×10 ⁹ /л	94,0 (78,0–126,0)*	67,0 (49,0–96,0) ^e	45,0 (32,0–72,0) ^m	43,0 (58,0–86,0) ^{cd}
ЩФ, ЕД/л	243,0 (167,0–365,0)	273,0 (148,5–383,5) ^e	387,0 (286,0–500,0) ^m	287,0 (217,0–401,0) ^e
Na, ммоль/л	139,0 (137,0–141,0)*	138,0 (136,0–140,0) ^e	137,0 (136,0–139,0) ^m	138,0 (136,0–140,0) ^{cd}
Креатинин, мкмоль/л	109,0 (93,0–120,0)	112,0 (86,0–132,5) ^e	139,0 (111,0–187,0) ^m	120,0 (96,0–143,0) ^{acd}
Билирубин, мкмоль/л	79,0 (61,0–103,0)*	72,0 (51,0–95,0) ^e	93,0 (58,0–198,0) ^m	72,0 (48,0–96,0) ^{cd}
МНО	1,4 (1,4–1,6)*	1,8 (1,6–2,0) ^e	2,0 (1,6–2,5) ^m	1,6 (1,4–1,8) ^{ad}

Примечание. 1 – рекомпенсация ЦП; 2 – субкомпенсация ЦП; 3 – умершие в ЛО; 4 – ОТП; * – $p < 0,05$ при сравнении групп 1 и 2; ^a – $p < 0,05$ при сравнении групп 2 и 4; ^e – $p < 0,05$ при сравнении групп 3 и 4; ^d – $p < 0,05$ при сравнении групп 1 и 4; ^c – $p < 0,05$ при сравнении групп 2 и 3; ^m – $p < 0,05$ при сравнении групп 1 и 3.

Note. 1 – LC recompensation; 2 – LC subcompensation; 3 – died in WL; 4 – OLT; * – $p < 0,05$ comparison between groups 1 and 2; ^a – $p < 0,05$ comparison between groups 2 and 4; ^e – $p < 0,05$ comparison between groups 3 and 4; ^d – $p < 0,05$ comparison between groups 1 and 4; ^c – $p < 0,05$ comparison between groups 2 and 3; ^m – $p < 0,05$ comparison between groups 1 and 3.

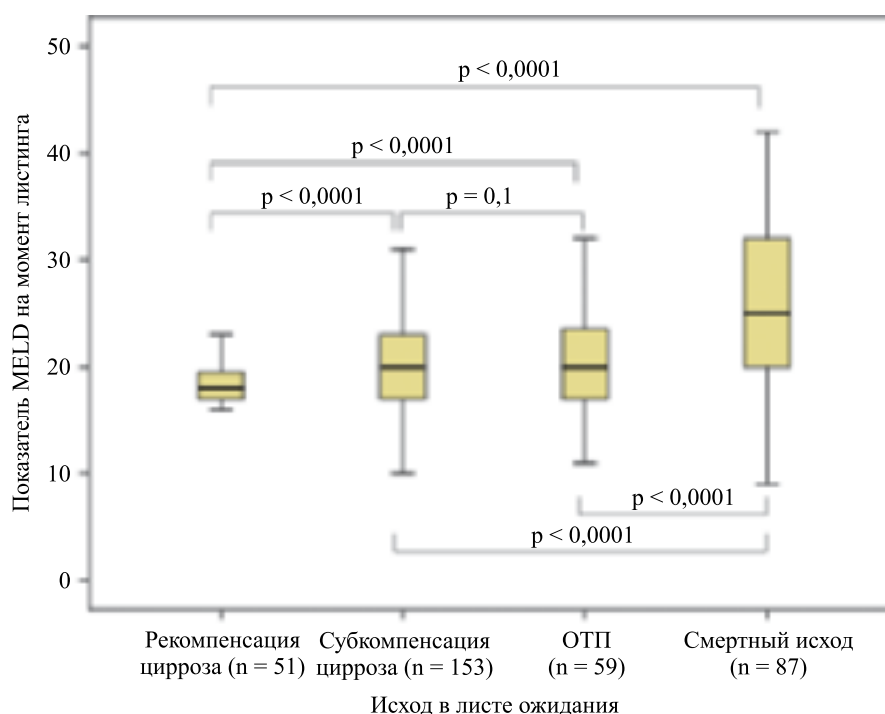


Рис. 1. Индекс MELD в сравниваемых когортах пациентов. Вертикальная черта на бокс-плоте – медиана, верхняя – 75% квартили, нижняя – 25% квартили, размах – 95% ДИ, p – значимость различий между показателями

Fig. 1. MELD index in compared patient cohorts. The vertical bar on the box plot is the median, the upper line is 75% of the quartile, the lower line is 25% of the quartile, the range is 95% CI, p is the significance of the differences between the indicators

Были рассчитаны AUC для показателей MELD и концентрации альбумина, построены кривые ROC для этих показателей (рис. 2).

AUC ROC для показателя MELD оказалась равной 0,883 [95% ДИ 0,828–0,939; $p < 0,001$]. AUC ROC для концентрации альбумина оказалась равной 0,841 [95% ДИ 0,775–0,907; $p < 0,001$].

Отношение шансов (ОШ) для развития смертного исхода при условии, если показатель MELD при включении в ЛО ≥ 25 , оказалось равным 3,778, 95% ДИ (1,619–7,765). ОШ для развития смертного исхода, при условии что концентрация альбумина плазмы крови при включении в ЛО $\leq 30,1$ г/л, оказалось равным 2,979 (95% ДИ 1,63–5,95).

Проведен анализ выживаемости пациентов в зависимости от показателей MELD с использованием метода Каплана–Мейера и критериев: Log-rank (Mantel-Cox), Breslow, Tarone-Ware. Исследование показало, что выживаемость больных в ЛО зависит от величины показателя MELD. Имелись значимые различия между выживаемостью пациентов при сравнении когорт пациентов с показателями MELD ≥ 25 и MELD ≤ 25 (Log-rank, $p < 0,0001$; Breslow, $p < 0,0001$; Tarone-Ware, $p < 0,0001$). Функция дожития по созданной модели отождествлялась с развитием смертного исхода в определенные сроки для конкретных пациентов (рис. 3).

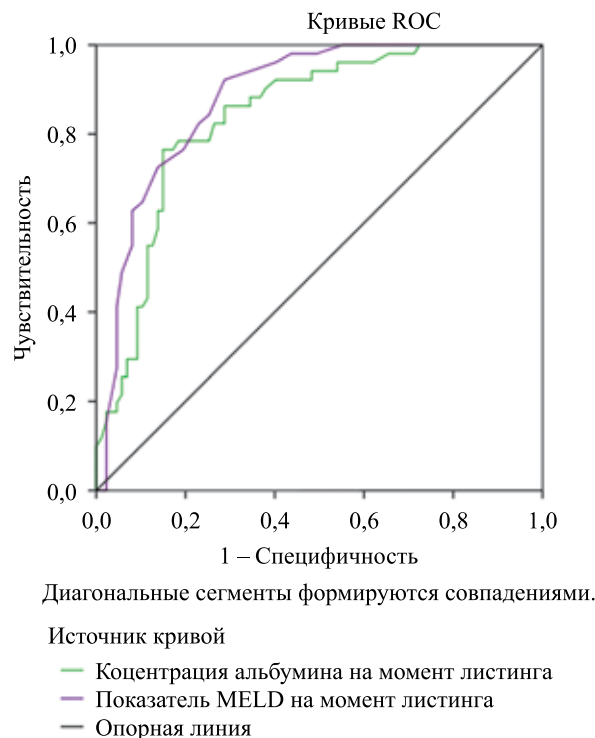


Рис. 2. ROC-кривая для показателей MELD и альбумина в крови у пациентов на момент включения в ЛО как предикторов развития смертного исхода

Fig. 2. ROC-curve for indicators of MELD and albumin in the blood of patients at the time of inclusion in the waiting list as predictors of death

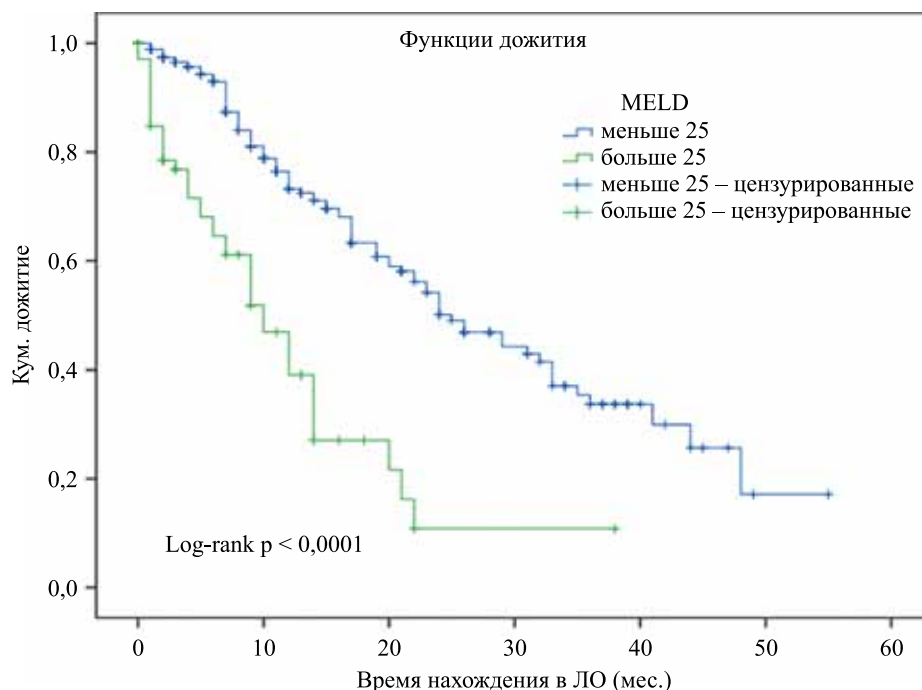


Рис. 3. Сравнение кривых выживаемости пациентов с различными показателями индекса MELD (log-rank-критерий). Показано время ожидания развития смертного исхода для пациентов (период от включения в ЛО до смертного исхода)

Fig. 3. Comparison of survival curves of patients with different indicators of the MELD index using the log-rank criterion. The waiting time for the development of mortality for patients is shown (the period from at the time of inclusion in the waiting list to death)

ОБСУЖДЕНИЕ

ЦП отличаются высокие показатели заболеваемости и смертности, достигающей ежегодно более 48 тысяч во всем мире, или 2,4% от общего числа смертей. За 27 лет в России число больных с декомпенсированным ЦП увеличилось почти в два раза [19]. Декомпенсированный ЦП ассоциируется с плохим прогнозом и ухудшением качества жизни пациентов. Для большинства пациентов с декомпенсированным ЦП единственным методом лечения остается ТП [20], однако у части больных существует возможность рекомпенсации ЦП (стабилизация функции печени) с последующим делистингом пациентов [17, 21].

Нами установлено, что у пациентов с рекомпенсацией ЦП уровень лейкоцитов и концентрация альбумина были значимо выше в сравнении с другими исследованными когортами. В то же время в данной группе показатели МНО, степени ПЭ, билирубина, уровня Na, тромбоцитов, а также индексов MELD, MELD-Na и CCI были значимо ниже аналогичных показателей в прочих когортах.

Рекомпенсация терминального заболевания печени (ТЗП) различной этиологии возможна при сочетании ряда факторов. Во-первых, сохранившимися резервами печени и наличием «точки возврата» утраченной функции после прекращения действия повреждающих факторов, что подтверждается лучшими по сравнению с другими когортами показателями функции печени при листинге, а во-вторых, лучшим ответом на проводимую терапию.

В 57% случаев больным с рекомпенсацией ЦП проводилась этиологическая и патогенетическая терапия (азатиоприн для пациентов с аутоиммунной этиологией ЦП, препараты прямого противовирусного (HCV) действия – софосбувир + даклатасвир и софосбувир/ледипасвир). В 71% случаев больные получали неселективный β -адреноблокатор (карведилол), в 100% случаев – диуретики и в 84% случаев – терапию ПЭ (внутривенное введение L-орнитин-L-аспартата в комбинации с пероральным приемом лактулозы и рифаксимины). В дополнение к медикаментозной терапии 31% больных было проведено АПР, 47% – однократное эндоскопическое лигирование ВРВ, 22% – неоднократные лигирования. Экстракорпоральную гемокоррекцию провели в 16% случаев.

С точки зрения купирования факторов, вызывающих прогрессирование ЦП и развитие осложнений, в течение последних лет произошел существенный прогресс. Использование вазопрессоров, антибиотиков и методик минимально инвазивной хирургии существенно улучшило прогноз для пациентов с острыми варикозными кровотечениями [22, 23]. Применение современной антимикробной терапии сократило число летальных исходов от сепсиса и

септического шока [24]. Комбинированное лечение ГРС альбумином и вазопрессорами также обусловило значительное улучшение исходов ТЗП. Успешная своевременная эрадикация HCV с последующим снижением ПГ и фиброза может привести к развитию рекомпенсации ЦП, что позволяет существенно «разгрузить» ЛО, что немаловажно в условиях дефицита органа [21, 25, 26].

В качестве вероятных факторов, обуславливающих развитие рекомпенсации ЦП с последующим делистингом пациентов, рассматривается противовирусная терапия, лечение АИГ азатиоприном, TIPS [17]. Мы полагаем, что развитие рекомпенсации у пациентов, вышедших из ЛО, в нашем исследовании определялось такими факторами, как успешно проведенная противовирусная терапия HCV, применение иммуносупрессоров при аутоиммунных заболеваниях, лечение ПЭ, назначение диуретиков и неселективных β -блокаторов. Считаем, что определенный вклад в результаты консервативного лечения пациентов внесли и хирургические методы лечения.

В вопросе приоритизации пациентов в ЛО стоит опираться на показатель индекса СТР, который первоначально использовался для оценки тяжести заболевания печени и предсказания исхода ЦП, а в последнее время применяется для стратификации больных ЦП [20, 27].

В нашем исследовании во всех четырех когортах индекс СТР не имел значимых различий, что демонстрирует его ограниченные возможности из-за субъективности показателей асцита и ПЭ, частым расхождением клинической картины с фактически данными ультрасонографии, психометрического тестирования, электроэнцефалографии [20, 28].

Другие прогностические индексы (MELD и его модификация MELD-Na), рассмотренные нами, в отличие от индекса СТР имели значимые различия их показателей в исследуемых когортах больных: рекомпенсация ЦП и ОТП; рекомпенсация ЦП и смертный исход; субкомпенсация ЦП и смертный исход; ОТП и смертный исход. Индексы MELD и MELD-Na не имели значимых различий между когортами больных с субкомпенсацией ЦП и ОТП.

Одной из самых серьезных проблем для пациентов с ТЗП, ожидающих трансплантации, является риск смерти в ЛО. В нашем исследовании когорте больных с субкомпенсацией ЦП мы уделили особое внимание, поскольку проводимая у них терапия не позволила добиться компенсации функции печени в большинстве случаев. Пациенты этой группы могут переходить в другие когорты. Из-за колебания значений таких лабораторных показателей, как креатинин и билирубин, неизбежно возникающих в ходе лечения больных ЦП, например, при терапии диуретиками или же при наличии у пациента сепсиса или гемолиза, использование индекса MELD может быть

ограничено. Существенным недостатком клинического применения индекса является его способность прогнозировать лишь краткосрочную выживаемость больных ЦП, тогда как время их нахождения в ЛОТП в 63% случаев может достигать одного года, таким образом, при оценке периода более 3 месяцев прогностическая точность MELD существенно снижается [12, 14, 29, 30].

Несмотря на свою специфичность в отношении оценки тяжести ЦП, MELD не учитывают ряд других не менее важных клинических, инструментальных и лабораторных показателей. Это уменьшает диагностическую ценность метода и не позволяет в полной мере полагаться на показатель при оценке неблагоприятного исхода заболевания на период более трех месяцев. Прогрессирование ТЗП в ЛО может протекать непредсказуемо, а смертность нарастать по экспоненте [31] за счет развития острого декомпенсирующего события (например, СБП, кровотечения из БРВ пищевода) [30].

Таким образом, пациенты могут жить с низким показателем MELD (и следовательно, с низким прогнозируемым риском смерти) в течение нескольких месяцев или лет, не осознавая, что резкое ухудшение течения ТЗП может произойти уже завтра.

В нашем исследовании у 30% пациентов, находившихся в ЛО, развился смертный исход. Среднее пребывание в ЛО этой когорты пациентов составило $10,8 \pm 9,8$ месяца. Индекс MELD-Na варьировал и в 84% случаев превышал показатель 16 баллов, составив в среднем $25,97 \pm 8,30$ балла. Значимыми предикторами смертного исхода при проведении регрессионного анализа стали показатели MELD и альбумина плазмы крови при включении в ЛО ($p = 0,001$ и $p = 0,004$ соответственно). Выбранная модель обладала высокой предсказательной способностью, чувствительностью и специфичностью, о чем свидетельствовали показатели AUC для обеих независимых переменных (0,883 и 0,841 соответственно) и ROC-кривые. Это подтверждается расчетом ОШ, показавшим, что у больных с показателем MELD при включении в ЛО ≥ 25 вероятность развития смертного исхода увеличивается в 3,778 раза.

Несмотря на существование действующей системы приоритизации пациентов с использованием показателя MELD [29] и системы распределения органов (UNOS), один из пяти пациентов (20%), находящихся в ЛО, не доживает до выполнения этой операции [30]. Можно предположить, что причиной смерти этих больных стала невыполненная вовремя ТП вследствие неправильной стратификации и/или дефицита донорского органа, а также внезапная декомпенсация ТЗП [30, 31]. Это может свидетельствовать о том, что судьба пациента зависит как от правильной тактики, так и от компетенции врачей, ведущих ЛО ТП.

Гипоальбуминемия была еще одним независимым предиктором смертного исхода пациентов в нашем исследовании. Известно, что это состояние является независимым фактором риска для смертности пациентов с ТЗП как маркер мальнутриции, а увеличение концентрации альбумина в плазме крови – предиктором рекомпенсации пациентов [17, 26]. Это подтверждалось расчетом ОШ для развития смертного исхода. В случае если концентрация альбумина плазмы крови при включении в ЛО $\leq 30,1$ г/л, вероятность развития смертного исхода увеличивалась в 2,979 раза.

Заслуживает внимания проведенный нами анализ выживаемости пациентов с использованием метода Каплана–Мейера и критериев: Log-rank (Mantel-Cox), Breslow, Tarone-Ware в зависимости от показателя MELD. Установлено, что выживаемость больных в ЛО определяется величиной показателя MELD, а именно его пороговым значением, равным 25 баллам, поскольку имелись значимые различия между выживаемостью пациентов при сравнении когорт пациентов с показателями MELD ≥ 25 и MELD ≤ 25 (Log-rank, $p < 0,0001$).

Кому же из находящихся в ЛО ТП пациентов отдать приоритет? Это очень непростой вопрос, в решении которого должны учитываться многие факторы. Применительно к целям данной работы нами показано, что приоритет должен быть отдан пациентам с показателями MELD ≥ 25 .

Адаптация индекса MELD к определению тяжести заболевания и приоритизации доступа пациента к ТП позволила распределять донорские органы самым тяжелым пациентам, независимо от времени их включения в ЛО [14]. Такой подход позволил снизить смертность пациентов, ожидающих ТП, во многих странах [32]. Тем не менее по-прежнему имеют место ограничения в использовании показателя MELD, в частности у пациентов с холестатическими заболеваниями печени [14, 15]. У этой категории больных вплоть до развития очень поздней стадии ТЗП, индекс MELD остается низким вследствие нормальных значений его составных частей: МНО и уровня креатинина. Пациенты с рефрактерным асцитом, с гепатопульмонарным синдромом и даже с хронической ПЭ сохраняют в течение длительного периода времени функцию печени [32]. Таким образом, у этих пациентов для своевременного выполнения ТП помимо MELD необходимо учитывать иные показатели [33].

В нашем исследовании смертность после проведения ОТП составила 15% (9 умерших за период до 2 лет после проведения операции). Средний показатель MELD этой категории пациентов был близок, но не превышал 21 пункта. Merion et al. [9] показали, что у пациентов с показателями MELD между 18–20 после проведения ТП риск смертности снизился на

38% в сравнении с теми пациентами, которые остались в ЛО. В то же время больные с индексом MELD между 15–17 имели больший риск смертности (21%) после ТП, чем те пациенты, которые оставались в ЛО. Такое сравнение подчеркнуло отсутствие эффективности ТП при низком MELD, несмотря на то что в целом у этих больных риск смерти оказался ниже на 79% в сравнении с остающимися в ЛО больными [8]. Вариабельность оценки результатов ТП показала необходимость дополнительных требований к отбору пациента и органа для ТП с целью обеспечения ее максимальной эффективности [8, 34]. Для этого предлагается использовать не только приоритизацию на основе MELD, но и индекс риска умершего донора («deceased-donor risk index – DRI»). Установлено, что орган с высоким DRI-индексом обеспечивает хорошую выживаемость реципиентов после ТП с высоким, но не низким уровнем MELD [35, 36]. В исследовании Beal et al. [11] показано, что при MELD <15 ожидаемого эффекта от ТП не наступило. Наше исследование также показало максимальную эффективность ТП при индексе MELD, не превышающем 21 пункт.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Определение приоритета тех или иных пациентов, находящихся в листе ожидания, как кандидатов на проведение трансплантации печени – трудный выбор для трансплантологов. Наше исследование показало, что одним из подходов для решения этой проблемы, которое бы удовлетворяло поставленным целям – снижение смертности пациентов, ожидающих трансплантацию печени и находящихся в листе ожидания в течение длительного срока, является определение порогового значения MELD. Модель MELD оказалась предсказательной в плане смертного исхода пациентов в ЛО трансплантации печени: значимыми предикторами смертного исхода при проведении регрессионного анализа стали показатели MELD и альбумина плазмы крови при включении в ЛО (листинге) ($p = 0,001$ и $p = 0,004$ соответственно). Предсказательная ценность выбранной модели подтверждается расчетом AUC для обеих независимых переменных (0,883 и 0,841 соответственно) и ROC-кривыми, а также ОШ, показавшим, что у больных с показателем MELD при включении в ЛО ≥ 25 вероятность развития смертного исхода увеличивается в 3,778 раза. Отношение шансов для развития смертного исхода при условии, если концентрация альбумина плазмы крови при включении в лист ожидания $\leq 30,1$ г/л, оказалось равным 2,979 (95% ДИ 1,63–5,95).

Пороговым значением MELD стала величина, равная 25 баллам, поскольку имелись значимые различия между выживаемостью пациентов при срав-

нении когорт пациентов с показателями MELD ≥ 25 и MELD ≤ 25 (Log-rank, $p < 0,0001$).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Starzl TE, Marchioro TL, Vonkaulla KN et al. Homo-transplantation of the liver in humans. *Surg Gynecol Obstet.* 1963; 117: 659–676.
2. Lee J, Lee JG, Jung I et al. Advisory Committee on Improving Liver Allocation. Development of a Korean Liver Allocation System using Model for End Stage Liver Disease Scores: A Nationwide, Multicenter study. *Sci Rep.* 2019; 16; 9 (1): 7495. doi: 10.1038/s41598-019-43965-2.
3. Rapport médical et scientifique de l'Agence de la bio-médecine 2017 n.d. <https://www.agence-biomedecine.fr/Le-rapport-annuel-medical-et/?lang=fr>.
4. Organ Procurement and Allocation Transplant Network. National Data. Overall by Organ. Current U.S. Waiting List. Based on OPTN data as of December 7, 2017. <https://optn.transplant.hrsa.gov/data/view-data-reports/national-data/#>.
5. Organ Procurement and Allocation Transplant Network. National Data. Transplants by Donor Type. U.S. Transplants Performed January 1, 1988 – October 31, 2017. Based on OPTN data as of December 7, 2017. <https://optn.transplant.hrsa.gov/data/viewdata-reports/national-data/#>.
6. Готье СВ, Хомяков СМ. Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2018 году. XI сообщение регистра Российского трансплантологического общества. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2019; 21 (3): 7–32. Gautier SV, Khomyakov SM. Organ donation and transplantation in Russian Federation in 2018. 11th report of National Register. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs.* 2019; 21 (3): 7–32. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2019-3-7-32.
7. United Network for Organ Sharing / Organ Procurement and Transplantation Network Standard Transplant Analysis and Research Database; 2017. <http://optn.transplant.hrsa.gov/data/about/OPTNDatabase.asp>.
8. Merion RM, Schaubel DE, Dykstra DM et al. The survival benefit of liver transplantation. *Am J Transplant.* 2005; 5 (2): 307–313.
9. Kim WR, Lake JR, Smith JM et al. OPTN/SRTR 2013 Annual Data Report: liver. *Am J Transplant.* 2015; 15 Suppl 2: 1–28.
10. Freeman RB, Wiesner RH, Edwards E et al. Results of the first year of the new liver allocation plan. *Liver Transpl.* 2004; 10 (1): 7–15.
11. Beal EW, Akateh C, Tumin D et al. Defining a Liver Transplant Benefit Threshold for the Model for End-Stage Liver Disease-Sodium Score. *Exp Clin Transplant.* 2019 May 2. doi: 10.6002/ect.2018.0346. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 31050611.

12. Malinchoc M, Kamath PS, Gordon FD et al. A model to predict poor survival in patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic shunts. *Hepatology*. 2000; 31 (4): 864–871.
13. Kamath PS, Wiesner RH, Malinchoc M et al. A model to predict survival in patients with end-stage liver disease. *Hepatology*. 2001; 33 (2): 464–470.
14. Wiesner R, Edwards E, Freeman R et al. Model for end-stage liver disease (MELD) and allocation of donor livers. *Gastroenterology*. 2003; 124 (1): 91–96.
15. Leise MD, Kim WR, Kremers WK, Larson JJ et al. A revised model for end-stage liver disease optimizes prediction of mortality among patients awaiting liver transplantation. *Gastroenterology*. 2011; 140: 1952–1960.
16. Коробка ВЛ, Шаповалов АМ, Данильчук ОЯ, Коробка РВ. Способ хирургического лечения и профилактики рецидива кровотечений при варикозном расширении вен пищевода и кардиального отдела желудка. Патент РФ № 2412657. Korobka VL, Shapovalov AM, Danil'chuk OYa, Korobka RV. Sposob khirurgicheskogo lecheniya i profilaktiki retsidiva krvotecheniy pri varikoznom rasshirenii ven pishchevoda i kardial'nogo otдела zheludka. Patent RF № 2412657. <http://www.freepatent.ru/images/patents/48/2412657/patent-2412657.pdf>.
17. Aravinthan AD, Barbas AS, Doyle AC et al. Characteristics of liver transplant candidates delisted following recompensation and predictors of such delisting in alcohol-related liver disease: a case-control study. *Transpl Int*. 2017; 30: 1140–1149. <https://doi.org/10.1111/tri.13008>.
18. Zweig MH, Campbell G. Receiver-operating characteristic (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine. *Clinical Chemistry*. 1993; 39: 561–577.
19. GBD 2017 Cirrhosis Collaborators. The global, regional, and national burden of cirrhosis by cause in 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2020; 5 (3): 245–266. doi: 10.1016/S2468-1253(19)30349-8.
20. Christensen E. Prognostic models including the Child-Pugh MELD and Mayo risk scores-where are we and where should we go? *J Hepatol*. 2004; 41: 344–350.
21. Perricone G, Duvoux C, Berenguer M et al. Delisting HCV-infected liver transplant candidates who improved after viral eradication: Outcome 2 years after delisting. *Liver Int*. 2018; 38: 2170–2177.
22. de Franchis R. Baveno VI Faculty. Expanding consensus in portal hypertension: Report of the Baveno VI Consensus Workshop: Stratifying risk and individualizing care for portal hypertension. *J Hepatol*. 2015; 63: 743–752. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.05.022>.
23. Carbonell N, Pauwels A, Serfaty L et al. Improved survival after variceal bleeding in patients with cirrhosis over the past two decades. *Hepatol Baltim Md*. 2004; 40: 652–659. <https://doi.org/10.1002/hep.20339>.
24. Galbois A, Aegerter P, Martel-Samb P et al. Improved prognosis of septic shock in patients with cirrhosis: a multicenter study. *Crit Care Med*. 2014; 42: 1666–1675.
25. Roberts S, Gordon A, McLean C et al. Effect of sustained viral response on hepatic venous pressure gradient in hepatitis C-related cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007; 5: 932–937.
26. Belli LS, Berenguer M, Cortesi PA et al. Delisting of liver transplant candidates with chronic hepatitis C after viral eradication: A European study. *J Hepatol*. 2016; 65: 524–531.
27. Pugh R, Murray-Lyon I, Dawson J. Transsection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg*. 1973; 60: 646–649.
28. Durand F, Valla D. Assessment of the prognosis of cirrhosis: Child-Pugh versus MELD. *J Hepatol*. 2005; 42 (Suppl): S100–S107.
29. Freeman RB, Wiesner RH, Edwards E et al. Results of the first year of the new liver allocation plan. *Liver Transpl*. 2004; 10: 7–15.
30. Lai JC, Covinsky KE, Hayssen H et al. Clinician assessments of health status predict mortality in patients with end-stage liver disease awaiting liver transplantation. *Liver Int*. 2015; 35 (9): 2167–2173. doi: 10.1111/liv.12792.
31. Massie AB, Segev DL. MELD trajectory prior to death on the liver transplant waitlist. *American journal of transplantation*. 2013; 13: 89–90.
32. Samuel D, Coilly A. Management of patients with liver diseases on the waiting list for transplantation: a major impact to the success of liver transplantation. *BMC Med*. 2018; 16: 113.
33. Northup PG, Intagliata NM et al. Mortality on the liver transplant waiting list: unintended policy consequences and model for end stage liver disease (MELD) inflation. *Hepatology*. 2015; 61: 285–291.
34. Su F, Yu L, Berry K et al. Aging of liver transplant registrants and recipients: trends and impact on waitlist outcomes, posttransplantation outcomes, and transplant-related survival benefit. *Gastroenterology*. 2016; 150 (2): 441–453.
35. Schaubel DE, Sima CS, Goodrich NP et al. The survival benefit of deceased donor liver transplantation as a function of candidate disease severity and donor quality. *Am J Transplant*. 2008; 8 (2): 419–425.
36. Feng S, Goodrich NP, Bragg-Gresham JL et al. Characteristics associated with liver graft failure: the concept of a donor risk index. *Am J Transplant*. 2006; 6 (4): 783–790.

Статья поступила в редакцию 30.06.2020 г.
The article was submitted to the journal on 30.06.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-3-36-42

ЭФФЕКТИВНОСТЬ АЛЬБУМИНОВОГО ДИАЛИЗА В КАЧЕСТВЕ МОСТА К ТРАНСПЛАНТАЦИИ У ДЕТЕЙ С ТЕРМИНАЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПЕЧЕНИ

А.Г. Строков^{1, 2}, Я.Л. Поз¹, А.Р. Монахов^{1, 2}, С.В. Мещеряков¹, М.А. Восканов¹,
С.В. Готье^{1, 2}

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

² ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация

Введение. У пациентов с терминальными заболеваниями печени трансплантация является единственным эффективным методом лечения. Однако донорский орган не всегда бывает доступен, а в ряде случаев осуществлению трансплантации препятствует тяжесть состояния больного. В связи с этим применение искусственных систем поддержки функции печени позволяет подготовить пациента к трансплантации.

Целью данного ретроспективного исследования послужила оценка эффективности системы сепарации и адсорбции фракционированной плазмы (Fractionated Plasma Separation and Adsorption). **Пациенты и методы.** За период с января 2019-го по май 2020 года было выполнено 139 трансплантаций печени детям. Были проанализированы данные 5 пациентов детского возраста (2 девочки и 3 мальчика в возрасте 12–17 лет), получавших сеансы сепарации и адсорбции фракционированной плазмы (САФП) в качестве моста к трансплантации. Главным клиническим показанием к проведению САФП являлась выраженная печеночная энцефалопатия (3-я степень по шкале West-Haven), отмечавшаяся при сывороточном уровне билирубина 350–872 (в среднем 597 ± 98 мкмоль/л). Сеансы САФП проводились на аппарате Prometheus с использованием гемофильтров AV 600 в качестве диализаторов (Fresenius Medical Care, Germany).

Результаты. В зависимости от величины билирубинемии у пациентов потребовалось от одного (в одном случае) до трех (в одном случае) ежедневных сеансов САФП для восстановления ясного сознания, аппетита и физической активности. Средний уровень билирубина после циклов лечения снизился с 597 ± 98 до 236 ± 73 мкмоль/л. Всем больным в сроки от двух до пяти дней была проведена успешная трансплантация печени, в двух случаях – трансплантация фрагмента печени от живого родственного донора. **Заключение.** Применение системы САФП позволяет стабилизировать состояние потенциальных реципиентов с выраженной печеночной недостаточностью. Для отработки оптимальных режимов использования альбуминового диализа требуются дальнейшие исследования.

Ключевые слова: цирроз печени, печеночная недостаточность, альбуминовый диализ, трансплантация печени, детская трансплантация печени, экстракорпоральная детоксикация, печеночная энцефалопатия, сепарация и адсорбции фракционированной плазмы.

Для корреспонденции: Строков Александр Григорьевич. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1.
Тел. (499) 158-22-33. E-mail: medick@bk.ru

Corresponding author: Alexander Stokov. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation.
Phone: (499) 158-22-33. E-mail: medick@bk.ru

EFFICACY OF ALBUMIN DIALYSIS AS A BRIDGE TO TRANSPLANTATION IN CHILDREN WITH END-STAGE LIVER DISEASE

A.G. Strokov^{1, 2}, I.L. Poz¹, A.R. Monakhov^{1, 2}, S.V. Meshcheryakov¹, M.A. Voskanov¹, S.V. Gautier^{1, 2}

¹ Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation

² Sechenov University, Moscow, Russian Federation

Liver transplantation is the only effective treatment modality for end-stage liver disease. However, donor organs are not always available. In some cases, the gravity of the patient's condition makes transplantation impossible. In this regard, the use of artificial liver support systems helps in preparing a patient for transplant surgery. **Objective:** to conduct a retrospective study aimed at evaluating the efficiency of fractionated plasma separation and adsorption system. **Materials and methods.** From January 2019 to May 2020, 139 pediatric liver transplants were. We analyzed the data of 5 pediatric patients (2 girls and 3 boys, aged 12 to 17 years) who received fractionated plasma separation and adsorption (FPSA) sessions as a bridge to transplantation. The main clinical indication for FPSA was severe hepatic encephalopathy (grade 3 according to the West Haven Criteria), which was observed at 350–872 $\mu\text{mol/L}$ (average $597 \pm 98 \mu\text{mol/L}$) serum bilirubin level. The FPSA sessions were conducted on a Prometheus device using AV-600 hemofilters as dialyzers (*Fresenius Medical Care, Germany*). **Results.** Depending on the extent of bilirubinemia in patients, it took from one (in one case) to three (in one case) daily FPSA sessions to restore clear consciousness, appetite and physical activity. Average bilirubin levels after treatment cycles decreased from 597 ± 98 to $236 \pm 73 \mu\text{mol/L}$. All patients successfully underwent liver transplant surgery within two to five days, two patients received a liver fragment from a living related donor. **Conclusion.** The FPSA system stabilizes the condition of potential recipients with acute liver failure. Further research is required to develop optimal regimens for albumin dialysis.

Keywords: cirrhosis, liver failure, albumin dialysis, liver transplantation, pediatric liver transplantation, extracorporeal liver support, hepatic encephalopathy, fractionated plasma separation and adsorption.

ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация является единственным радикальным методом лечения больных с терминальными заболеваниями печени. Однако донорский орган далеко не всегда бывает доступен в нужный момент, а в ряде случаев осуществлению успешной трансплантации препятствует тяжесть состояния больного. В таких случаях применение искусственных систем поддержки функции печени позволяет подготовить пациента к трансплантации. За последние десятилетия разработано большое количество таких систем – биологических, содержащих гепатоциты, и полностью искусственных [1–3]. Из последних наибольшее распространение в клинической практике получили системы, основанные на альбуминовом диализе с использованием мембран с высокой, до 250 кДА, точкой отсечения, и кроме того, содержащие блок стандартного гемодиализа для выведения водорастворимых веществ [4]. Большинство исследований, проведенных за последние два десятилетия, посвящены применению альбуминового диализа в случаях острой или острой на фоне хронической печеночной недостаточности, отличаются высокой гетерогенностью вовлеченных больных, и соответственно, трудно сопоставимыми результатами.

Целью данного ретроспективного исследования послужила оценка эффективности и безопасности одной из систем альбуминового диализа – сепарации и адсорбции фракционированной плазмы (САФП), в практике трансплантологического центра при подготовке пациентов детского и подросткового возраста с терминальной печеночной недостаточностью к urgentной трансплантации печени.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пациенты

С января 2019-го по май 2020 года было выполнено 139 трансплантаций педиатрической категории пациентов (младше 18 лет). За указанный период 5 детей получили как минимум 1 сеанс САФП в предоперационном периоде. Выраженная печеночная энцефалопатия являлась основным клиническим показанием к применению САФП, оценивалась по шкале West-Haven [5]. Исследование выполнено в соответствии с этическими принципами проведения биомедицинских исследований, отраженными в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации. Все медицинские вмешательства предусмотрены стандартными протоколами Центра.

Сеансы сепарации и адсорбции фракционированной плазмы

Сеансы САФП проводились на аппарате Prometheus, принципиальная схема экстракорпоральной циркуляции которого приведена на рис. 1; в качестве гемодиализаторов использовались гемофильтры AV 600–1000 (*Fresenius Medical Care, Германия*). Стандартная продолжительность сеансов составляла 6 часов при скорости кровотока 180–250 мл/мин и скорости циркуляции в альбуминовом контуре 300–350 мл/мин.

Сосудистым доступом служили стандартные двухпросветные катетеры для диализа размером 12F, имплантированные в правую внутреннюю яремную вену под ультразвуковой навигацией. При этом коагулопатия и тромбоцитопения не являлись противопоказаниями к постановке сосудистого доступа.

Количество сеансов САФП определялось наличием посмертного или родственного донора для проведения трансплантации печени. Сеансы альбуминового диализа проводились в условиях отделения интенсивной терапии ежедневно до появления явного клинического улучшения, проявлявшегося устранением проявлений печеночной энцефалопатии в виде восстановления сознания, физической активности и аппетита.

Использовалась бикарбонатная безацетатная диализирующая жидкость следующего состава: Na^+ – 138–140, K^+ – 4,0; Ca^{++} – 1,75; Mg^{++} – 1,0; глюкоза – 10,0; бикарбонат – 32,0 (ммоль/л) с потоком

500 мл/мин при температуре 36,0–36,5 °С. Ультрафильтрация проводилась в объемах, соответствующих трансфузионной терапии в ходе процедуры. Антикоагуляция в экстракорпоральном контуре осуществлялась дозированным введением гепарина по двум линиям – перед плазмофильтром и по дополнительной линии – перед гемодиализатором под контролем показателей АВС и АЧТВ.

Хирургическая техника, протоколы иммуносупрессии, а также принципы обследования родственных доноров подробно представлены в предыдущих публикациях [6–9].

Статистическая обработка данных

Демографические и клинические данные выражены как частота и доля в процентах для качественных переменных и как среднее значение и стандартное отклонение (СО) для количественных переменных. Для сравнения параметрических показателей между группами применялся t-критерий Стьюдента. Для сравнения непараметрических показателей – точный критерий Фишера. При проверке статистических гипотез различия признавали статистически значимыми при значении $p < 0,05$. Все расчеты и анализ данных выполняли с применением пакета программ SPSS версия 23 (IBM, США)

РЕЗУЛЬТАТЫ

Клинические и демографические характеристики пациентов представлены в табл. 1. Обращает на

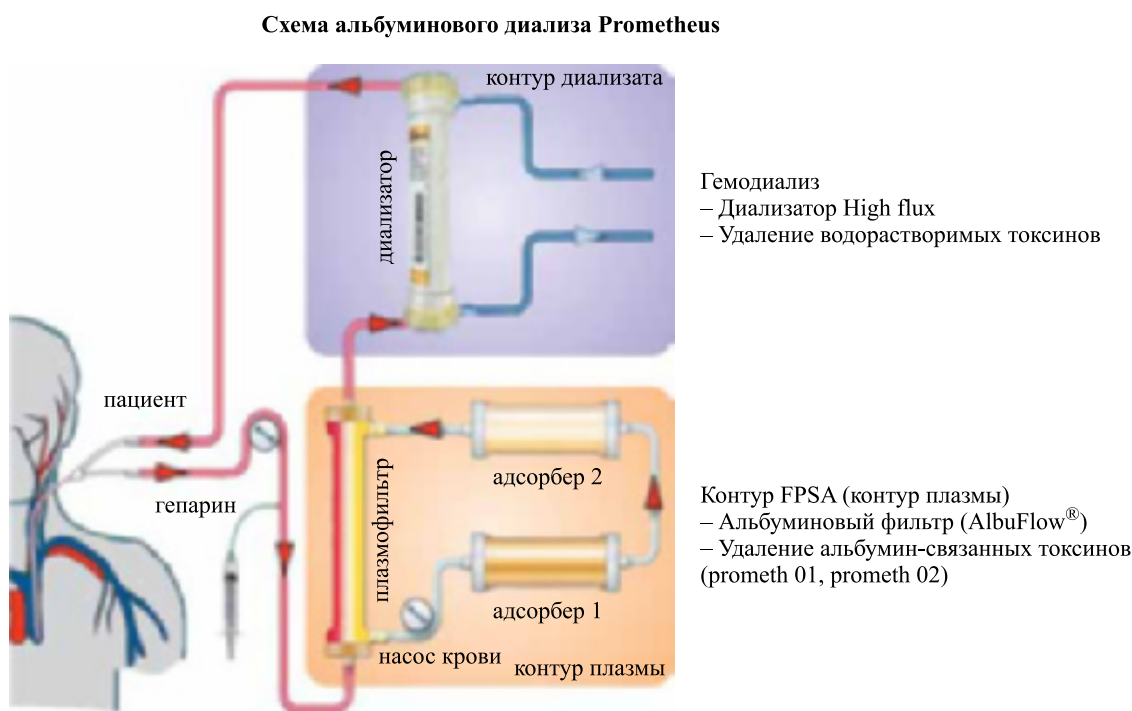


Рис. 1. Принципиальная схема контура экстракорпоральной циркуляции [10]

Fig. 1. Schematic diagram of the extracorporeal circulation circuit [10]

Таблица 1

Основные характеристики пациентов
The Baseline characteristics of patients

Параметры	Отсутствовали показания к САФП, n = 134	САФП применяли, n = 5	Значение p
Возраст, лет, среднее $\pm$ СО	4,2 $\pm$ 5,1	12,4 $\pm$ 3,4	0,004
Пол, n (%)			0,661
женский	73 (54,5)	2 (40)	
мужской	61 (45,5)	3 (60)	
Вес, кг, среднее $\pm$ СО	17,6 $\pm$ 17	50,2 $\pm$ 17,7	0,014
PELD/MELD балл, среднее $\pm$ СО	18 $\pm$ 9,9	34,2 $\pm$ 9,6	0,017
Энцефалопатия, степень, n (%)			0,000
0 – II	134 (100)	–	
$\geq$ III	–	5 (100)	
Диагноз, n (%)			–
Билиарная атрезия	47 (35,1)	–	
ПСВХ	14 (10,4)	–	
Билиарная гипоплазия	12 (9,0)	–	
ФХК	12 (9)	–	
Цирроз неуточненный	11 (8,2)	3 (60)	
АИГ	6 (4,5)	1 (20)	
ПСХ	5 (3,7)	–	
Вильсона–Коновалова	4 (3)	1 (20)	
Дисфункция трансплантата	4 (3)	–	
Муковисцидоз	4 (3)	–	
Синдром Алажилъ	3 (2,2)	–	
Гликогеноз	2 (1,5)	–	
Первичная гипероксалурия	2 (1,5)	–	
Тирозинемия 1b	2 (1,5)	–	
Гепатобластома	1 (0,7)	–	
ГЦК	1 (0,7)	–	
Клиглер-Найяр, I тип	1 (0,7)	–	
Болезнь кленового сиропа	1 (0,7)	–	
Гемохроматоз	1 (0,7)	–	
Синдром Жубера	1 (0,7)	–	
GRWR %, среднее $\pm$ СО	3 $\pm$ 1,3	2,1 $\pm$ 0,3	0,103
Трансплантат, n (%)			–
Целая печень	5 (3,7)	3 (60)	
Левая доля	16 (11,9)	1 (20)	
ЛЛС	91 (67,9)	–	
Правая доля	14 (10,4)	1 (20)	
Сплит-ЛЛС	6 (4,5)	–	
Сплит-РПД	2 (1,5)	–	
Период наблюдения, мес.	9 $\pm$ 5,3	10,2 $\pm$ 4,2	0,583

Примечание. САФП – сепарация и адсорбция фракционированной плазмы; PELD – Pediatric End-Stage Liver Disease; MELD – Model of End-Stage Liver Disease; ПСВХ – прогрессирующий семейный внутрипеченочный холестаз; ФХК – фиброхолангиокистоз; АИГ – аутоиммунный гепатит; ПСХ – первичный склерозирующий холангит; ГЦК – гепатоцеллюлярная карцинома; GRWR – graft-to-recipient weight ratio; ЛЛС – левая латеральная секция; РПД – расширенная правая доля.

Note. САФП – Fractionated Plasma Separation and Adsorption; PELD – Pediatric End-Stage Liver Disease; MELD – Model of End-Stage Liver Disease; ПСВХ – Progressive familial intrahepatic cholestasis; ФХК – Fibrocholangiocystosis; АИГ – Autoimmune hepatitis; ПСХ – Primary sclerosing cholangitis; ГЦК – Hepatocellular carcinoma; GRWR – Graft-to-recipient weight ratio; ЛЛС – Left lateral section; РПД – Extended right lobe.

себя внимание подростковый возраст пациентов в исследуемой группе (12,4 года, $CO \pm 3,4$; $p = 0,004$), также заболевания, приведшие к терминальному заболеванию печени: в одном случае болезнь Вильсона–Коновалова, в одном – аутоиммунный гепатит, и в трех случаях этиология терминального поражения печени так и не была верифицирована. Среднее значение уровня PELD/MELD было выше, чем в общей группе (34,2, $CO \pm 9,6$; $p = 0,017$), а статус по UNOS соответствовал 2а или 1. Из пяти пациентов, получавших САФП, двое больных были госпитализированы непосредственно в ОРИТ, трое были переведены для лечения в сроки от двух до трех дней после поступления. Основным клиническим показанием к проведению САФП являлась выраженная печеночная энцефалопатия (3-я степень по шкале West-

Haven). Подобная симптоматика отмечалась при уровне билирубинемии 350–872, в среднем – 597 ± 98 (мкмоль/л). Основные лабораторные показатели при поступлении суммированы в табл. 2; отмечались выраженная гипербилирубинемия, цитолитический синдром, анемия, гипопроотеинемия с низким уровнем альбумина, коагулопатия.

Количество сеансов САФП, потребовавшихся для регресса энцефалопатии, коррелировало с исходным уровнем билирубинемии. Так, у пациента с концентрацией билирубина 350 мкмоль/л оказалось достаточно 1 сеанса, в то время как больной с максимальным уровнем – 872 мкмоль/л – потребовалось три сеанса лечения. Динамика средних значений концентрации билирубина в ходе лечения САФП показана на рис. 2. По окончании курса лечения средняя

Таблица 2

Характеристики пациентов, получавших сеансы САФП
The characteristics of patients received FPSA

Параметры	n = 5
Возраст, лет, среднее $\pm$ CO	12,4 $\pm$ 3,4
Пол, n (%)	
женский	2 (40)
мужской	3 (60)
Вес, кг, среднее $\pm$ CO	50,2 $\pm$ 17,7
PELD/MELD балл, среднее $\pm$ CO	34,2 $\pm$ 9,6
Лабораторные показатели при поступлении	
О. бил, мкмоль/л	553,6 $\pm$ 154,3
АЛТ Ед/л	193,2 $\pm$ 132,8
АСТ Ед/л	318,6 $\pm$ 158,5
Hb, г/л	73,2 $\pm$ 4,9
Общий белок, г/л	63,6 $\pm$ 10,1
Альбумин, г/л	29,0 $\pm$ 3,4
АТ III, %	17,8 $\pm$ 11,5
Тромбоциты 10^3 /мкл	60,2 $\pm$ 27,5
ПИ, %	32,6 $\pm$ 11,0
АЧТВ, С	58,0 $\pm$ 7,8
N сеансов САФП, среднее $\pm$ CO	2 $\pm$ 1
Полный регресс энцефалопатии на фоне САФП, n (%)	
Да	60%
Нет	40%
Разница в уровне о. билирубина после сеанса САФП, мкмоль/л	
После первого сеанса (n = 5)	68,8 $\pm$ 159,9
После второго сеанса (n = 5)	32,8 $\pm$ 89,4
После третьего сеанса (n = 1)	77
После четвертого сеанса (n = 1)	60
Выживаемость, %	100
Период наблюдения после трансплантации, мес.	10,2 $\pm$ 4,2

Примечание. PELD – Pediatric End-Stage Liver Disease; MELD – Model of End-Stage Liver Disease; о. бил – общий билирубин; АЛТ – аланинаминотрансфераза; АСТ – аспаратаминотрансфераза; Hb – гемоглобин; АТ III – антитромбин III; ПИ – протромбиновый индекс; АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время.

Note. PELD – Pediatric End-Stage Liver Disease; MELD – Model of End-Stage Liver Disease; о. бил – Total bilirubin; АЛТ – Alanine aminotransferase; АСТ – Aspartate aminotransferase; Hb – Hemoglobin; АТ III – Antithrombin III; ПИ – Prothrombin index; АЧТВ – Activated partial thromboplastin time.

концентрация билирубина снизилась с 597 ± 98 до 236 ± 73 мкмоль/л. Необходимо отметить, что после окончания лечения отмечалась тенденция к закономерному росту данного показателя.

Всем пяти больным в сроки от двух до пяти дней после лечения САФП была проведена трансплантация печени: в двух случаях – трансплантация фрагмента печени от живого родственного донора, в трех – трансплантация печени от посмертного донора. Средний уровень билирубинемии перед трансплантацией составил 496 ± 108 мкмоль/л, при этом рецидивов энцефалопатии не отмечалось.

Из технических осложнений в ходе проведения альбуминового диализа стоит отметить тромбоз экстракорпорального контура в одном случае, что, очевидно, было связано с низким уровнем АТ III (11%); в данном случае эффективный сеанс лечения был проведен после введения двух доз свежезамороженной плазмы. Средние дозы гепарина, необходимые для адекватной антикоагуляции в экстракорпоральном контуре, составили в среднем $1122,2 \pm 259,9$ МЕ/ч по стандартной линии перед плазмодифильтром и $765,7 \pm 287,2$ МЕ/ч – по дополнительной линии перед гемодиализатором. Клинических осложнений в ходе сеансов лечения не отмечалось, гемодинамические показатели оставались стабильными.

Все пациенты были выписаны из клиники и в настоящее время наблюдаются с функционирующими трансплантатами.

ОБСУЖДЕНИЕ

Системы альбуминового диализа, направленные на поддержание функции печени, и в частности система САФП, используются в клинической практике уже более двадцати лет. Уже в первых исследованиях была показана способность САФП значительно снижать концентрации билирубина, желчных кислот, аммиака [11]. В последующих исследованиях эффективность системы подтверждалась: отмечалось снижение активности трансаминаз [12], а также концентраций аминокислот [13], в том числе вовлеченных в развитие печеночной энцефалопатии. Количество исследований, оценивающих клиническую эффективность САФП, весьма ограничено. Имеются указания на регресс энцефалопатии при использовании системы [14] и оптимизацию показателей гемодинамики [15]. В двух исследованиях, оценивающих эффективность лечения по конечным точкам, достоверного снижения показателя смертности при использовании САФП выявлено не было [16, 17]. Более того, объемное рандомизированное контролируемое исследование, в котором САФП сравнивалась со стандартной терапией, было прекращено досрочно [17], и только при последующем анализе подгрупп пациентов было выявлено улучшение выживаемости наиболее тяжелых больных при применении САФП.

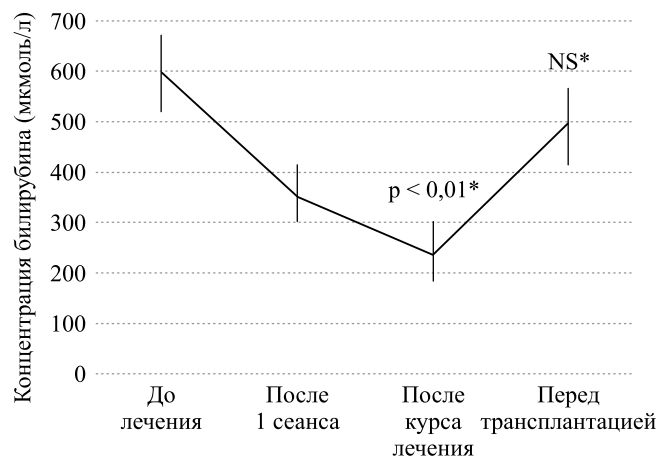


Рис. 2. Динамика средней сывороточной концентрации билирубина в ходе курсов лечения САФП и перед трансплантацией печени. * – в сравнении с концентрацией до начала лечения

Fig. 2. Mean serum bilirubin change during FPSA sessions and before liver transplantation. * – в сравнении с концентрацией до начала лечения

Подобные результаты можно объяснить чрезвычайной гетерогенностью пациентов, вовлекаемых в исследования, и отсутствием четких рекомендаций к проведению терапии и программ ее проведения.

Наше исследование, в котором САФП использовалась в качестве моста к трансплантации печени, отличается весьма обнадеживающими результатами. Курсы лечения, продолжительность которых определялась исходной концентрацией билирубина, позволяли значительно снизить билирубинемии и добиться явного регресса энцефалопатии. Интересным представляется тот факт, что по окончании лечения отмечалось закономерное повышение уровня билирубинемии при отсутствии рецидивов энцефалопатии. В литературе можно обнаружить вероятное объяснение этого феномена. Так, в модели печеночной энцефалопатии было отмечено значимое снижение интракраниального давления после сеансов САФП [18], что может способствовать персистированию клинического эффекта. В нашей серии наблюдений максимальный срок после окончания курса лечения до трансплантации печени не превышал пяти дней, возможно, при более длительном ожидании трансплантации может потребоваться возобновление терапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Система альбуминового диализа САФП является эффективным и безопасным методом подготовки к трансплантации у больных с терминальной печеночной недостаточностью. При наличии реальной перспективы трансплантации печени данная методика может рассматриваться в качестве жизнеспасающей.

щей. Для уточнения показаний к инициации терапии и отработки программ лечения при пролонгировании сроков ожидания трансплантата необходимы дальнейшие исследования.

Авторы заявляют об отсутствии

конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Saliba F, Samuel D. Artificial liver support: a real step forward. *Minerva Med.* 2015; 106 (1): 35–43.
2. Jain V, Dhawan A. Extracorporeal Liver Support Systems in Paediatric Liver Failure. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2017; 64 (6): 855–863. doi: 10.1097/MPG.0000000000001500.
3. Cucchiari D, Reverter E, Blasco M et al. High cut-off membrane for *in vivo* dialysis of free plasma hemoglobin in a patient with massive hemolysis. *BMC Nephrol.* 2018; 19 (1): 250. Published 2018 Oct 4. doi: 10.1186/s12882-018-1051-x.
4. García Martínez JJ, Bendjelid K. Artificial liver support systems: what is new over the last decade? *Ann Intensive Care.* 2018; 8 (1): 109. Published 2018 Nov 15. doi: 10.1186/s13613-018-0453-z.
5. Ferenci P, Lockwood A, Mullen K, Tarter R, Weissenborn K, Blei AT. Hepatic encephalopathy: definition, nomenclature, diagnosis, and quantification: final report of the working party at the 11th World Congresses of Gastroenterology, Vienna, 1998. *Hepatology.* 2002; 35: 716–721. doi: 10.1053/jhep.2002.31250.
6. Готье СВ, Константинов БА, Цирульникова ОМ. Трансплантация печени. М.: Медицинское информационное агентство, 2008. 248. Gautier SV, Konstantinov BA, Tsiurulnikova OM. Transplantatsiya pecheni. M.: Medicinskoe Informacionnoe Agentstvo, 2008. 248.
7. Монахов АР. Прижизненное донорство фрагментов печени для трансплантации детям: Дис. ... канд. мед. наук. М., 2015. Monakhov AR. Prizhiznennoe donorstvo fragmentov pecheni dlya transplantatsii detyam [Dissertation]. M., 2015.
8. Ахаладзе ДГ. Реваскуляризация трансплантата левого латерального сектора печени у детей: Дис. ... канд. мед. наук. М., 2013. Akhaladze DG. Revaskulyarizatsiya transplantata levogo lateral'nogo sektora pecheni u detej. [Dissertation]. M., 2013.
9. Готье СВ, Цирульникова ОМ, Мойсюк ЯГ, Ахаладзе ДГ, Цирульникова ИЕ, Силина ОВ и др. Трансплантация печени детям: анализ шестилетнего опыта. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2014; 16 (3): 54–62. Gautier SV, Tsiurulnikova OM, Moysyuk YG, Akhaladze DG, Silina OV et al. Transplantatsiya pecheni detyam: analiz shestiletneogo opyta. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov.* 2014; 16 (3): 54–62. doi: 10.15825/1995-1191-2014-3-54-62.
10. Freseniusmedicalcare.com [Internet]. Prometheus® Therapy system for the support of liver function, Fresenius Medical Care. [updated 2007] Available from: https://www.freseniusmedicalcare.com/fileadmin/data/master-Content/pdf/Prometheus/Prometheus_Product_Range.pdf/.
11. Evenepoel P, Alexander W, Wilmer A, Claes K, Kuypers D, Bammens B et al. Prometheus versus molecular adsorbents recirculating system: comparison of efficiency in two different liver detoxification devices. *Artif Organs.* 2006; 30 (4): 276–284. doi: 10.1111/j.1525-1594.2006.00215.x.
12. Grodzicki M, Kotulski M, Leonowicz D, Zieniewicz K, Krawczyk M. Results of treatment of acute liver failure patients with use of the Prometheus FPSA system. *Transpl Proc.* 2009; 41 (8): 3079–3081. doi: 10.1016/j.transproceed.2009.08.024.
13. Rifai K, Das A, Rosenau J, Ernst T, Kretschmer U, Haller H et al. Changes in plasma amino acids during extracorporeal liver support by fractionated plasma separation and adsorption. *Artif Organs.* 2010; 34 (2): 166–170. doi: 10.1111/j.1525-1594.2009.00763.x.
14. Senturk E, Esen F, Ozcan PE, Rifai K, Pinarbasi B, Cakar N et al. The treatment of acute liver failure with fractionated plasma separation and adsorption system: experience in 85 applications. *J Clin Apher.* 2010; 25 (4): 195–201. doi: 10.1002/jca.20238.
15. Komardina E, Yaroustovsky M, Abramyan M, Plyushch M. Prometheus therapy for the treatment of acute liver failure in patients after cardiac surgery. *Kardiochir Torakochirurgia Pol.* 2017; 14 (4): 230–235. doi: 10.5114/kitp.2017.72226.
16. Bergis D, Friedrich-Rust M, Zeuzem S, Betz C, Sarrazin C, Bojunga J. Treatment of Amanita phalloides intoxication by fractionated plasma separation and adsorption (Prometheus®). PMID: 22720306.
17. Kribben A, Gerken G, Haag S, Herget-Rosenthal S, Treichel U, Betz C et al. Effects of fractionated plasma separation and adsorption on survival in patients with acute-on-chronic liver failure. *Gastroenterology.* 2012; 142 (4): 782–789. doi: 10.1053/j.gastro.2011.12.056.
18. Ryska M, Laszikova E, Pantoflicek T, Ryska O, Prazak J, Koblihova E. Fractionated plasma separation and adsorption significantly decreases intracranial pressure in acute liver failure: experimental study. *Eur Surg Res.* 2009; 42 (4): 230–235. doi: 10.1159/000208790.

Статья поступила в редакцию 6.07.2020 г.
The article was submitted to the journal on 6.07.2020

ОРГАНИЗАЦИОННЫЕ И МЕДИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕДПОСЫЛКИ ПЕРЕСМОТРА ДОНОРСКИХ КРИТЕРИЕВ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА

Э.А. Тенчурина¹, М.Г. Минина^{1, 2}

¹ ГБУЗ «Городская клиническая больница имени С.П. Боткина» ДЗМ, Московский городской координационный центр органного донорства, Москва

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

В последнее десятилетие изменения в области донорства органов и трансплантации в городе Москве распространились не только на количественный рост эффективных доноров, но и на принципиально новые для российской медицинской практики характеристики донорского пула, с учетом которых кардинальному пересмотру подверглись критерии селекции доноров органов. **Цель** исследования – выполнить анализ медико-эпидемиологических характеристик пула эффективных доноров сердца и оценить их влияние на селекцию сердечного трансплантата. **Материалы и методы.** В настоящем исследовании использованы медико-эпидемиологические данные 650 доноров со смертью головного мозга, у которых были выполнены эксплантации органов в период с 1 января 2012 года по 31 декабря 2017 года. **Результаты.** За исследуемый период отмечается рост числа эффективных доноров сердца в Москве на миллион населения в год с 4,4 (2012) до 11,2 (2017). Выраженным изменениям подверглись медико-эпидемиологические характеристики общего пула доноров и пула доноров сердца. Среди эффективных доноров сердца отмечается динамика увеличения среднего возраста с 38,4 до 47 лет, преобладание удельного веса доноров с острым нарушением мозгового кровообращения (ОНМК) 38,2 (2012) vs 83,2 (2017), и соответственно, ростом частоты таких коморбидных состояний, как гипертоническая болезнь (ГБ) и сахарный диабет (СД). **Заключение.** Результаты, представленные в исследовании, свидетельствуют о растущей практике работы с донорами, имеющими расширенные критерии, и наиболее эффективно данная практика развивается в области трансплантации сердца относительно трансплантации других экстракренальных органов. Несомненно, исследуемый опыт уникален и актуален не только для РФ, но и для мировой трансплантологии, поскольку позволяет в приемлемые сроки оказывать жизненно необходимую помощь пациентам с терминальной сердечной недостаточностью.

Ключевые слова: эффективные доноры сердца, характеристики донорского пула, доноры сердца с расширенными критериями.

ORGANIZATIONAL, MEDICAL AND EPIDEMIOLOGICAL PREREQUISITES FOR REVIEWING DONOR CRITERIA IN HEART TRANSPLANTATION

E.A. Tenchurina¹, M.G. Minina^{1, 2}

¹ Moscow Coordinating Center for Organ Donation (Botkin City Clinical Hospital), Moscow, Russian Federation

² Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation

Organ donation and transplantation in Moscow have witnessed changes in the last decade. These changes have led not only to quantitative growth in the number of effective donors but also to fundamentally new (for Russian medical practice) characteristics of the donor pool. As a result, the selection criteria for organ donors have undergone some radical revisions. **Objective:** to analyze the medical and epidemiological characteristics of the pool

Для корреспонденции: Тенчурина Эльмира Анвяровна. Адрес: 125284, Москва, 2-й Боткинский пр-д, 5. Тел. (967) 113-87-64. E-mail: arimle@inbox.ru

Corresponding author: Elmira Tenchurina. Address: 5, Vtoroy Botkinsky proyezd, Moscow, 125284, Russian Federation. Phone: (967) 113-87-64. E-mail: arimle@inbox.ru

of effective heart donors and assess their impact on selection of heart transplants. **Materials and methods.** In our study, we used the medical and epidemiological data of 650 brain-dead donors whose organs were procured from January 1, 2012 to December 31, 2017. **Results.** During the study period, the number of effective heart donors in Moscow increased from 4.4 (2012) to 11.2 (2017) per million population per year. The medical and epidemiological characteristics of the total pool of donors and the pool of heart donors underwent major changes. Among effective heart donors, there was a dynamic increase in the average age from 38.4 to 47 years, predominance of a proportion of donors with stroke 38.2 (2012) vs 83.2 (2017) and, accordingly, an increase in the frequency of such comorbid conditions, as hypertension and diabetes. **Conclusion.** The results presented in the study indicate a growing practice of working with expanded criteria donors. This practice is most effectively developed in the field of heart transplantation than in transplantation of other extrarenal organs. Undoubtedly, the experience under study is unique and relevant not only for the Russian Federation, but also for the world of transplantology, as it allows to provide vital assistance to patients with end-stage heart failure within a reasonable timeframe.

Keywords: effective heart donors, donor pool characteristics, expanded criteria heart donors.

ВВЕДЕНИЕ

Сообщество трансплантологов продолжает искать способы сокращения дефицита донорских органов для трансплантации [1]. Использование органов от доноров повышенного риска, в том числе старшей возрастной группы, без ущерба для результатов трансплантации является наиболее очевидным и доступным способом увеличения количества донорских органов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В настоящем исследовании использованы клинические данные 650 доноров со смертью головного мозга, у которых были выполнены эксплантации органов в период с 1 января 2012 года по 31 декабря 2017 года. Исследованы общая динамика донорской активности в городе Москве за период 2012–2017 гг. как основа для развития донорства и трансплантации сердца, а также сравнительная динамика использования донорского сердца и других экстраренальных органов для трансплантации. С целью выполнения сравнительного анализа эффективности использования донорского сердца в Москве использовался показатель числа ЭД сердца на миллион населения в год, который сравнивали с аналогичным показателем ряда европейских стран. Для представления популяционных характеристик ЭД, в том числе ЭД сердца, использовались показатели среднего возраста и медианы возраста доноров, гендерное соотношение, удельный вес нозологических форм – причин смерти доноров (%).

Все доноры органов были разделены на две основные группы. В первую группу были включены доноры в количестве 452 (69,5%) человек, у которых выполнялось изъятие сердца для трансплантации изолированно либо в формате мультиорганного изъятия. Вторую группу составили 198 (30,5%) доноров, у которых выполнялись изъятия органов в различном формате, при этом эксплантация сердца не производилась по разным причинам. С целью выявления факторов, послуживших причиной отказа от донор-

ского сердца, нами был отобран ряд характеристик доноров, которые, по нашему мнению, могли оказать влияние на принятие решения об отказе. К факторам, которые никаким воздействием изменить невозможно, мы отнесли возраст, причину смерти, пол, наличие в анамнезе ГБ, СД; из факторов, характеризующих гомеостаз доноров и в отношении которых может быть осуществлена медицинская коррекция, мы выбрали среднее артериальное давление (САД), рН, лактат, Na и глюкозу крови, дозу вазопрессорной поддержки. Все эксплантированные донорские сердца, вошедшие в настоящее исследование, были пересажены в НМИЦ ТИО имени академика В.И. Шумакова МЗ РФ. Для анализа данных использовались методы описательной статистики компьютерной программы Statistica 12.0 для Windows.

НЕКОТОРЫЕ УСЛОВИЯ И ФАКТОРЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ КРИТЕРИИ СЕЛЕКЦИИ ДОНОРОВ СЕРДЦА

В Москве, начиная с 2012 года, отмечается стойкая динамика роста эффективных доноров, смерть которых была констатирована на основании неврологических критериев, т. е. диагноза «смерть головного мозга» (СМ) [2]. На рис. 1 представлено абсолютное количество эффективных доноров с диагнозом СМ и в пересчете на миллион населения в год [3].

Поступательный рост донорской активности стал возможен благодаря целому ряду организационных мероприятий, получивших название «московской модели» донорства органов, среди которых необходимо отметить совершенствование региональной нормативно-правовой базы, внедрение в практическую работу медицинских организаций должности трансплантационного координатора, определение его функциональных обязанностей, формулирование и нормативное закрепление так называемых триггеров идентификации возможного донора органов, мониторинг неврологического и соматического статусов возможных и потенциальных доноров и т. д. [4, 5]. Результатом принятых организационных мер стал

ежегодный рост количества ЭД на миллион населения в год, достигнув в 2017 г. 15,5, тогда как за аналогичный период общий показатель донорской активности в странах Eurotransplant (Евротрансплант) находился на уровне 13,9 [6].

Растущая динамика донорской активности стала одним из ключевых стимулов развития экстраренальных трансплантационных программ. Вместе с тем разница в показателях использования донорского пула по каждому из видов клинической трансплантации весьма значительна. На рис. 2 представлен удель-

ный вес использования доноров со СМ для трансплантации сердца, легких, печени, поджелудочной железы. В период 2012–2014 гг. наблюдаются резкие колебания использования ЭД при трансплантации сердца, печени и поджелудочной железы. Очевидно, что в указанный период происходила адаптация трансплантационных программ к новым условиям работы – росту количества доноров со СМ, росту сосудистых заболеваний как преобладающей причины смерти донора и т. д. В последующий период 2015–2017 гг. показатель использования доноров

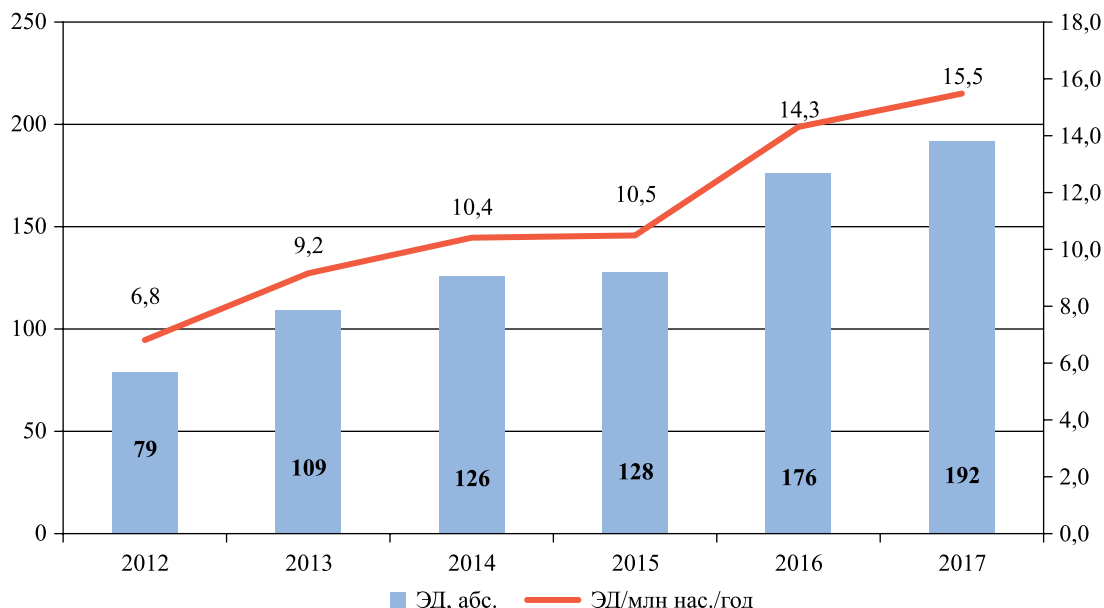


Рис. 1. Донорская активность в городе Москве в динамике 2012–2017 гг.

Fig. 1. Donor activity in Moscow in the dynamics of 2012–2017

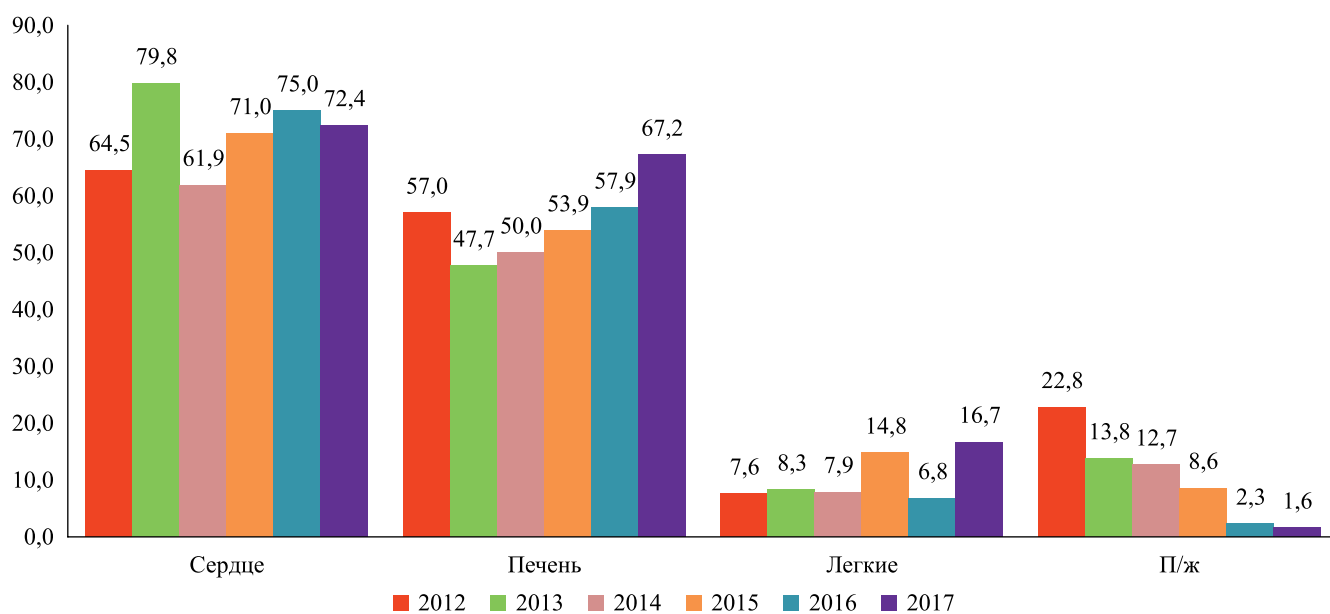


Рис. 2. Динамика использования донорского пула для трансплантации экстраренальных органов в 2012–2017 гг.

Fig. 2. Dynamics of the use of the donor pool for transplantation of extrarenal organs in 2012–2017.

для трансплантации сердца установился на среднем уровне 72,8%, в то время как этот же показатель для печени только в 2017 г. составил 67,2%. В использовании донорского пула при трансплантации легких отмечается незначительная положительная динамика. Самым неэффективным было использование донорского пула при трансплантации поджелудочной железы, где зафиксировано прогрессивное снижение показателя.

Вследствие высокой эффективности использования донорского пула при трансплантации сердца число доноров сердца на миллион населения в

Москве в 2017 г. составило 11,2, что отражено на рис. 3. Аналогичный показатель в Европе в 2017 г. находился на уровне 4,8 [6].

Выше отмечалось, что интенсивность использования сердца для трансплантации происходила в условиях кардинальных изменений донорского пула – повышения возраста доноров, преобладания сосудистых заболеваний в структуре донорской смерти, повышения частоты встречаемости коморбидных факторов риска, среди которых гипертоническая болезнь (ГБ), сахарный диабет (СД), системный атеросклероз и т. д.

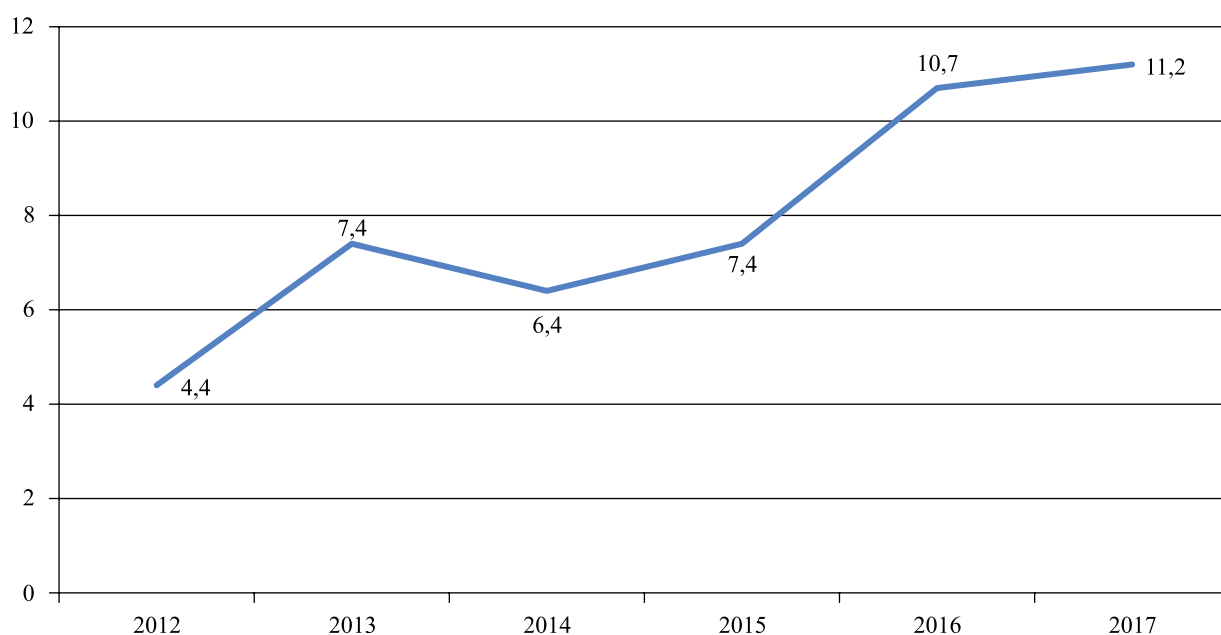


Рис. 3. Число эффективных доноров сердца в Москве на миллион населения в год за период 2012–2017 гг.

Fig. 3. The number of effective heart donors per million of us. per year for the period 2012–2017

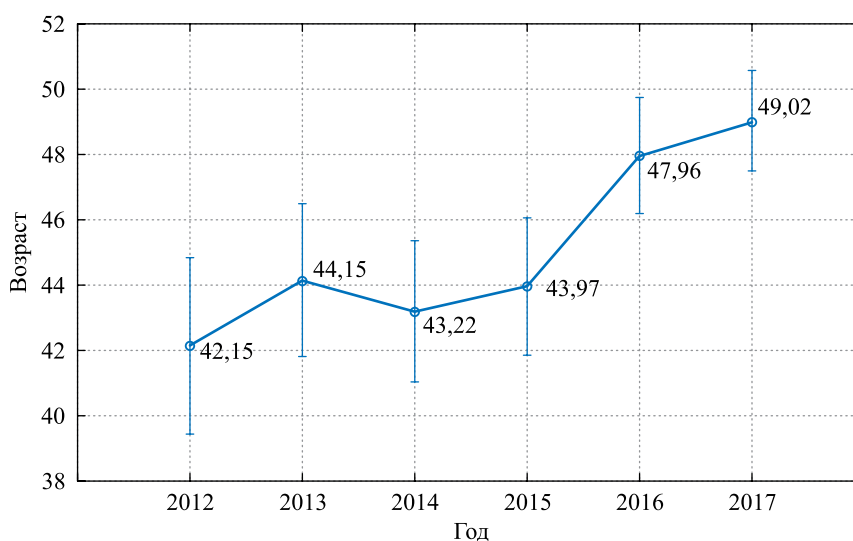


Рис. 4. Сравнительная динамика среднего возраста эффективных доноров в 2012–2017 гг.

Fig. 4. Comparative dynamics of the average age of effective donors in 2012–2017

Средний возраст всех ЭД в Москве за сравнительно короткий период времени увеличился на 7 лет – с 42,15 года в 2012 г. до 49,02 в 2017 г. (рис. 4).

Еще более значимые изменения среднего возраста доноров мы видим среди пула ЭД сердца. В 2012 г. работа велась с относительно молодыми донорами, средний возраст которых составлял 38,4 года, в 2017 г. – средний возраст ЭД увеличился до 47,0 года (рис. 5). Для сравнения: средний возраст доноров сердца в Европе в 2017 г. находился на уровне 43 лет; в странах Северной Америки медиана возраста донора на протяжении 30 лет сохраняется в диапазоне

25–27 лет [6, 7]. Соответственно, наибольшего прогресса в работе с донорами, возраст которых превышает 40 лет, достигли европейские страны, в числе которых находится и Россия с опытом города Москвы, представленным в настоящем исследовании.

Анализируя основные причины смерти всех ЭД в Москве, выявлено значительное преобладание доноров, умерших в результате сосудистых заболеваний мозга в сравнении с числом доноров, получивших травматические повреждения (рис. 6). В странах «Евротранспланта» уже в 2012 г. отмечалось преобладание ЭД с ОНМК, составлявших 78,3% от об-

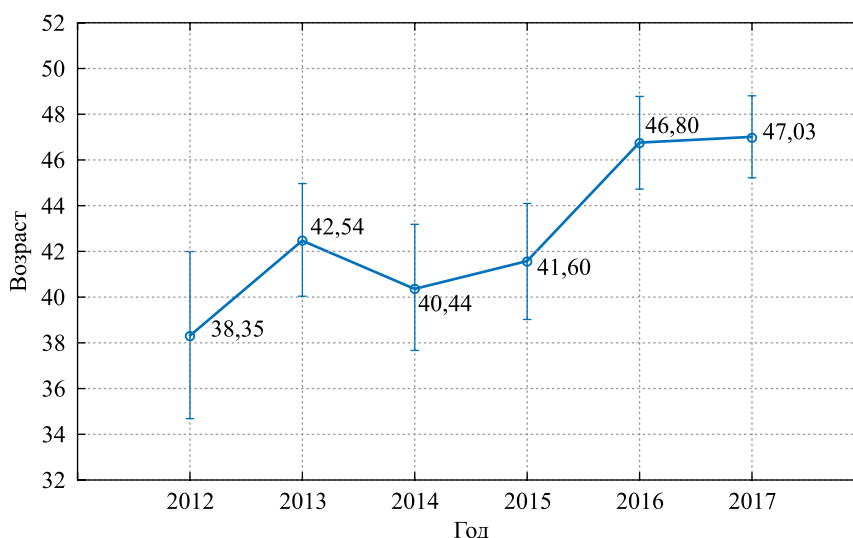


Рис. 5. Сравнительная динамика среднего возраста эффективных доноров сердца, 2012–2017 гг.

Fig. 5. Comparative dynamics of the average age of effective heart donors, 2012–2017

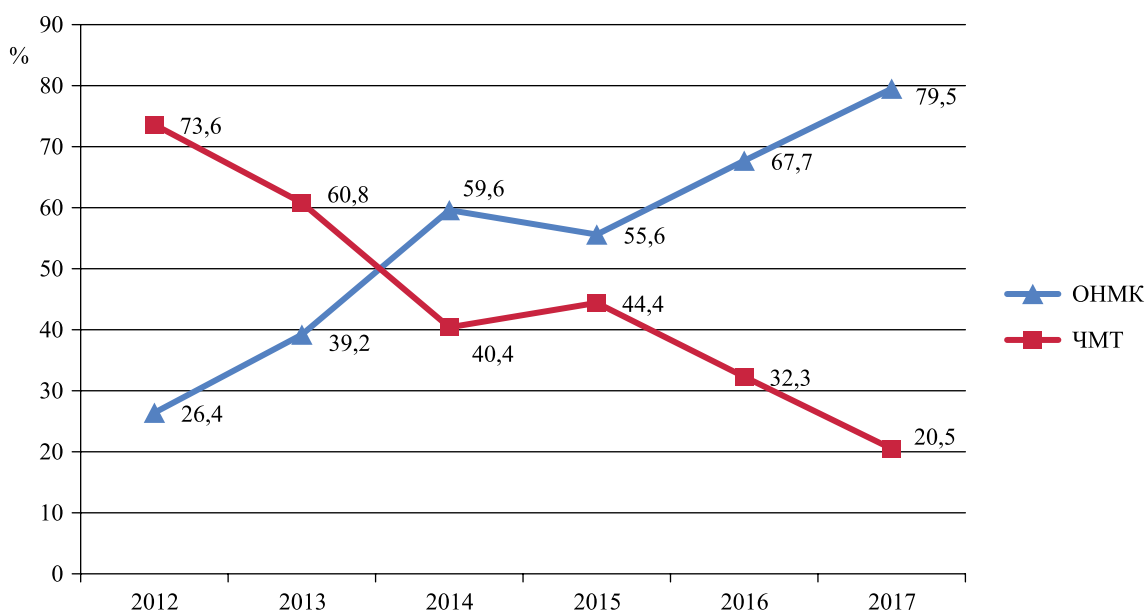


Рис. 6. Процентное соотношение основных причин смерти ЭД в 2012–2017 гг.

Fig. 6. The percentage of the major causes of death in the ED, 2012–2017

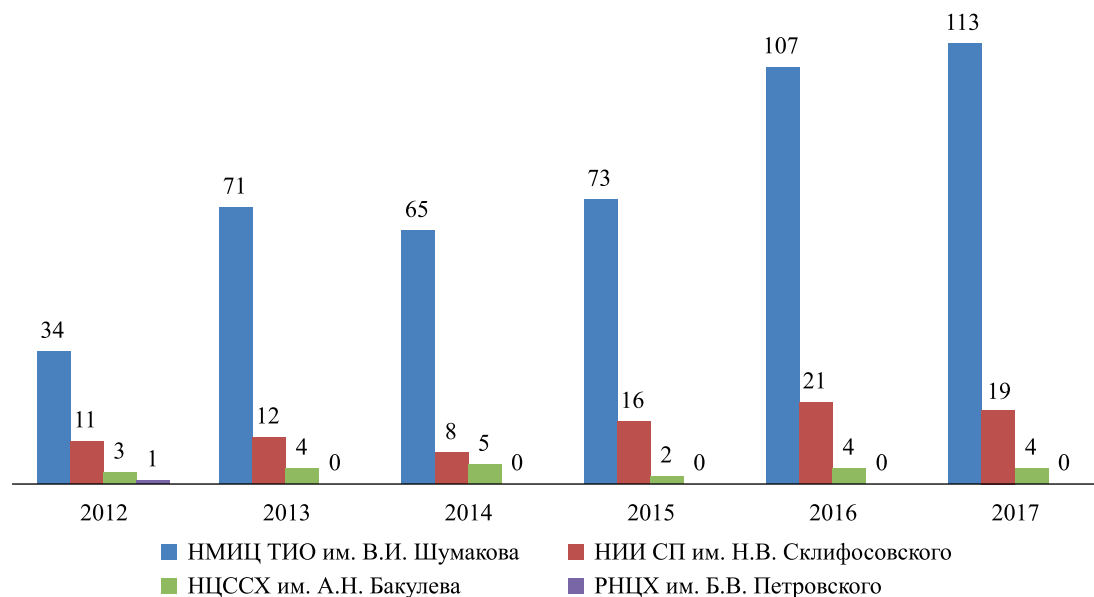


Рис. 7. Активность центров по трансплантации сердца, 2012–2017 гг.

Fig. 7. Activity of heart transplant centers, 2012–2017

щего пула всех доноров [6]. Сравнивая зарубежные данные с полученными в настоящем исследовании, важно отметить, что появление аналогичных донорских тенденций в условиях России свидетельствует об идентичных принципах организации донорского процесса [5].

В условиях изменений донорского пула в Москве наблюдалась крайне неравномерная трансплантационная активность медицинских организаций, выполняющих трансплантацию сердца (рис. 7). В исследование включены только случаи донорства сердца, направляемого для трансплантации в НМИЦ ТИО имени академика В.И. Шумакова, поскольку наибольшее развитие трансплантация сердца получила в данном учреждении. По данным научных публикаций НМИЦ ТИО имени академика В.И. Шумакова, эффективное использование изменившегося донорского пула города Москвы стало возможным прежде всего благодаря своевременному пересмотру критериев селекции донора для трансплантации сердца [8, 9].

Организационные подходы в работе с донорами высокого риска, используемые в совместной работе Московского городского координационного центра органного донорства (МГКЦОД) и НМИЦ ТИО имени академика В.И. Шумакова, коренным образом изменили трансплантацию сердца в РФ, сделав ее более доступной в условиях, когда численность «идеальных» доноров в дальнейшем будет только снижаться.

МЕДИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭФФЕКТИВНЫХ ДОНОРОВ СЕРДЦА

Доноры сердца в 2012–2017 гг., соответствуя заявленной выше тенденции изменений всего донорского пула, также претерпели изменения. На рис. 8 представлено процентное соотношение основных причин смерти доноров сердца, вошедших в исследование. В 2012 г. преобладали доноры сердца с ЧМТ, составляющие 61,8% vs 38,2% доноров, умерших от ОНМК. К 2015 г. количество доноров с обеими нозологиями стало равным, и в 2017 г. доноров, умерших вследствие ЧМТ, становится меньше в 3,7 раза относительно 2012 г., а удельный вес доноров с ОНМК возрастает до 83,2%.

По данным регистра International Society for Heart and Lung Transplantation (ISLHT), Международного сообщества по трансплантации сердца и легких, в мире за период 2010–2018 гг. отмечается снижение численности доноров сердца, умерших от ЧМТ, с 48,8 до 40,5%, и увеличения доноров сердца, погибших вследствие аноксического повреждения головного мозга, с 7,7 до 21,5% [7].

Возраст ЭД сердца, включенных в исследование, соответствует тенденции старения всего пула доноров. Если в 2012 г. 85,3% от общего числа ЭД сердца составляли доноры до 50 лет, то в 2017 г., их удельный вес составил 50,4% наряду с увеличением количества доноров старшей возрастной группы 51–60 лет до 41,6% vs 14,7% в 2012 г. Впервые в РФ в 2017 г. доноры сердца, чей возраст находился в диапазоне 61–69 лет, составили 7,1% от общего пула ЭД сердца. Кроме того, в 2017 г. отмечен 1 случай

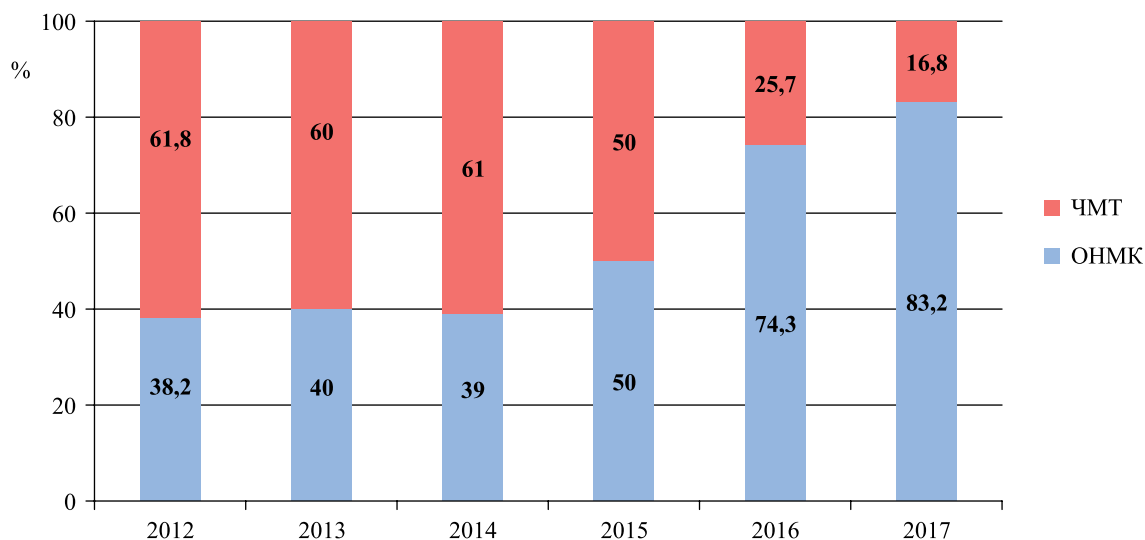


Рис. 8. Процентное соотношение основных причин смерти доноров сердца в 2012–2017 гг.

Fig. 8. Percentage of major causes of death of heart donors in 2012–2017.

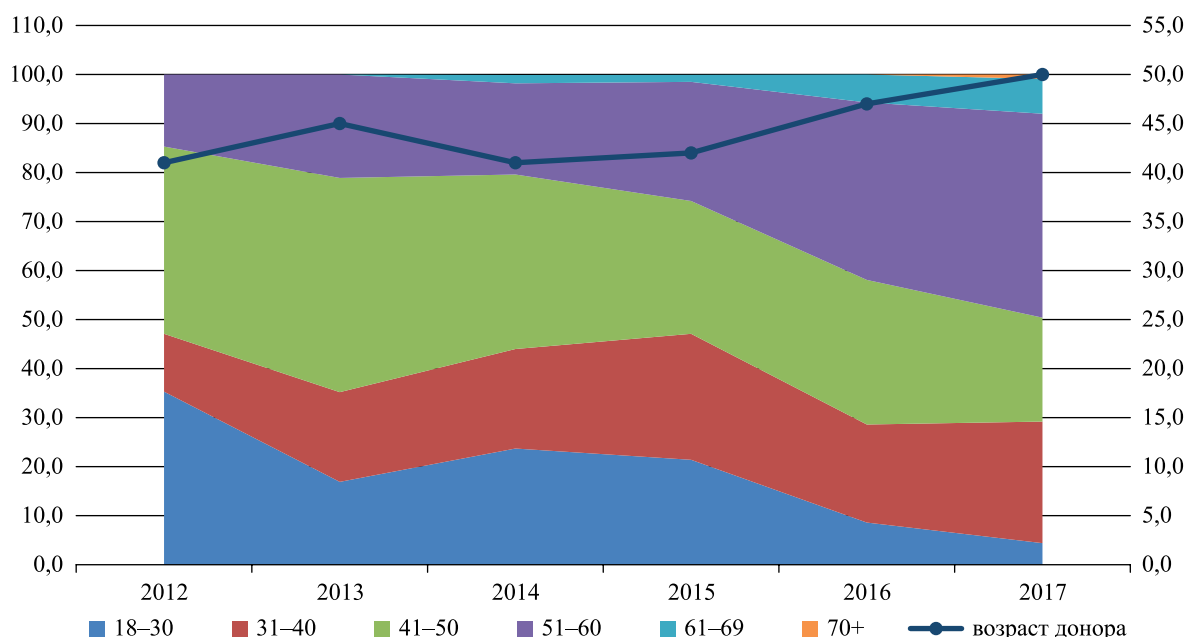


Рис. 9. Динамика удельного веса (%) возрастных групп ЭД сердца; медиана возраста (лет) ЭД сердца в 2012–2017 гг. в городе Москве

Fig. 9. Dynamics of the specific weight (%) of age groups of heart ED; median age (years) of heart ED in 2012–2017 in Moscow

эксплантации сердца от донора возрастной группы 70+. Медиана возраста ЭД сердца за 6 лет увеличилась с 41 до 50 лет (рис. 9.) В общемировой практике за аналогичный период также отмечается рост численности доноров старшей возрастной группы, но все же большее число, около 70% от общего числа ЭД сердца, составляют доноры до 40 лет. Медиана возраста ЭД доноров сердца в мире с 2012-го по 2017 г. остается на уровне 32 лет [7].

Если говорить о гендерном распределении эффективных доноров сердца, то отмечается стойкое преобладание доноров мужского пола. В 2017 г. доноров-мужчин было в 2,9 раза больше, чем доноров-женщин, в доле соотношения доноры-мужчины составили 75,2% (рис. 10). По данным ISLHT, в период 2009–2016 гг. число доноров мужского пола в Европе составило 62,4%, в Северной Америке – 70,1%, в других странах 78,3% [7]. Преобладание доноров-

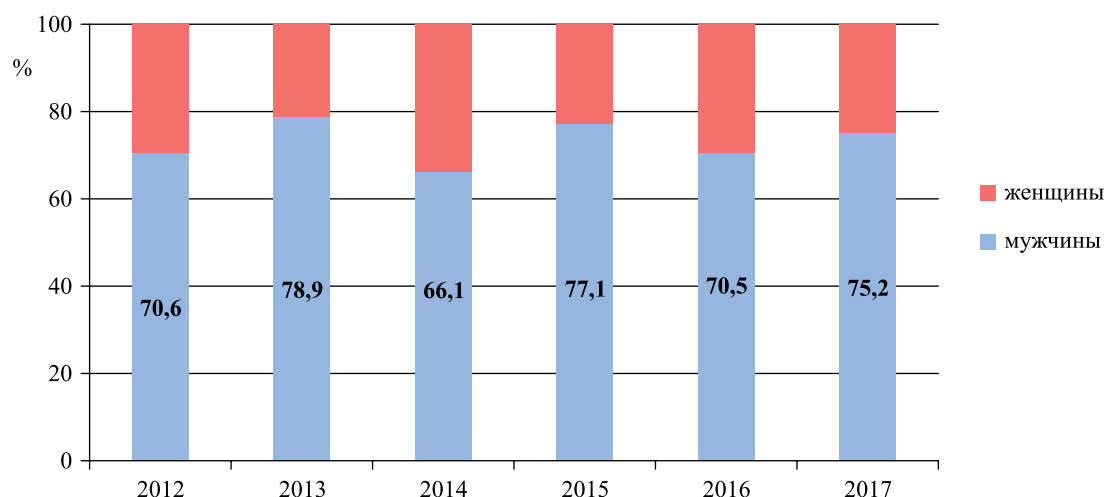


Рис. 10. Процентное соотношение доноров сердца мужского и женского пола в 2012–2017 гг.

Fig. 10. Percentage of male and female heart donors in 2012–2017

мужчин можно рассматривать как положительный фактор, влияющий на выживаемость реципиентов мужского пола, поскольку, по данным E.S. Weiss (2009), мужчины, получившие сердце от доноров мужского пола, имели самую высокую кумулятивную выживаемость за 5 лет [10].

Представленные характеристики доноров сердца в Москве в целом повторяют тенденцию изменений донорского пула в общемировом масштабе, а по ряду характеристик даже превосходят ее, в частности по возрасту эффективных доноров сердца. С учетом полученных данных, чрезвычайную актуальность приобретает разработка специального инструмента (математической модели), которая позволит на этапе донорства органов дать объективную оценку донорскому сердцу с учетом максимального количества доступных для исследования факторов донора. Следуя цели разработки такой модели, нами произведен отбор ряда донорских факторов риска, которые могли стать причиной отказа от донорского сердца.

АНАЛИЗ ПРИЧИН ОТКАЗОВ ОТ ДОНОРСКОГО СЕРДЦА

Для исследования были отобраны донорские факторы, не поддающиеся коррекции – возраст, причина смерти, пол, ГБ, СД, и факторы, определяющие состояние гомеостаза донора – САД, рН, лактат, Na и глюкоза крови, доза вазопрессорной поддержки.

В таблице представлено число отказов от донорского сердца (%) в зависимости от присутствия/отсутствия донорского фактора. В процессе анализа выявлен линейный рост числа отказов от донорского сердца с увеличением возраста донора. В возрастной группе «41–50» доля отказа составляет 27,5, в группе «51–60» – 41,4, а в группе возрастных доноров «60+» увеличивается до 57,9%. Расширение критериев се-

лекции доноров сердца способствовало снижению числа отказов от доноров, умерших в результате ОНМК, что сделало разницу по отказам от доноров, умерших от ЧМТ, сопоставимой, 33,6 vs 25,1 соответственно. Показатель САД существенно не влиял на процент отказов от донорского сердца, тогда как рост важнейшего показателя гомеостаза – лактата крови был сопряжен с увеличением числа отказов от донорского сердца. У доноров с лактатом крови в диапазоне 6–13 ммоль/л (выше нормы в 3–6 раз) отказ от сердца составлял 37,5%. Не выявлено существенной разницы в частоте отказов от донорского сердца в зависимости от показателя рН. Удельный вес отказов при низких значениях рН незначительно выше (32,3%) такового при нормализации показателя (28,9%). Не выявлено существенной разницы в количестве отказов от донорского сердца в зависимости от значения Na крови, как при нормальных, так и при повышенных его значениях удельный вес отказов в среднем составлял 28,7%. Наличие в анамнезе у доноров СД не оказало существенного влияния на число отказов. Вместе с тем изолированно показатели глюкозы крови выше 10,9 ммоль/л послужили причиной отказа от донорского сердца в 32,6%. Выявлено увеличение числа отказов от донорского сердца, связанное с возрастанием дозы вазопрессорной поддержки (НА), при ее минимальных значениях – до 100 нг/кг/мин – принималось решение об отказе в 20,6% случаях, при увеличении скорости введения свыше 800 нг/кг/мин доля отказа составляла 35,2%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На фоне роста донорской активности в городе Москве отмечается увеличение числа трансплантаций сердца, наиболее значимое в НМИЦ ТИО имени академика В.И. Шумакова. Результаты изучения

Таблица

Исследуемые донорские факторы и процентное соотношение отказов от донорского сердца
The studied donor factors and the percentage of refusals from the donor heart

Донорские факторы	Общее число доноров с СМ	Группа 1 (сердце было эксплантировано)	Группа 2 (сердце не было эксплантировано)	Отказ от донорского сердца, %
Возраст донора, лет				
18–30	78	67	11	14,1
31–40	113	96	17	15,9
41–50	193	139	54	27,5
51–60	227	133	94	41,4
61–69	38	16	22	57,9
70+	1	1	0	0,0
Причина смерти				
ЧМТ	239	179	60	25,1
ОНМК	411	273	138	33,6
Пол				
Муж.	464	329	135	29,1
Жен.	186	123	63	33,9
Гипертоническая болезнь				
Да	364	231	133	36,5
Нет	286	221	65	22,7
Сахарный диабет				
Да	155	124	31	15,7
Нет	495	328	167	33,7
Среднее артериальное давление (САД), мм рт. ст.				
≤60	46	31	15	32,6
≥61	604	421	183	30,3
pH, ммоль/л				
≤7,0–7,2	31	21	10	32,3
≥7,3	582	414	168	28,9
Нет данных	37	17	20	
Лактат, ммоль/л				
0,1–2,2	229	165	64	27,9
2,3–5,9	179	132	47	26,3
6,0–13,0	40	25	15	37,5
>13,0	5	3	2	40,0
Нет данных	197	127	70	
Na, ммоль/л				
120–135	66	47	19	28,8
136–145	293	204	89	30,4
146–155	133	94	39	29,3
≥156	122	90	32	26,2
Нет данных	36	17	19	
Глюкоза, ммоль/л				
≤8,3	213	153	60	28,2
8,4–10,9	161	118	43	26,7
>10,9	221	149	72	32,6
Нет данных	55	32	23	
Норадреналин (НА), нг/кг/мин				
<100	44	35	9	20,6
100–400	182	129	53	29,1
401–800	166	119	47	28,3
>800	111	72	39	35,2
Нет данных	11	7	4	

медико-эпидемиологических характеристик доноров показывают, что без взвешенного пересмотра критериев селекции донора эффективность оказания трансплантологической помощи не только при трансплантации сердца, но и при других видах трансплантации, будет находиться на минимальном уровне, а число реципиентов в листе ожидания и сроки ожидания донорских органов будут расти. С целью совершенствования оказания трансплантологической помощи необходим тщательный анализ характеристик доноров и их влияния на пригодность донорского сердца для трансплантации. В статье представлены начальные результаты такого анализа, показавшего идентичность российских и зарубежных практик и тенденций в трансплантации сердца, и необходимость продолжения научного исследования донорских критериев с целью создания собственного эффективного инструмента оценки донорского сердца.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Rudge C, Matesanz R, Delmonico FL, Chapman J. International practices of organ donation. *Br J Anaesth*. 2012; 108: i48–55. <https://doi.org/10.1093/bja/aer399>.
2. Приказ МЗ РФ от 25.12.2014 № 908н «О порядке установления диагноза смерти мозга человека», зарегистрирован в Минюсте РФ 12.05.15 № 37230, вступил в силу с 01.01.2016. *Prikaz MZ RF ot 25.12.2014 № 908n «O poryadke ustanovleniya diagnoza smerti mozga cheloveka», zaregistrirovan v Minyuste RF 12.05.15 № 37230, vstupil v silu s 01.01.2016.* <https://minjust.consultant.ru/documents/14630>.
3. <https://mosstat.gks.ru/folder/64634>.
4. Приказ Департамента здравоохранения города Москвы от 19.10.2017 № 737 «Об организации медицинской деятельности, связанной с донорством органов человека и оказанием медицинской помощи по профилю «хирургия» (трансплантация органов и тканей человека) в городе Москве». *Prikaz Departamenta zdravookhraneniya goroda Moskvy ot 19.10.2017 № 737 «Ob organizatsii meditsinskoy deyatel'nosti, svyazannoy s donorstvom organov cheloveka i okazaniem meditsinskoy pomoshchi po profilu «khirurgiya» (transplantatsiya organov i tkaney cheloveka) v gorode Moskve».* <https://www.mos.ru/dzdrav/documents/departament-acts/view/211382220/>.
5. Минина МГ. Разработка и внедрение в практику здравоохранения инновационной модели донорства органов: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2016. 46.
6. Minina MG. *Razrabotka i vnedrenie v praktiku zdravookhraneniya innovatsionnoy modeli donorstva organov: Avtoref. dis. ... d-ra med. nauk. M., 2016. 46.*
7. www.Eurotransplant.org.
8. <https://ishlt.org/>.
9. Попцов ВН, Спирина ЕА, Колоскова НН, Масютин СА, Ухренков СГ, Догонашева АА. Трансплантация сердца от доноров старших возрастных групп. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2017; 19 (1): 89–102. *Poptsov VN, Spirina EA, Koloskova NN, Masyutin SA, Ukhrenkov SG, Dogonashева AA. Heart transplantation from older donors. Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2017; 19 (1): 89–102. [In Russ. English abstract]. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2017-1-89-102>.
10. Попцов ВН, Спирина ЕА, Пчельников ВВ, Хатуцкий ВМ, Алиев ЭЗ, Воронков ВЮ и др. Трансплантация сердца от доноров, перенесших сердечно-легочную реанимацию. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2019; 21 (2): 23–30. *Poptsov VN, Spirina EA, Pchelnikov VV, Khatutsky VM, Aliev EZ, Voronkov VYu et al. Heart transplantation from cardiac arrest-resuscitated donors. Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2019; 21 (2): 23–30. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2019-2-23-30.
11. Weiss ES, Allen JG, Patel ND, Russell SD, Baumgartner WA, Shah AS et al. The impact of donor-recipient sex matching on survival after orthotopic heart transplantation: analysis of 18,000 transplants in the modern era. *Cir Heart Fail*. 2009; 2 (5): 401–408.

*Статья поступила в редакцию 13.07.2020 г.
The article was submitted to the journal on 13.07.2020*

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ КАРДИОРЕСПИРАТОРНОЙ СИСТЕМЫ ПОСЛЕ ОРТОТОПИЧЕСКОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА С ДЛИТЕЛЬНОЙ ХОЛОДОВОЙ ИШЕМИЕЙ ТРАНСПЛАНТАТА

И.Ю. Логинова, О.В. Каменская, А.В. Фомичев, Д.В. Доронин, А.М. Чернявский, В.В. Ломиворотов

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина» Минздрава России, Новосибирск, Российская Федерация

Цель. Оценка функционального состояния кардиореспираторной системы в отдаленные сроки после ортотопической трансплантации сердца (ТС) с длительной холодовой ишемией трансплантата. **Материалы и методы.** Проанализированы результаты 60 ортотопических ТС, выполненных в ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России. Проведено сравнение непосредственных и отдаленных результатов ТС в группах с холодовой ишемией трансплантата менее 240 минут и при дистанционном изъятии с холодовой ишемией 240 минут и более. В отдаленные сроки после ТС всем пациентам проведено кардиопульмональное нагрузочное тестирование, бодиплетизмография, оценка диффузионной способности легких, оценка качества жизни. **Результаты.** Длительная холодовая ишемия донорского сердца показала негативное влияние на ранний послеоперационный период ТС в виде снижения сократительной способности миокарда в первые сутки после операции и увеличения длительности инотропной поддержки. При этом выживаемость и частота развития реакций отторжения трансплантата в ранние и отдаленные сроки после ТС в изучаемых группах значимо не различалась. Пиковое потребление кислорода в отдаленные сроки после ТС в общей группе составило 17 (14,7–21,0) мл/мин/кг, VE/VCO_2 slope – 30 (29–36) при пороговой мощности нагрузки 100 (90–120) Вт. Все параметры легочных функциональных тестов не имели значимых отличий в зависимости от длительности холодовой ишемии. Качество жизни также не показало значимых различий в зависимости от длительности ишемии трансплантата как по физическому, так и психоэмоциональному компонентам здоровья опросника SF-36. **Заключение.** Длительная холодовая ишемия трансплантата не показала отрицательного влияния на функциональное состояние кардиореспираторной системы и качество жизни в отдаленные сроки после ТС. Изучаемая группа реципиентов характеризовалась высокой эффективностью легочной вентиляции и газообмена, а также высокой толерантностью к физическим нагрузкам в отдаленные сроки после ТС.

Ключевые слова: трансплантация сердца, время холодовой ишемии, кардиопульмональное нагрузочное тестирование.

FUNCTIONAL STATE OF THE CARDIORESPIRATORY SYSTEM AFTER ORTHOTOPIC HEART TRANSPLANTATION WITH PROLONGED COLD ISCHEMIA TIME

I.Yu. Loginova, O.V. Kamenskaya, A.V. Fomichev, D.V. Doronin, A.M. Chernyavskiy, V.V. Lomivorotov

Meshalkin National Medical Research Center, Novosibirsk, Russian Federation

Objective: to assess the functional state of the cardiorespiratory system in the long term after orthotopic heart transplantation (HT) with prolonged cold ischemia time. **Materials and methods.** The results of 60 orthotopic HTs performed at Meshalkin National Medical Research Center were analyzed. A comparison was made of the

Для корреспонденции: Логинова Ирина Юрьевна. Адрес: 630055, Новосибирск, ул. Речкуновская, 15.
E-mail: i_loginova@meshalkin.ru

Corresponding author: Irina Loginova. Address: 15, Rechkunovskaya str., Novosibirsk, 630055, Russian Federation.
E-mail: i_loginova@meshalkin.ru

immediate and long-term outcomes of HTs in the group with cold ischemia time lasting for less than 240 minutes and in those with farther distance between donor and recipient sites with cold ischemia time of 240 minutes or more. In the long-term follow-up after HT, all patients underwent cardiopulmonary exercise testing, body plethysmography, assessment of the diffusing capacity of the lungs, and quality of life assessment. **Results.** Prolonged cold ischemia showed a negative effect on the early postoperative period – decreased myocardial contractility on postoperative day 1 and longer duration of inotropic support. At the same time, the survival rate and incidence of graft rejection reactions in the early and late post-HT periods in the studied groups did not differ significantly. Peak oxygen consumption in the general group in the long term after HT was 17 (14.7–21.0) mL/kg/min, VE/VCO₂ slope was 30 (29–36) at 100 (90–120) W threshold load power. All the parameters of pulmonary function tests did not differ significantly depending on cold ischemia duration. Quality of life also did not show significant differences depending on the duration of graft ischemia in terms of both physical and psycho-emotional health components of the SF-36 questionnaire. **Conclusion.** Long-term cold ischemia of the graft did not show any negative impact on the functional state of the cardiorespiratory system and quality of life in the long term after HT. The studied group of recipients was characterized by high efficiency of pulmonary ventilation and gas exchange, as well as high tolerance to physical activity in the long-term post-HT period.

Keywords: heart transplantation, cold ischemia time, cardiopulmonary exercise testing.

ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация сердца (ТС) является «золотым стандартом» лечения терминальной сердечной недостаточности [1]. По данным международных регистров, выживаемость в первый год после ТС в настоящее время составляет 85–93%, десятилетняя выживаемость – 69% [2].

Несмотря на развитие законодательной базы органного донорства и повышение эффективности организационной работы службы трансплантации, сохраняется значительный дефицит донорских органов, что заставляет возвращаться к вопросу расширения критериев органного донорства, в частности использованию органов с длительной холодовой ишемией [2, 3]. Так, помимо работ отдельных авторов [4–6], в отчете Международного общества по трансплантации сердца и легких 2017 года тема длительности ишемии трансплантата была выделена как приоритетная для дальнейшего изучения [2].

Время ишемии трансплантата зависит от многочисленных логистических и технических факторов. Рекомендуемая максимальная длительность холодовой ишемии донорского сердца составляет 240 минут [7, 8]. Увеличение ишемического времени влияет на жизнеспособность трансплантата и, по мнению многих авторов, повышает риск неблагоприятного исхода ТС [4, 7]. Однако ряд исследований показали, что пролонгированное время холодовой ишемии не оказывает значимого влияния на ранние и отдаленные результаты ТС [9, 10]. В том числе описаны случаи с предельно длительной ишемией донорского органа и удовлетворительными результатами ТС в долгосрочном периоде наблюдения [5, 10].

Таким образом, результаты исследований по влиянию длительности ишемии трансплантата на исход ТС неоднозначны. Представляет интерес проведение дальнейших исследований этого вопроса, включая оценку функционального состояния организма ре-

ципиентов в долгосрочном периоде наблюдения. Целью данного исследования явилась оценка функционального состояния кардиореспираторной системы в отдаленные сроки после ортотопической ТС с длительной холодовой ишемией трансплантата.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование вошли 60 пациентов, перенесших ТС в ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России с 2013 года по настоящее время. Исследование было выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинкской декларации. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом. До включения в исследование у всех пациентов было получено письменное информированное согласие.

Критерием включения явилась перенесенная ТС. К критериям исключения из исследования относили: отказ от участия в исследовании, возраст младше 18 лет, опорно-двигательные нарушения, затрудняющие выполнение кардиопульмонального нагрузочного теста (КПНТ).

Ортотопическая ТС была выполнена по классической бикавальной технологии. Изъятие сердца выполнялось стандартным методом, с консервацией холодным кардиopleгическим раствором «Кустодиол». В ряде случаев использовались донорские сердца из отдаленных регионов: Алтайский край, Кемеровская область, Красноярский край.

В послеоперационном периоде все реципиенты получали комбинированную иммуносупрессивную терапию, которая включала ингибитор кальциневрина (циклоспорин 4–6 мг/кг/день или такролимус 0,05–0,1 мг/кг/день), микофенолат и преднизолон 1 мг/кг/день с постепенным снижением дозы до 0,1–0,2 мг/кг/день. Целевой уровень циклоспорина составлял 250–300 нг/мл, концентрация такроли-

муса – 15–20 нг/мл с постепенным снижением терапевтической концентрации в отдаленных сроках после ТС.

Протокол обследования после ТС включал вирусологическое и бактериологическое обследование, общий клинический и биохимический анализ крови, определение концентрации такролимуса и циклоспорина в крови, показателей гемокоагуляции, общий анализ мочи. Проводили электро- и эхокардиографическое исследование, КПНТ, эндомиокардиальную биопсию с морфологическим и иммуногистохимическим анализом, коронароангиографию. Эндомиокардиальная биопсия в первые 2 месяца после трансплантации проводилась каждые 10 суток, затем через 3 месяца и в дальнейшем 1 раз в год. Степень отторжения трансплантата определялась в соответствии с рекомендациями Международного общества трансплантации сердца и легких.

В анализ были включены антропометрические, демографические параметры, функциональный класс (ФК) стенокардии по классификации NYHA, наличие в анамнезе перенесенных инфаркта миокарда, острого нарушения мозгового кровообращения, предшествующих кардиохирургических операций, показатели сократительной способности миокарда, наличие сопутствующей патологии. Интраоперационные характеристики включали длительность искусственного кровообращения, окклюзии аорты, общую длительность хирургического вмешательства, длительность холодовой ишемии трансплантата. В раннем послеоперационном периоде анализировались длительность нахождения в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), необходимость и длительность инотропной поддержки, продленной искусственной вентиляции легких, необходимость механической поддержки кровообращения, сократительная способность миокарда (первые сутки после ТС), неблагоприятные исходы, включая дисфункцию трансплантата и госпитальную летальность. В отдаленном периоде наблюдения оценивали выживаемость, случаи сердечно-сосудистых катастроф, повторные кардиохирургические вмешательства, наличие и степень выраженности отторжения трансплантата, сократительную способность миокарда, параметры легочных функциональных тестов, включая КПНТ, качество жизни.

КПНТ проводился на велоэргоспирометрической системе OXYCON Pro (Jaeger, Германия) с использованием RAMP-протокола до достижения максимального потребления кислорода или возникновения лимитирующих симптомов, с последующим периодом восстановления. В анализ были включены следующие параметры КПНТ: пороговая мощность нагрузки (Вт), пиковое потребление кислорода (VO_2 peak, мл/мин/кг) и его метаболический эквивалент (MET, усл. ед.), дыхательный коэффициент (RER),

вентиляторный эквивалент по углекислому газу (VE/VCO_2 slope), кислородный пульс при максимальной нагрузке (O_2 -пульс), парциальное давление углекислого газа в конечной порции выдоха ($PetCO_2$, мм рт. ст.) в покое и на уровне анаэробного порога, время восстановления потребления кислорода и частоты сердечных сокращений. Уровень анаэробного порога определен по методу V-slope. С помощью пульсоксиметрии измеряли артериальную сатурацию (%).

С применением методов бодиплетизмографии и оценки диффузионной способности легких (Master Screen, Jaeger, Германия) исследовались абсолютные и отнесенные к должным величинам (с учетом антропометрических параметров и возраста) показатели функции внешнего дыхания. В анализ включены объем форсированного выдоха за первую секунду (FEV_1 , л), индекс Тиффно (%), диффузионная способность легких (DLCO, ммоль/л/кПа).

Качество жизни анализировали по результатам опросника SF-36, для анализа использовали суммарные шкалы, характеризующие физический компонент здоровья и психоэмоциональный компонент здоровья.

Статистический анализ полученных результатов проведен с использованием пакета статистических программ Statistica 6.1 (StatSoft, США). Количественные переменные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха ($Me (Q_{25}-Q_{75})$), качественные переменные – в виде частоты встречаемости и/или процентного отношения. Межгрупповое сравнение показателей производили по критерию Манна–Уитни или с помощью точного критерия Фишера. Кривые выживаемости построены по методу Каплана–Майера с оценкой достоверности различий по критерию log-rank. Значение $p < 0,05$ считали статистически значимым для всех видов анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для оценки влияния длительности холодовой ишемии трансплантата на результаты ТС все пациенты были разделены на две группы: в первой группе длительность ишемии трансплантата составила менее 240 минут, во второй, с дистанционным изъятием – 240 минут и более. Исходная характеристика реципиентов представлена в табл. 1. Средний возраст, антропометрические показатели, наличие сопутствующей патологии не различались в исследуемых группах. В обеих группах отмечено некоторое преобладание пациентов мужского пола.

Среди предшествующих кардиохирургических вмешательств преобладала чрескожная транскатетерная ангиопластика со стентированием пораженных коронарных артерий. У 8 пациентов до трансплантации сердца по жизненным показаниям устанавливалась система обхода левого желудочка.

Таблица 1

Исходная характеристика реципиентов
Baseline recipient characteristics

Параметр		Общая группа (n = 60)	Длительность холодовой ишемии трансплантата		p
			Длительность ишемии <240 минут (n = 35)	Длительность ишемии ≥240 минут (n = 25)	
Возраст, годы		42 (33–50)	46 (40–51)	40 (30–48)	0,093
Мужской пол, n (%)		50 (83%)	31 (89%)	19 (76%)	0,062
Индекс массы тела, кг/м ²		27 (19–33)	26 (19–31)	27 (20–34)	0,288
Этиология	ишемическая, n (%)	24 (40%)	14 (40%)	10 (40%)	0,545
	неишемическая, n (%)	36 (60%)	21 (60%)	15 (60%)	
Функциональный класс по классификации NYHA	III, n (%)	39 (65%)	20 (57%)	19 (76%)	0,324
	IV, n (%)	21 (35%)	15 (43%)	6 (24%)	
Острый инфаркт миокарда в анамнезе, n (%)		8 (13%)	5 (14%)	3 (12%)	0,683
Острое нарушение мозгового кровообращения в анамнезе, n (%)		9 (15%)	6 (17%)	3 (12%)	0,256
Сахарный диабет, n (%)		3 (5%)	2 (6%)	1 (4%)	0,692
Хронические заболевания легких, n (%)		2 (3%)	1 (3%)	1 (4%)	0,643
Хроническая болезнь почек >C3A ст., n (%)		1 (1,5%)	1 (3%)	0 (0%)	0,380
Предшествующая установка INCOR, n (%)		8 (13%)	4 (11%)	4 (16%)	0,150
Предшествующие кардиохирургические вмешательства, n (%)		23 (38%)	13 (37%)	10 (40%)	0,412
Фракция выброса левого желудочка, %		22 (19–25)	20 (18–26)	22 (19–24)	0,443
Фракционное изменение площади правого желудочка, %		30 (20–38)	31 (18–36)	33 (25–39)	0,267
Систолическое давление в легочной артерии, мм рт. ст.		40 (33–48)	42 (35–50)	39 (30–48)	0,252
Длительность нахождения в листе ожидания, сутки		240 (48–376)	240 (143–359)	239 (24–368)	0,592

На фоне отсутствия различий в исходном клинико-функциональном состоянии пациентов и параметров интраоперационного периода обращают на себя внимание различия в характеристиках раннего послеоперационного периода (табл. 2). Так, в группе дистанционного изъятия трансплантата длительность инотропной поддержки была достоверно выше. В первые сутки после ТС отмечено достоверное снижение сократительной способности миокарда с последующим восстановлением до нормальных значений к 5–7-м суткам после операции.

В результате первичной дисфункции трансплантата умер один пациент из группы с длительностью ишемии трансплантата менее 240 минут. Общая 30-дневная летальность составила 8% (5 пациентов), без значимых различий между группами. В 4 случаях летальность не была связана с дисфункцией трансплантата.

Отдаленный период наблюдения после ТС в среднем составил 3,0 (1,9–4,8) года (табл. 3). Большинство пациентов составили I–II ФК по классификации NYHA. Сократительная способность миокарда в отдаленном периоде после ТС соответствовала нормальным значениям, без значимых отличий между группами.

За период наблюдения у двух пациентов развился сахарный диабет, в одном случае – болезнь коронарных сосудов трансплантированного сердца, потребовавшая эндоваскулярного хирургического вмешательства.

Реакция отторжения трансплантата 3А–3Б степени зарегистрирована у 1 пациента в течение первого года после ТС, 2А–2Б степени – у 7 пациентов. Отторжение успешно купировано после проведения пульс-терапии метилпреднизолоном в дозе 1000 мг/сутки в течение 3 суток с последующим контролем эндомиокардиальной биопсии. Реакция отторжения трансплантата 1А–1Б была зарегистрирована у 6 пациентов и не потребовала радикальной коррекции иммуносупрессивной терапии. Общая летальность составила 13%, без значимых отличий между группами (рис. 1). Все случаи летальности в отдаленном периоде наблюдения не были связаны с дисфункцией трансплантата.

На фоне улучшения состояния гемодинамики после ТС у всех пациентов отмечена высокая толерантность к физическим нагрузкам (табл. 4).

Параметры легочной вентиляции и газообмена, в том числе при провокации физической нагрузкой, не отличались у пациентов с дистанционным изъятием

Таблица 2

**Интраоперационные характеристики и ранний послеоперационный период
после ортотопической трансплантации сердца**

**Intraoperative characteristics and the early postoperative period
after orthotopic heart transplantation**

Параметр	Общая группа (n = 60)	Длительность холодовой ишемии трансплантата		
		Длительность ишемии <240 минут (n = 35)	Длительность ишемии ≥240 минут (n = 25)	p
Длительность ишемии трансплантата, мин	210 (175–340)	180 (158–190)	350 (300–430)	<0,001
Длительность искусственного кровообращения, мин	191 (165–240)	182 (156–210)	193 (184–241)	0,624
Длительность окклюзии аорты, мин	105 (90–130)	102 (94–126)	105 (86–128)	0,814
Общая длительность операции, мин	420 (360–525)	395 (360–510)	460 (330–540)	0,326
Длительность пребывания в ОРИТ, сут	8 (6–10)	7 (6–10)	9 (5–10)	0,375
Длительность инотропной поддержки, ч	72 (34–96)	56 (34–77)	96 (57–139)	0,014
Длительность ИВЛ >24 ч, n (%)	9 (15%)	4 (11%)	5 (20%)	0,245
Использование МПК после операции, n (%)	6 (10%)	1 (3%)	5 (20%)	0,032
Повторные хирургические вмешательства, n (%)	8 (13%)	5 (14%)	3 (12%)	0,221
Фракция выброса левого желудочка, %	59 (45–63)	62 (58–65)	56 (43–58)	0,030
Фракционное изменение площади правого желудочка, %	40 (36–45)	46 (40–51)	37 (32–40)	0,017
Систолическое давление в легочной артерии, мм рт. ст.	30 (26–35)	29 (24–33)	33 (27–38)	0,269
Первичная дисфункция трансплантата, n (%)	8 (13%)	3 (8,6%)	5 (20%)	0,163
Летальность, ассоциированная с первичной дисфункцией трансплантата, n (%)	1 (1,7%)	1 (2,9%)	0 (0%)	0,361
30-дневная летальность, n (%)	5 (8%)	2 (5,7%)	3 (12%)	0,502

Таблица 3

**Клинико-функциональная характеристика пациентов в отдаленные сроки
после ортотопической трансплантации сердца**

**Clinical and functional characteristics of patients at long-term follow-up
after orthotopic heart transplantation**

Параметр		Общая группа (n = 60)	Длительность холодовой ишемии трансплантата		p
			Длительность ишемии <240 минут (n = 35)	Длительность ишемии ≥240 минут (n = 25)	
Длительность наблюдения, годы		3,0 (1,9–4,8)	3,0 (1,7–4,8)	3,1 (1,8–4,9)	0,845
Функциональный класс по классификации NYHA	I, n (%)	13 (25%)	7 (23%)	6 (27%)	0,413
	II, n (%)	37 (71%)	21 (70%)	16 (73%)	
	III, n (%)	2 (4%)	2 (7%)	0 (0%)	
Сахарный диабет, n (%)		5 (10%)	3 (10%)	2 (9%)	0,828
Хроническая болезнь почек >C3A ст., n (%)		4 (8%)	1 (3%)	3 (14%)	0,126
Кардиохирургические вмешательства, n (%)		1 (1,9%)	1 (3%)	0 (0%)	0,551
Реакция отторжения трансплантата	1А–1Б, n (%)	6 (11,5%)	3 (10%)	3 (14%)	0,236
	2А–2Б, n (%)	7 (13,5%)	4 (13%)	3 (14%)	
	3А–3Б, n (%)	1 (1,9%)	0 (0%)	1 (4,5%)	
Летальность, n (%)		8 (13%)	5 (14%)	3 (12%)	0,575
Фракция выброса левого желудочка, %		65 (63–67)	65 (64–67)	65 (60–68)	0,501
Фракционное изменение площади правого желудочка, %		46 (42–52)	47 (45–52)	46 (39–55)	0,523
Систолическое давление в легочной артерии, мм рт. ст.		31 (28–35)	31 (28–35)	31 (30–34)	0,743

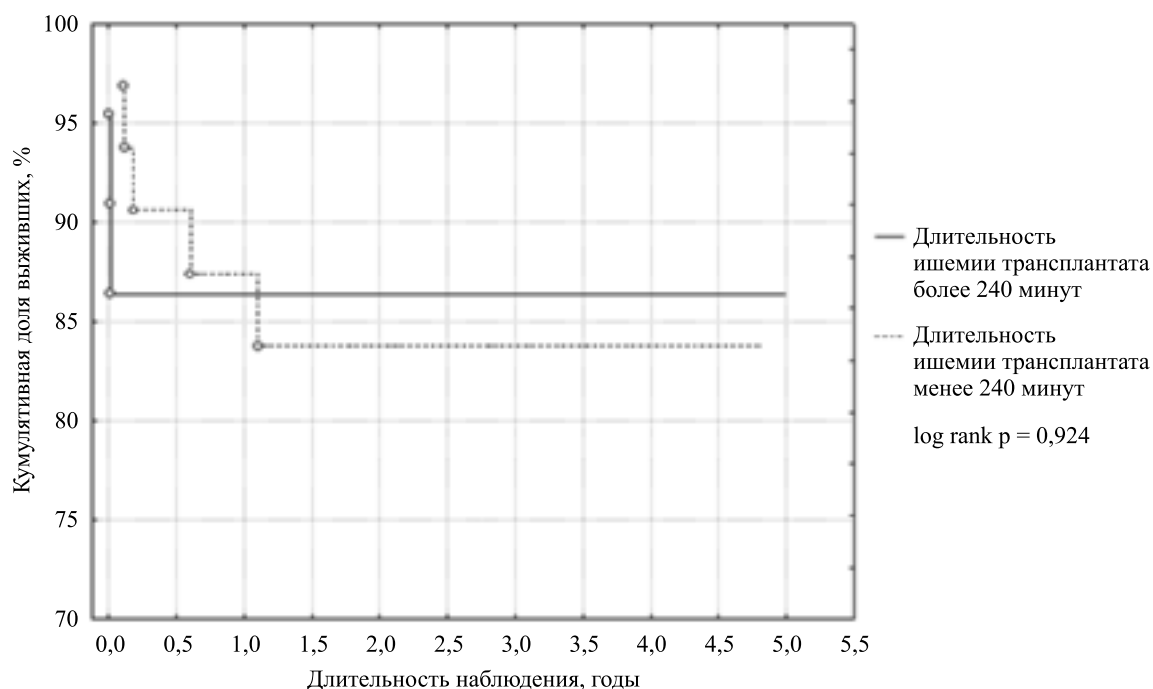


Рис. 1. Выживаемость после ортотопической трансплантации сердца в зависимости от длительности холодовой ишемии трансплантата

Fig. 1. Survival after orthotopic heart transplantation depending on the duration of cold transplant ischemia

Таблица 4

Результаты легочных функциональных тестов в отдаленные сроки после ортотопической трансплантации сердца

The results of pulmonary functional tests in the long-term follow-up after orthotopic heart transplantation

Параметр	Общая группа (n = 60)	Длительность холодовой ишемии трансплантата		
		Длительность ишемии <240 минут (n = 35)	Длительность ишемии ≥240 минут (n = 25)	p
Пороговая мощность нагрузки, Вт	100 (90–120)	110 (100–140)	100 (90–110)	0,146
VO ₂ peak, мл/мин/кг	17 (14,7–21,0)	19 (15,6–21,0)	16 (14,1–21,5)	0,269
VE/VCO ₂ slope	30 (29–36)	32 (29–36)	30 (29–36)	0,458
RER peak	1,15 (1,05–1,18)	1,11 (1,06–1,16)	1,06 (1,02–1,18)	0,433
O ₂ -пульс peak	11,4 (9,6–12,7)	11,5 (9,6–12,6)	10,9 (10,5–12,8)	0,922
MET, усл. ед.	5,2 (4,2–6,0)	5,5 (4,5–6,0)	4,6 (4,0–6,1)	0,270
PetCO ₂ на уровне анаэробного порога, мм рт. ст.	37 (35–39)	36 (35–38)	38 (33–39)	0,775
Прирост PetCO ₂ во время нагрузки, мм рт. ст.	6,3 (5,2–8,5)	5,8 (5,2–7,7)	7,0 (3,1–9,5)	0,628
Время восстановления VO ₂ , мин	6 (5–8)	7 (5–8)	6 (4–7)	0,536
Время восстановления ЧСС, мин	9 (7–10)	7 (6–10)	9 (8–10)	0,268
Артериальная сатурация, %	96 (95–97)	96 (95–97)	95 (94–97)	0,182
FEV ₁ , % от должного	95 (84–103)	98 (92–106)	93 (76–100)	0,136
Индекс Тиффно, %	81 (77–89)	82 (75–90)	81 (76–87)	0,979
DLCO, % от должного	77 (64–85)	72 (61–80)	81 (67–87)	0,859

Примечание. VO₂ – потребление кислорода; VO₂ peak – пиковое потребление кислорода; VE/VCO₂ – вентиляционный коэффициент по углекислому газу; RER peak – дыхательный коэффициент во время нагрузки; O₂-пульс – кислородный пульс во время нагрузки; MET – метаболический эквивалент; PetCO₂ – парциальное давление углекислого газа в конечной порции выдоха; ЧСС – частота сердечных сокращений; FEV₁ – объем форсированного выдоха за 1 секунду; DLCO – диффузионная способность легких.

Note. VO₂ – oxygen consumption; VO₂ peak – peak oxygen consumption; VE/VCO₂ – ventilation coefficient of carbon dioxide; RER peak – respiratory coefficient during exercise; O₂ pulse – oxygen pulse during exercise; MET – metabolic equivalent; PetCO₂ – end tidal carbon dioxide partial pressure; HR – heart rate; FEV₁ – forced expiratory volume in 1 second; DLCO – lung diffusion capacity.

трансплантата. Пиковое потребление кислорода в общей группе составило в среднем 17 (14,7–21,0) мл/мин/кг, 5,2 (4,2–6,0) МЕТ, при пороговой мощности нагрузки 100 (90–120) Вт.

Отсутствие значимых различий в исследуемых группах отмечено и для основных параметров качества жизни, которое оценивали с помощью опросника SF-36 в отдаленные сроки после ТС (рис. 2).

Уровень качества жизни в общей группе по физическому и психоэмоциональному компонентам здоровья опросника SF-36 был выше среднего и составил 53 (50–55) и 52 (50–56) балла соответственно.

Таким образом, в изучаемой группе пациентов длительная холодовая ишемия трансплантата не показала значимого влияния на функциональное состояние кардиореспираторной системы и качество жизни в отдаленные сроки после ТС.

ОБСУЖДЕНИЕ

Длительность холодовой ишемии трансплантата считается одним из важнейших факторов, определяющих эффективность ТС [2, 11, 12]. По данным многих авторов, превышение безопасного временного порога увеличивает риск развития послеоперационной дисфункции аллотрансплантата и смерти реципиента [4, 13]. Большую значимость в механизмах повреждения аллотрансплантата играют дестабилизация биологических мембран, генерация активных форм кислорода, нарушения электролитного баланса, энергообеспечения, коагуляционного гемостаза, возникающих при гипоксии и последующей реперфузии тканей [13, 14].

Тем не менее увеличение количества пациентов листа ожидания ТС диктует необходимость изменения стратегий для увеличения донорского пула. В нашем исследовании проанализированы результаты долгосрочного наблюдения после ТС в двух группах: с длительностью ишемии аллотрансплантата менее 4 часов, в среднем 180 (158–190) минут, и с превышением безопасного порога ишемии (среднее время ишемии 350 (300–430) минут).

Результаты проведенного исследования показали, что неблагоприятное влияние длительной холодовой ишемии аллотрансплантата сказывается в раннем послеоперационном периоде после ТС. Повреждение миокарда при длительной холодовой ишемии и его последующее реперфузионное повреждение привело к контрактильной дисфункции донорского сердца в первые сутки после ТС, что потребовало более длительной инотропной поддержки в группе с длительностью ишемии трансплантата более 4 часов. Следует отметить, что к окончанию госпитализации сократительная способность миокарда в данной группе соответствовала нормальным значениям и не отличалась от группы с длительностью ишемии аллотрансплантата менее 4 часов. Летальность в ис-

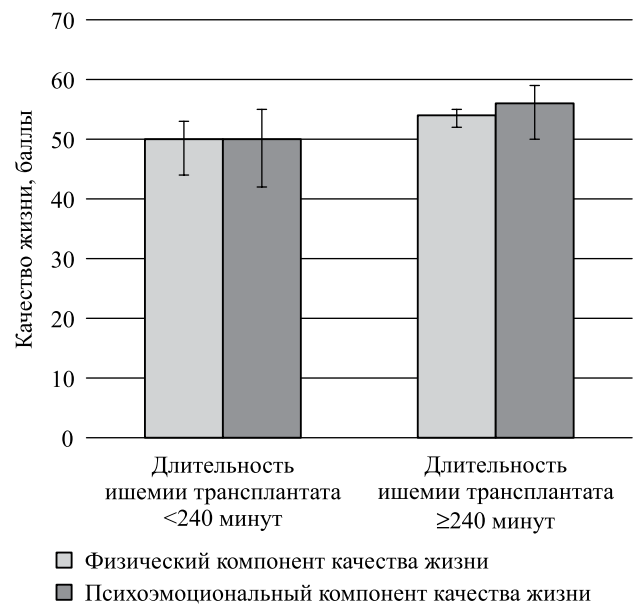


Рис. 2. Качество жизни в отдаленные сроки после ортотопической трансплантации сердца, результаты опросника SF-36

Fig. 2. Quality of life in the long-term follow-up after heart transplantation, SF-36 questionnaire results

следуемых группах в раннем послеоперационном периоде также не имела значимых различий, включая случаи, ассоциированные с первичной дисфункцией трансплантата. Эти данные сопоставимы с результатами других исследователей [15].

Многочисленные работы показывают улучшение физической работоспособности, пикового потребления кислорода и других параметров легочной вентилиции и газообмена в общей когорте пациентов, перенесших ТС [16–19]. Однако при анализе влияния длительной ишемии аллотрансплантата авторы, как правило, используют только основные характеристики клинических исходов, такие как реакции отторжения трансплантата, выживаемость [4–6, 15]. В том числе в современных международных рекомендациях не анализируются потенциальные взаимодействия между ишемическим временем аллотрансплантата и характеристиками клинико-функционального состояния организма реципиента и не оценивается роль ишемического времени аллотрансплантата в каких-либо конкретных подгруппах [2].

Преимуществом нашего исследования явилась комплексная оценка функционального состояния кардиореспираторной системы в отдаленные сроки после ТС в зависимости от длительности ишемии трансплантата.

Пациенты обеих изучаемых групп в отдаленные сроки после ТС соответствовали преимущественно I–II ФК по классификации NYHA, характеризовались нормальной сократительной способностью миокарда. Не было отмечено различий в частоте развития

реакций отторжения трансплантата и выживаемости пациентов.

Нами не отмечено влияния длительности холодовой ишемии трансплантата на толерантность к физической нагрузке и другие параметры КПНТ. Все пациенты в отдаленные сроки после ТС характеризовались высокой эффективностью легочной вентиляции и газообмена, высокой физической работоспособностью. Уровень пикового потребления кислорода, равный в общей группе 17 (14,7–21,0) мл/мин/кг и VE/VCO_2 slope, равный 30 (29–36), а также прирост $PetCO_2$ во время нагрузки более 5 мм рт. ст., полученные в нашем исследовании, свидетельствуют о хорошем долгосрочном прогнозе у пациентов, перенесших ТС. Кинетика восстановления ЧСС и потребления кислорода после нагрузочного тестирования также не зависели от длительности ишемии трансплантата.

Качество жизни, являясь важным показателем эффективности лечения, в нашем исследовании не показало значимых различий в зависимости от длительности ишемии трансплантата и соответствовало в отдаленные сроки после ТС уровню выше среднего как по физическому, так и психоэмоциональному компонентам здоровья опросника SF-36.

Полученные данные сопоставимы с результатами крупных исследований. Несмотря на то что общий риск дисфункции трансплантата возрастает при увеличении длительности ишемии более 4 часов, многие авторы считают, что можно безопасно увеличить порог как минимум до 5 часов без ущерба для результатов ТС [20]. По данным других авторов, превышение безопасного временного порога имеет отрицательное значение только для аллотрансплантата, полученного от донора старшего возраста, так как из-за возрастных изменений сердце пожилого донора может быть особенно восприимчивым к гипоксическому и реперфузионному повреждению и иметь меньшую способность к регенерации [6, 21]. Кроме того, в будущем роль ишемического времени аллотрансплантата может измениться в результате возможного внедрения новых перфузионных систем сохранения донорских органов [22].

Ограничением данного исследования явилось сравнительно малое число наблюдений после ТС с длительной холодовой ишемией аллотрансплантата. Однако полученные в данной когорте пациентов результаты свидетельствуют о необходимости дальнейшего изучения данного вопроса с позиции комплексной оценки функционального состояния организма реципиентов после ТС.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В проведенном исследовании показано, что длительная холодовая ишемия донорского сердца оказывает негативное влияние на ранний послеопе-

рационный период ТС в виде снижения сократительной способности миокарда в первые сутки после операции и увеличения длительности инотропной поддержки. Выживаемость и частота реакций отторжения трансплантата в ранние и отдаленные сроки после ТС была сопоставима в группах с ишемией трансплантата менее 240 минут и при длительной ишемии более 240 минут.

Длительная холодовая ишемия трансплантата не показала отрицательного влияния на функциональное состояние кардиореспираторной системы и качество жизни в отдаленные сроки после ТС. Изучаемая группа реципиентов характеризовалась высокой эффективностью легочной вентиляции и газообмена, а также высокой толерантностью к физическим нагрузкам в отдаленные сроки после ТС.

Авторы заявляют об отсутствии

конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Гомье СВ. Инновации в трансплантологии: развитие программы трансплантологии в Российской Федерации. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2017; 21 (3S): 61–68. Gautier SV. Innovations in transplantology: heart transplantation program development in Russian Federation. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiokhirurgiya*. 2017; 21 (3S): 61–68. doi: 10.21688/1681-3472-2017-3s-61-68.
2. Chambers DC, Yusen RD, Cherikh WS, Goldfarb SB, Kucheryavaya AY, Khusch K et al. The registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-fourth adult lung and heart-lung transplantation report – 2017; Focus Theme: Allograft ischemic time. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2017; 36 (10): 1047–1059. doi: 10.1016/j.healun.2017.07.016.
3. Чернявский АМ, Фомичев АВ, Доронин ДВ, Альсов СА. Опыт трансплантации сердца с длительной холодовой ишемией трансплантата. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2019; 21 (5): 35–35. Chernyavskiy AM, Fomichev AV, Doronin DV, Alsov SA. Experience of the heart transplantation with prolonged cold transplant ischemia. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2019; 21 (5): 35–35. (In Russ.).
4. Russo MJ, Chen JM, Sorabella RA, Martens TP, Garrido M, Davies RR et al. The effect of ischemic time on survival after heart transplantation varies by donor age: An analysis of the United Network for Organ Sharing database. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2007; 133 (2): 554–559. doi: 10.1016/j.jtcvs.2006.09.019.
5. Currie ME, Shudo Y, Woo YJ. Successful outcome following orthotopic heart transplantation with a donor half way across the country. *Transplantation Proceedings*. 2018; 50 (10): 4062–4063. doi: 10.1016/j.transproceed.2018.09.014.

6. Reich HJ, Kobashigawa JA, Aintablian T, Ramzy D, Kittleson MM, Esmailian F. Effects of older donor age and cold ischemic time on long-term outcomes of heart transplantation. *Texas Heart Institute Journal*. 2018; 45 (1): 17–22. doi: 10.14503/thij-16-6178.
7. Fernandez J, Aranda J, Mabbot S, Weston M, Cintron G. Overseas procurement of donor hearts: ischemic time effect on postoperative outcomes. *Transplantation Proceedings*. 2001; 33 (7–8): 3803–3804. doi: 10.1016/s0041-1345(01)02610-0.
8. Erasmus M, Neyrink A, Sabatino M, Potena L. Heart allograft preservation. *Current Opinion in Cardiology*. 2017; 32 (3): 292–300. doi: 10.1097/hco.0000000000000395.
9. Mitropoulos FA, Odum J, Marelli D, Karandikar K, Gjertson D, Ardehali A et al. Outcome of hearts with cold ischemic time greater than 300 minutes. A case-matched study. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. 2005; 28 (1): 143–148. doi: 10.1016/j.ejcts.2005.01.067.
10. Альсов СА, Фомичев АВ, Доронин ДВ, Шмырев ВА, Осипов ДЕ, Чернявский АМ. Клинический случай трансплантации сердца с предельно длительной холодовой ишемией донорского органа. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2018; 20 (1): 110–113. Alsov SA, Fomichev AV, Doronin DV, Shmyrev VA, Osipov DE, Chernyavskiy AM. Heart transplantation with extremely extended cold ischemia time of the donor heart. *Russian Journal of Transplantation and Artificial Organs*. 2018; 20 (1): 110–113. (In Russ.) doi: 10.15825/1995-1191-2018-1-110-113.
11. Stehlik J, Edwards LB, Kucheryavaya AY, Aurora P, Christie JD, Kirk R et al. The registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Twenty-seventh official adult heart transplant report – 2010. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2010; 29 (10): 1089–1103. doi: 10.1016/j.healun.2010.08.007.
12. Nicoara A, Ruffin D, Cooter M, Patel CB, Thompson A, Schroder JN et al. Primary graft dysfunction after heart transplantation: Incidence, trends, and associated risk factors. *American Journal of Transplantation*. 2017; 18 (6): 1461–1470. doi: 10.1111/ajt.14588.
13. Yellon DM, Hausenloy DJ. Myocardial Reperfusion Injury. *New England Journal of Medicine*. 2007; 357 (11): 1121–1135. doi: 10.1056/nejmra071667.
14. Сологуб ТВ, Романцова МГ, Кремень НВ, Александрова ЛМ, Аникина ОВ, Суханов ДС и др. Свободно-радикальные процессы и воспаление (патогенетические, клинические и терапевтические аспекты). Учебное пособие для врачей. М.: Академия естествознания (2008). Sologub TV, Romancova MG, Kremen NV, Aleksandrova LM, Anikina OV, Suhanov DS et al. Svobodnoradikal'nye processy i vospalenie (patogeneticheskie, klinicheskie i terapevticheskie aspekty). Uchebnoe posobie dlja vrachej. M.: Akademija estestvoznaniya (2008).
15. Marasco SF, Esmore DS, Richardson M, Bailey M, Negri J, Rowland M et al. Prolonged cardiac allograft ischemic time – no impact on long-term survival but at what cost? *Clinical Transplantation*. 2007; 21 (3): 321–329. doi: 10.1111/j.1399-0012.2007.00644.x.
16. Guazzi M, Arena R, Halle M, Piepoli MF, Myers J, Lavie CJ. 2016 Focused Update: Clinical Recommendations for Cardiopulmonary Exercise Testing Data Assessment in Specific Patient Populations. *Circulation*. 2016; 133 (24): e694–e711. doi: 10.1161/cir.0000000000000406.
17. Tsai WJ, Tsai HY, Kuo LY, Lin YS, Chen BY, Lin WH et al. VE/VCO₂ Slope and Functional Capacity in Patients Post-Heart Transplantation. *Transplantation Proceedings*. 2018; 50 (9): 2733–17377. doi: 10.1016/j.transproceed.2018.05.010.
18. Uithoven K, Smith J, Medina-Inojosa J, Squires R, Van Iterson E, Olson T. Clinical and Rehabilitative Predictors of Peak Oxygen Uptake Following Cardiac Transplantation. *Journal of Clinical Medicine*. 2019; 8 (1): 119. doi: 10.3390/jcm8010119.
19. Логинова ИЮ, Каменская ОВ, Чернявский АМ, Доронин ДВ, Альсов СА, Ломиворотов ВН. Динамика парциального давления углекислого газа в конечной порции выдоха при кардиопульмональном нагрузочном тестировании до и после трансплантации сердца. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2019; 21 (2): 16–22. Loginova IY, Kamenskaya OV, Chernyavskiy AM, Doronin DV, Alsov SA, Lomivorotov VN. Dynamic of end-tidal carbon dioxide pressure during cardiopulmonary exercise testing before and after heart transplantation. *Russian Journal of Transplantation and Artificial Organs*. 2019; 21 (2): 16–22. (In Russ.) doi: 10.15825/1995-1191-2019-2-16-22.
20. Yeen W, Polgar A, Guglin M, Downes K, Faber C, Roy A et al. Outcomes of Adult Orthotopic Heart Transplantation With Extended Allograft Ischemic Time. *Transplantation Proceedings*. 2013; 45 (6): 2399–2405. doi: 10.1016/j.transproceed.2013.04.003.
21. Slegtenhorst BR, Dor FJ, Elkhail A, Rodriguez H, Yang X, Edtinger K et al. Mechanisms and consequences of injury and repair in older organ transplants. *Transplantation*. 2014; 97 (11): 1091–1099. doi: 10.1097/tp.0000000000000072.
22. Chew HC, Macdonald PS, Dhital KK. The donor heart and organ perfusion technology. *Journal of Thoracic Disease*. 2019; 11 (S6): S938–S945. doi: 10.21037/jtd.2019.02.59.

Статья поступила в редакцию 30.04.2020 г.
The article was submitted to the journal on 30.04.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-3-62-68

ОСОБЕННОСТИ ЛИЧНОСТНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК РЕЦИПИЕНТОВ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА

М.А. Симоненко¹, П.А. Федотов¹, П.В. Широбокова², Ю.В. Сазонова¹, М.А. Борцова¹,
А.В. Березина¹, М.А. Карпенко¹

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова»
Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

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

Цель. Исследовать личностный психологический портрет пациентов после трансплантации сердца (ТС) в качестве первого этапа разработки персонализированных программ реабилитации после пересадки сердца. **Материалы и методы.** С января 2010-го по июль 2019 г. было выполнено 129 ТС (средний возраст – $46,6 \pm 14,1$ года; 74% ($n = 95$) – мужчины, 26% ($n = 34$) – женщины). Одним из пунктов обследования в ЛОТС была консультация клинического психолога и врача-психотерапевта для исключения противопоказаний к операции. Для оценки личностных характеристик мы использовали стандартный многофакторный опросник Р. Кеттелла 16 PF (версия А), включающий в себя 187 вопросов. Критериями отбора в данное исследование были выполненная ТС и отсутствие тяжелых когнитивных нарушений, развившихся в посттрансплантационном периоде. Анкетирование пациентов проводили перед их выпиской из стационара – через 30–60 дней после ТС: в период полного восстановления после операции. В настоящем исследовании была выполнена ретроспективная оценка результатов у 107 пациентов (76 мужчин, 31 женщина). **Результаты.** При анализе личностного портрета выявлено, что более половины реципиентов были скрытными, недоверчивыми (фактор А – шизотимия) и сдержанными (фактор F – сдержанность; F2 – интроверт; F4 – конформность) с низким интеллектом (фактор В), нерешительными (фактор Н – тректия), с низким суперэго (фактор G: безответственный, неорганизованный, непостоянный, переменчивый). По нашим результатам, 47% больных (18 пациентов из 38; 22 – пенсионеры) со слабой степенью развития фактора С («Слабость Я») работают по сравнению с 42% (29 из 69; 28 – пенсионеры) с сильной степенью фактора. Через 1 год после ТС количество физически активных пациентов было больше среди отличающихся низкой тревожностью по сравнению с высоко тревожными (41% (18 из 44) и 32% (20 из 63) соответственно, $p = 0,41$). **Заключение.** Личностные характеристики – это немодифицируемые черты больных, которые влияют на их поведение, возвращение к работе и социальной жизни, а также их физическое и психологическое восстановление после ТС. Знание личностных особенностей реципиентов позволит разрабатывать персонализированный подход к их реабилитации и алгоритм своевременного обследования после ТС.

Ключевые слова: трансплантация сердца, психологическое благополучие, личностные факторы, качество жизни.

PERSONALITY FACTORS IN HEART TRANSPLANT RECIPIENTS

М.А. Simonenko¹, P.A. Fedotov¹, P.V. Shirobokova², Yu.V. Sazonova¹, M.A. Bortsova¹,
A.V. Berezina¹, M.A. Karpenko¹

¹ Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russian Federation

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

Objective: to assess the personal psychological profile of heart transplant recipients as the first stage in the development of post-transplant personalized rehabilitation programs. **Materials and methods.** From January 2010 to July 2019, 129 HTs were performed (mean age 46.6 ± 14.1 years; 74% ($n = 95$) were men, 26% ($n = 34$) were women). All patients in the heart transplant waiting list were examined by a clinical psychologist and a

Для корреспонденции: Симоненко Мария Андреевна. Адрес: 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2.
Тел. (921) 952-43-55. E-mail: dr.maria.simonenko@gmail.com, simonenko_ma@almazovcentre.ru

Corresponding author: Maria Simonenko. Address: 2, Akkuratova str., Saint-Petersburg, 197341, Russian Federation.
Phone: (921) 952-43-55. E-mail: dr.maria.simonenko@gmail.com, simonenko_ma@almazovcentre.ru

psychotherapist to exclude contraindications to transplant surgery. To assess personal traits, we used the standard multifactorial questionnaire by Cattell R., 16 PF (version A), which included 187 questions. Heart transplantation and absence of post-transplant severe cognitive impairments were the selection criteria for this study. Patients were surveyed before they were discharged from the hospital – 30–60 days following HT: during the period of complete recovery after surgery. In the present study, a retrospective assessment of the results was performed in 107 patients (n = 76 – men; n = 31 – women). **Results.** Analysis of the personality portrait revealed that over half of recipients were reserved, distant (factor A – schizothymia) and restrained (factor F – restraint; F2 – introvert; F4 – conforming) with lower mental capacity (factor B), and were shy, timid (factor H), with low super ego (factor G: irresponsible, tolerates disorder, flexible, open to change). Our results showed that 47% of patients (n = 18 out of 38 patients, n = 22 are pensioners) with a weak degree of factor C (reactive, affected by feelings) are workers to 42% (n = 29 out of 69, n = 28 – retirees) with a strong degree of the same factor. One year after HT, the number of physically active patients was higher among those with low anxiety compared with high anxiety (41% (18 of 44) and 32% (20 of 63), respectively, p = 0.41). **Conclusion.** Personality factors are non-modifiable characteristics of patients. They affect human behavior, return to work and to social life, as well as physical and psychological recovery from HT. Knowing the personal traits of recipients would allow to develop a personalized approach to their rehabilitation and a technique for timely examination after HT.

Keywords: heart transplantation, psychological well-being, personality factors, quality of life.

ВВЕДЕНИЕ

Психологические и социальные факторы у больных с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) и реципиентов перед трансплантацией сердца (ТС) приобретают особое значение и определяют комплаентность пациентов на этапе ожидания операции, в период восстановительного постоперационного лечения и реабилитации, что прямо взаимосвязано с общим клиническим прогнозом, в том числе с их выживаемостью [1]. Несмотря на то что с каждым годом количество ТС увеличивается [2] и существуют исследования, отражающие динамику качества жизни (КЖ) после операции, в настоящее время нет публикаций, посвященных особенностям личностных характеристик реципиентов после пересадки сердца.

Цель: исследовать личностный психологический портрет пациентов, которым была выполнена ТС, как первый этап разработки персонифицированных программ реабилитации после пересадки сердца.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С января 2010-го по июль 2019 г. было выполнено 129 ТС (средний возраст – $46,6 \pm 14,1$ года; 74% (n = 95) – мужчин, 26% (n = 34) – женщины), из них шесть были детьми (медиана возраста – 15 (диапазон – от 10 до 16 лет); 5 девочек, 1 – мальчик). В качестве моста к ТС 14% (n = 18) больных была имплантирована механическая поддержка кровообращения (МПК): 11 – система экстракорпоральной мембранной оксигенации (ЭКМО), 8 – бивентрикулярная система Berlin Heart «EXCOR», 1 – аппарат вспомогательного кровообращения левого желудочка (иЛЖ «АВК-Н»). Во время нахождения в листе ожидания трансплантации сердца (ЛОТС) 46 пациентов работали или учились (школа, институт) и 83 – не работали, в том числе пенсионеры. Одним из пунктов обследования

в ЛОТС была консультация клинического психолога и врача-психотерапевта для исключения противопоказаний к операции. При необходимости больным был рекомендован прием антидепрессантов. После ТС консультации клинического психолога или врача-психотерапевта проводились только по показаниям или личной просьбе пациентов: двое пациентов продолжили принимать препараты, рекомендованные в ЛОТС, и 5 препаратов были впервые назначены в сроки от 1 месяца до 5 лет после ТС.

Для оценки личностных характеристик мы использовали стандартный многофакторный опросник Р. Кеттелла 16 PF (версия А), включающий в себя 187 вопросов, предназначенный для обследования взрослых лиц, имеющих образование не ниже 8–9 классов. Результаты анкетирования позволяют оценить первичные и вторичные факторы различных личностных черт, которые имеют двойное (биполярное) название, характеризующее степень развитости черты – сильную или слабую [3]. Данное исследование проводилось в соответствии с принципами Хельсинкской декларации.

Критериями отбора в данное исследование были выполненная ТС и отсутствие тяжелых когнитивных нарушений, развившихся в посттрансплантационном периоде. Анкетирование пациентов проводили перед их выпиской из стационара – через 30–60 дней после ТС: в период полного восстановления после операции. Больные моложе 18 лет заполняли опросники только после достижения ими 16–17 летнего возраста. В настоящем исследовании была выполнена ретроспективная оценка результатов у 107 пациентов (76 мужчин, 31 женщина). В анализ не вошли 22 реципиента (17%): 10% (13 из 129) умерли в раннем послеоперационном периоде, 3% (4 из 116) не были анкетированы в связи с тяжелыми когнитивными нарушениями, развившимися после ТС, и еще пятеро

не были включены в настоящее исследование в связи с выполнением ТС менее 30 дней назад.

После выписки из стационара все реципиенты были поставлены на диспансерный учет в условиях Центра, включающий регулярное наблюдение, лабораторно-инструментальное исследование и консультации специалистов.

Статистическую обработку данных производили с использованием программы SPSS 21.0RU. Рассчитывали следующие показатели: средние значения, стандартное отклонение ($M \pm SD$). В случае малой выборки (<20) данные были представлены в виде медиан (Me) [минимальных и максимальных значений]. Критерием статистической достоверности полученных выводов считали $p < 0,05$. Также проводили корреляционный анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В описанной популяции психологический личностный портрет пациентов после ТС представлен у большинства из них сильными чертами: частота встречаемости личных факторов более 50% была 13 сильных степеней и 7 слабых степеней из 20 (табл. 1). По нашим результатам, только у трети пациентов, которым была выполнена ТС, был высокий интеллект. При анализе личностного портрета было выявлено, что более половины реципиентов были

скрытными, недоверчивыми (фактор А – шизотимия) и сдержанными (фактор F – сдержанность; F2 – интроверт; F4 – конформность) с низким интеллектом (фактор В), нерешительными (фактор Н – тректия), с низким суперэго (фактор G: безответственный, неорганизованный, непостоянный, переменчивый). Среди личных факторов у большинства пациентов были выявлены эмоциональная устойчивость (фактор С – сила Я), своенравность и упрямство (фактор Е – доминантность), беспокойность и суетливость (фактор I – премсия), внутренняя напряженность и эгоцентричность (фактор L – протенсия), идеалистичность и мечтательность (фактор М – аутия), проницательность (фактор N – дипломатичность), депрессивность и самобичевание (фактор О – гипотимия), хорошая информированность и терпимость к неудобствам (фактор Q1 – радикализм) и реактивная уравновешенность (фактор F3 – стабильность, жизнерадостность, решительность).

Первичный фактор «С» отвечает за 2 степени развития: «–» слабость Я (слабость, эмоциональная неустойчивость, переменчив, легко расстраивается, отказывается от работы, неуклончив в интересах) и «+» сила Я (сила, эмоциональная устойчивость, зрелый, реалистично настроенный, работоспособный). По нашим результатам, 47% (18 пациентов из

Таблица 1

Результаты опросника Р. Кеттелла а6 PF у пациентов после трансплантации сердца (версия А)

Results of P. Cattell's a6 PF questionnaire in heart transplanted patients (version A)

	Определяющие факторы	Личностные характеристики			
		«–»		«+»	
I	Фактор А	Шизотимия	60% (n = 64)	Аффектотимия	40% (n = 43)
II	Фактор В	Низкий интеллект	65% (n = 70)	Высокий интеллект	35% (n = 37)
III	Фактор С	Слабость Я	36% (n = 38)	Сила Я	64% (n = 69)
IV	Фактор Е	Конформность	33% (n = 35)	Доминантность	67% (n = 72)
V	Фактор F	Сдержанность	61% (n = 65)	Экспрессивность	39% (n = 42)
VI	Фактор G	Низкое суперэго	60% (n = 64)	Высокое суперэго	40% (n = 43)
VII	Фактор Н	Трекция	62% (n = 66)	Пармия	38% (n = 41)
VIII	Фактор I	Харрия	41% (n = 44)	Премсия	59% (n = 63)
IX	Фактор L	Алаксия	39% (n = 42)	Протенсия	61% (n = 65)
X	Фактор М	Праксерния	37% (n = 40)	Аутия	63% (n = 67)
XI	Фактор N	Прямолинейность	27% (n = 29)	Дипломатичность	73% (n = 78)
XII	Фактор О	Гипертимия	48% (n = 51)	Гипотимия	52% (n = 56)
XIII	Фактор Q1	Консерватизм	43% (n = 46)	Радикализм	57% (n = 61)
XIV	Фактор Q2	Зависимость от группы	12% (n = 13)	Самодостаточность	88% (n = 94)
XV	Фактор Q3	Низкое самомнение	30% (n = 32)	Высокое самомнение	70% (n = 75)
XVI	Фактор Q4	Низкая эго-напряженность	32% (n = 34)	Высокая эго-напряженность	68% (n = 73)
Вторичные факторы					
I	Фактор F1	Низкая тревожность	41% (n = 44)	Высокая тревожность	59% (n = 63)
II	Фактор F2	Интроверт	64% (n = 69)	Экстраверт	36% (n = 38)
III	Фактор F3	Сензитивность	48% (n = 51)	Реактивная уравновешенность	52% (n = 56)
IV	Фактор F4	Конформность	82% (n = 88)	Независимость	18% (n = 19)

38; 22 – пенсионеры) со слабой степенью развития фактора С работают по сравнению с 42% (29 из 69; 28 – пенсионеры) с сильной степенью этого фактора («Сила Я»).

Первичный фактор «В» имеет 2 степени развития черты: «–» – низкий интеллект (несобранные, дезорганизованные с ригидным мышлением и низкими умственными способностями) и «+» – высокий интеллект (собранный, сообразительный, высокие умственные способности). Число пациентов с ожирением (ИМТ >30 кг/м²) преобладало среди больных со слабым фактором В (низким интеллектом) по сравнению с теми, у кого был высокий интеллект (11% (8 из 70) и 5% (2 из 37) соответственно, $p = 0,49$). Степени фактора Q4 – низкая эго-напряженность и высокая эго-напряженность – отражают личностные характеристики от расслабленности, апатичности, низкой мотивации и лени до собранности, энергичности, повышенной мотивации и активности: 35% (12 из 34) пациентов с низким эго вернулись к работе после ТС по сравнению с 44% (32 из 73) с высоким эго ($p = 0,53$).

Через 1 год после ТС количество физически активных пациентов было больше среди отличающихся низкой тревожностью по сравнению с высоко тревожными (41% (18 из 44) и 32% (20 из 63) соответственно, $p = 0,41$). По нашим результатам, личностные характеристики больных не повлияли на показатели кардиопульмонального тестирования (VO_{2peak} , VO_{2peak} (%МДВ), Ve/VCO_2) через 1 год после ТС ($p > 0,05$).

При сравнении личностных характеристик в зависимости от пола было выявлено, что у мужчин 9 из 20 факторов имели слабую степень развития, в то время как у женщин – 10 из 20 (табл. 2). У мужчин среди факторов преобладала харрия (суровость, реалистичность суждений, не обращает внимания на физические недомогания, практичность) и протенсия (большое самомнение, раздражительность, требование от окружающих нести ответственность за свои ошибки), в то время как у женщин – премсия (чувствительность, ипохондрия, беспокойность, сверхосторожность) и алаксия (доверчивость, согласие с предложенными условиями, терпимость). Среди женщин преобладала гипотимия (тревож-

Таблица 2

Результаты личностных характеристик у пациентов после трансплантации сердца в зависимости от пола

Results of personality factors in patients after heart transplantation regarding their sex

№	Факторы «–»			Факторы «+»		
		Мужчины (n = 76)	Женщины (n = 31)		Мужчины (n = 76)	Женщины (n = 31)
Первичные факторы						
I	Шизотимия	62% (n = 47)	55% (n = 17)	Аффектотимия	38% (n = 29)	45% (n = 14)
II	Низкий интеллект	64% (n = 49)	68% (n = 21)	Высокий интеллект	36% (n = 27)	32% (n = 10)
III	Слабость Я	33% (n = 25)	42% (n = 13)	Сила Я	67% (n = 51)	58% (n = 18)
IV	Конформность	28% (n = 21)	45% (n = 14)	Доминантность	72% (n = 55)	55% (n = 17)
V	Сдержанность	59% (n = 45)	65% (n = 20)	Экспрессивность	41% (n = 31)	35% (n = 11)
VI	Низкое суперэго	59% (n = 45)	61% (n = 19)	Высокое суперэго	41% (n = 31)	39% (n = 12)
VII	Трежия	61% (n = 46)	65% (n = 20)	Пармия	39% (n = 30)	35% (n = 11)
VIII	Харрия	57% (n = 43)	3% (n = 1)	Премсия	43% (n = 33)	97% (n = 30)
IX	Алаксия	34% (n = 26)	52% (n = 16)	Протенсия	66% (n = 50)	48% (n = 15)
X	Праксерния	41% (n = 31)	29% (n = 9)	Аутия	59% (n = 45)	71% (n = 22)
XI	Прямолинейность	29% (n = 22)	23% (n = 7)	Дипломатичность	71% (n = 54)	77% (n = 24)
XII	Гипертимия	58% (n = 44)	23% (n = 7)	Гипотимия	42% (n = 32)	77% (n = 24)
XIII	Консерватизм	38% (n = 29)	55% (n = 17)	Радикализм	62% (n = 47)	45% (n = 14)
XIV	Зависимость от группы	15% (n = 11)	6% (n = 2)	Самодостаточность	85% (n = 65)	94% (n = 29)
XV	Низкое самомнение	29% (n = 22)	32% (n = 10)	Высокое самомнение	71% (n = 54)	68% (n = 21)
XVI	Низкая эго-напряженность	34% (n = 26)	26% (n = 8)	Высокая эго-напряженность	66% (n = 50)	74% (n = 23)
Вторичные факторы						
I	Низкая тревожность	47% (n = 36)	26% (n = 8)	Высокая тревожность	53% (n = 40)	74% (n = 23)
II	Интроверт	62% (n = 47)	71% (n = 22)	Экстраверт	38% (n = 29)	29% (n = 9)
III	Сензитивность	33% (n = 25)	84% (n = 26)	Реактивная уравновешенность	67% (n = 51)	16% (n = 5)
IV	Конформность	80% (n = 61)	87% (n = 27)	Независимость	20% (n = 15)	13% (n = 4)

ность, беспокойность, депрессивность, чувство одиночества, ипохондрия), среди мужчин – гипертимия (беспечность, самоуверенность, безмятежность, бездумность). У обоих полов имели место высокое самомнение, самодостаточность, высокие эго-напряженность и тревожность (>50%). Для 62% мужчин и 71% женщин в анализируемой популяции была характерна застенчивость, скрытность, сдержанность (фактор F2 – интроверт) и пассивность, потребность в поддержке (фактор F4 – конформность).

Не было выявлено корреляций между личностными характеристиками и смертностью после трансплантации сердца ($p > 0,05$).

Определены следующие корреляции между факторами личностных характеристик (табл. 3). У 51% ($n = 54$) пациентов выявлена взаимосвязь между двумя факторами: сдержанностью, осторожностью (фактор F) и самодостаточностью, независимостью

при принятии решений (Q2). Более того, 11% (6 из 54) больных с вышеописанными факторами умерли в сроки от 3 месяцев до 3 лет после ТС по сравнению с 15% ($n = 8$ из 53) умерших пациентов, не имеющих личностных характеристик F и Q2 (2 – внезапная сердечная смерть, 1 – острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) и 5 – прогрессия хронических заболеваний). У 5 из 6 реципиентов летальные исходы (3 – кризы отторжения аллогraftа с дисфункцией трансплантата, 1 – инфаркт миокарда, болезнь коронарных сосудов пересаженного сердца (БКПС), 1 – ОНМК) наступили вследствие осложнений, о жалобах на которые они не сообщили своевременно.

Более того, у 57% ($n = 61$) пациентов была выявлена совокупность факторов F1 + Q4 (раздражительность и агрессивность), 13% (8 из 61) из которых умерли, по сравнению с 8,7% (7 из 46) больных, не имеющих этих личностных факторов.

Таблица 3

Корреляции между факторами личностных характеристик у пациентов после трансплантации сердца
Correlations between personality factors in patients after heart transplantation

№	Корреляции между факторами	Значения	Расшифровка личностных факторов	Пациенты
Положительные корреляции				
1	Е и F2	$r = 0,390$ ($p < 0,001$)	Быть доминантом, неуступчивым, конфликтным, своенравным и экстравертом, который хорошо устанавливает и поддерживает социальные контакты	34% ($n = 36$)
2	Е и F4	$r = 0,304$ ($p = 0,002$)	Быть доминантом и независимым, и агрессивным	15% ($n = 16$)
3	F и F2	$r = 0,393$ ($p < 0,001$)	Быть экспрессивным, импульсивным и экстравертом	27% ($n = 29$)
4	Н и F2	$r = 0,595$ ($p < 0,001$)	Быть смелым, предприимчивым, беззаботным и экстравертом	26% ($n = 28$)
5	М и F4	$r = 0,310$ ($p < 0,001$)	Быть мечтательным, рассеянным, неуравновешенным и независимым	16% ($n = 17$)
6	Q1 и F4	$r = 0,365$ ($p < 0,001$)	Быть радикально и критически настроенным, с наличием интеллектуальных интересов, и агрессивным, сообразительным	16% ($n = 17$)
7	F1 и Q4	$r = 0,757$ ($p < 0,001$)	Быть раздражительным, мотивированным и агрессивным, но сообразительным	57% ($n = 61$)
Отрицательные корреляции				
8	F и Q2	$r = -0,377$ ($p < 0,001$)	Быть сдержанным, осторожным, пессимистичным и самодостаточным, независимым при принятии решений	51% ($n = 54$)
9	Н и F1	$r = -0,371$ ($p < 0,001$)	Быть нерешительным, раздражительным, строго придерживающимся правил и рекомендаций и удовлетворенным жизнью, но со слабой мотивацией стремиться к достижению новых целей и улучшению качества жизни	13% ($n = 14$)
10	Н и Q4	$r = -0,329$ ($p < 0,001$)	Быть эмоционально лабильным и спокойным с отсутствием мотивации для выполнения дополнительных действий	12% ($n = 13$)
11	I и F3	$r = -0,546$ ($p < 0,001$)	Быть реалистом, практичным, который не обращает внимания на физические недомогания	19% ($n = 20$)
12	М и F3	$r = -0,324$ ($p < 0,001$)	Быть практичным, внимательным к мелочам, добросовестным и спокойным, но имеющим затруднения в принятии самостоятельных быстрых решений	25% ($n = 27$)
13	N и F2	$r = -0,302$ ($p = 0,002$)	Быть прямолинейным, эмоционально лабильным и при этом скрытым, сдержанным и застенчивым	19% ($n = 20$)

ОБСУЖДЕНИЕ

Пациенты после пересадки сердца используют разные виды защитных механизмов, и более активное применение защитных механизмов приводит к психологической подготовленности к трансплантации [4, 5]. Уровни качества жизни (КЖ) в сфере физического благополучия у больных после ТС улучшаются, результаты лучше у физически активных пациентов [6]. КЖ и частота развития депрессии после пересадки изучались в различных работах [7–10], но в настоящее время отсутствуют публикации, посвященные личностным характеристикам у реципиентов, которым была проведена ТС.

Личностные характеристики – это особенности, которые имеют место у всех пациентов и не меняются вне зависимости от проведения оперативного вмешательства. В зависимости от тех или иных личностных факторов поведение реципиента может отличаться и приводить к различным реакциям на появление осложнений и копинг механизмов на отрицательную динамику состояния [4, 5]. Эмоционально лабильные, или наоборот, сдержанные пациенты могут недооценивать появление новых жалоб и несвоевременно обращаться к врачам. В то время как решительные, радикально настроенные больные, с экстравертным мышлением будут мотивированы на улучшение своего качества жизни, выполнение регулярной физической нагрузки и амбулаторное обследование согласно протоколу после трансплантации сердца.

Стресс, связанный с проведенной ТС, может иметь место и в отдаленном периоде после пересадки. Виды психологических нарушений и ассоциируемые факторы риска подтверждают необходимость проведения постоянной психологической и клинической поддержки реципиентов после ТС [11]. Симптомы депрессии и посттравматического стрессового расстройства (ПТСР) могут также увеличить смертность и заболеваемость среди больных в ЛОТС и после ТС [11, 12]. Факторы, влияющие на развития стресса и психологических расстройств после операции: молодой возраст, женский пол, ортопедические заболевания и отсутствие психологической поддержки [11]. Но личностные особенности не являются модифицируемыми факторами вследствие ТС или других оперативных вмешательств, а только отражают личностный характер больных. Важна организация социальной поддержки пациентов как в ЛОТС, так и после пересадки сердца [12]. В настоящее время не существует единой системы социальной и психологической поддержки реципиентов после ТС в РФ, каждый центр выбирает свой протокол работы с ними. В условиях нашего Центра мы придерживаемся персонифицированного подхода в работе с больными в ЛОТС и после ТС. Все реципиенты регуляр-

но наблюдаются и имеют возможность телефонного контакта с лечащим врачом при появлении жалоб или изменении самочувствия, что позволило сформировать доверительные отношения «пациент–врач» и увеличило число случаев своевременного обращения в медицинские учреждения, обследования и начала лечения. Также мы рекомендуем проводить обучение особенностям жизни после ТС не только реципиентов, но и их родственников (родители, супруги, дети). В информированном согласии на наблюдение больные с трансплантированным сердцем всегда указывали ближайший контакт для связи, ближайшие родственники сообщали об ухудшении самочувствия пациентов, в том числе при появлении фебрильной лихорадки, одышки, неврологических расстройств и т. д., что позволило своевременно начать лечение и внепланово их госпитализировать. Формирование общения «пациент–врач» может быть особенно полезно в отношении скрытных и сдержанных больных, а в отношении тревожных и ипохондричных знание анамнеза болезни и длительное наблюдение позволяют верифицировать заболевания в более короткие сроки.

Половые различия также влияют на разновидности стресса и копинг механизмов и на тактику их лечения после пересадки сердца [13]. По нашим результатам, трансплантированные пациенты мужского пола были более скрытными, решительными и склонными не замечать трудности (факторы F2 – интроверт, F3 – реактивная уравновешенность), в то время как у пациенток после ТС преобладали ипохондрия, сверхосторожность, чувствительность, тревожность, обеспокоенность и подавленность (факторы I – премсия, O – гипотимия, F3 – сензитивность).

Согласно данным L. Petrucci et al., 87% (n = 131) реципиентов работали до пересадки, и только 39% (n = 51) вернулись к работе после операции [14]. В анализируемой нами популяции 36% (46 из 129) больных во время нахождения в ЛОТС работали или учились и 43% (47 из 107) вернулись к работе/учебе после пересадки сердца. Более того, часть работодателей обращались к лечащим врачам пациентов для уточнения их профессиональной пригодности и получения письменного разрешения на работу, учитывая состояние их здоровья.

В перспективе требуется проведение крупного исследования для оценки частоты госпитализаций и посттрансплантационных осложнений, а также поиска факторов риска развития психологических проблем и недостижения психологического благополучия после ТС.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Личностные характеристики – это не модифицируемые черты больных, которые влияют на их поведение, возвращение к работе и социальной жизни,

а также их физическое и психологическое восстановление после ТС. Реабилитация больных должна включать формирование доверительных отношений «пациент–врач», возможность внепланового телефонного контакта с лечащим врачом при появлении новых жалоб или развитии осложнений. Знание личностных особенностей реципиентов позволит разрабатывать персонифицированный подход к их реабилитации и алгоритм своевременного обследования после ТС.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Шиндrikov PЮ, Щелков ОЮ, Демченко ЕА, Ситникова МЮ. Психосоциальный статус пациентов с хронической сердечной недостаточностью, ожидающих трансплантацию сердца. *Вестник РУДН. Серия: Психология и педагогика*. 2019; 16 (2): 163–180. Shindrikov RYu, Schelkov OYu, Demchenko EA, Sitnikova MYu. Psychosocial status of patients with chronic heart failure awaiting heart transplantation. *RUDN Journal of Psychology and Pedagogics*. 2019; 16 (2): 163–180. doi: 10.22363/2312-1683-2019-16-2-163-180.
2. Heart Transplantation: overall. JHLT. 2018 Oct; 37 (10): 1155–1206.
3. Cattell HEP, Mead AD. The Sixteen Personality Factor Questionnaire (16PF), The SAGE Handbook of personality theory and assessment: Volume 2 – Personality Measurement and Testing, Chapter 7. 2008; 135–159. doi: 10.4135/9781849200479.n7.
4. Pfeifer PM, Ruschel PP, Bordignon S. Coping strategies after heart transplantation: psychological implications. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 2013; 28 (1): 61–68. doi: 10.5935/1678-9741.20130010.
5. Trevizan FB, de Oliveira Santos Miyazaki MC, Silva YLW, Roque CMW. Quality of life, depression, anxiety and coping strategies after heart transplantation. *Braz J Cardiovasc Surg*. 2017; 32 (3): 162–170.
6. Симоненко МА, Березина АВ, Федотов ПА, Сазонова ЮВ, Первунина ТМ, Лелявина ТА и др. Динамика физической работоспособности и качества жизни у пациентов после трансплантации сердца. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2018; 20 (1): 32–38. Simonenko MA, Berezina AV, Fedotov PA, Sazonova YuV, Pervunina TM, Lelyavina TA et al. Dynamic of physical capacity and quality of life after heart transplantation. *Journal of Transplantology and Artificial organs*. 2018; 20 (1): 32–38. doi: 10.15825/1995-1191-2018-1-32-38.
7. Albert W, Hudalla A, Traue K, Hetzer R. Impact of heart transplantation in infancy and adolescence on quality of life and compliance. *HSR Proceedings in Intensive Care and Cardiovascular Anesthesia*. 2012; 4 (2): 125–129.
8. Шевченко АО, Халилулин ТА, МIRONKOV БЛ, Сaitgareev PШ, Захаревич ВМ, Кормер АЯ и др. Оценка качества жизни пациентов с трансплантированным сердцем. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2014; 16 (4): 11–16. Shevchenko AO, Khalilulin TA, Mironkov BL, Saitgareev RSh, Zakharevich VM, Kormer AYa et al. Quality of life assessment in cardiac transplant recipients. *The Journal of Transplantology and Artificial organs*. 2014; 16 (4): 11–16. doi: 10.15825/1995-1191-2014-4-11-16.
9. Epstein F, Parker MM, Lucero A, Chaudhary R, Song E, Weisshaar D. Association of depression and anxiety before heart transplant with mortality after transplant: a single-centre experience. *Transplant Research and Risk Management*. 2017; 9: 31–38. doi: 10.2147/TRRM.S132400.
10. Saeed I, Rogers C, Murday A. Health-related quality of life after cardiac transplantation: results of a UK National survey with norm-based comparison. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2008; 27 (6): 675–681. doi: 10.1016/j.healun.2008.03.013.
11. Grady KL, Wang E, White-Williams C, Naftel DC, Myers S, Kirklin JK et al. Factors associated with stress and coping at 5 and 10 years after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2013; 32 (4): 437–446. doi: 10.1016/j.healun.2012.12.012.
12. Rosenberger EM, Dew MA, Crone C, DiMartini AF. Psychiatric disorders as risk factors for adverse medical outcomes after solid organ transplantation. *Curr Opin Organ Transplant*. 2012; 17 (2): 188–192. doi: 10.1097/MOT.0b013e3283510928.
13. Grady KL, Andrei AC, Li Z, Rybarczyk B, White-Williams C, Gordon R et al. Gender differences in appraisal of stress and coping 5 years after heart transplantation. *Heart Lung*. 2016; 45 (1): 41–47. doi: 10.1016/j.hrtlng.2015.09.009.
14. Petrucci L, Ricotti S, Michellini I, Vitulo P, Oggionni T, Cascina A et al. Return to work after thoracic organ transplantation in a clinically-stable population. *The European Journal of Heart Failure*. 2007; 9: 1112–1119. doi: 10.1016/j.ejheart.2007.08.002.

*Статья поступила в редакцию 6.02.2020 г.
The article was submitted to the journal on 6.02.2020*

СВЯЗЬ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ МИКРОРНК В ПЛАЗМЕ КРОВИ РЕЦИПИЕНТОВ СЕРДЦА С КОНЦЕНТРАЦИЕЙ БИОМАРКЕРОВ ПОСТТРАНСПЛАНТАЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ

Д.А. Великий¹, О.Е. Гичкун^{1, 2}, А.А. Улыбышева^{1, 3}, С.О. Шарапченко¹, А.В. Марченко¹, О.П. Шевченко^{1, 2}, А.О. Шевченко¹⁻³

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

² ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация

³ ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

Цель: анализ связи уровня экспрессии микроРНК-101, микроРНК-142, микроРНК-27, микроРНК-339 и микроРНК-424 с концентрацией биомаркеров, участвующих в развитии и потенциально значимых для диагностики посттрансплантационных осложнений у реципиентов сердца. **Материалы и методы.** В исследование включены 72 реципиента сердца, среди них мужчин – 56 (77,8%), средний возраст реципиентов составил $48,6 \pm 10,9$ (от 16 до 70) года, и 38 пациентов с тяжелой хронической сердечной недостаточностью, среди них мужчин – 29 (76,3%), средний возраст пациентов составил $48,8 \pm 9,9$ (от 26 до 70) года. Группу сравнения составили 12 здоровых лиц, значимо не отличающихся по полу и возрасту. Уровень экспрессии микроРНК в плазме крови определялся методом количественной полимеразной цепной реакции. Определение концентрации VEGF-A, PLGF, MCP-1 и sCD40L в плазме крови проводили с помощью мультиплексного метода. Определение концентрации ST2 и галектина-3 в плазме крови проводили методом иммуноферментного анализа. **Результаты.** Установлены достоверно более высокие показатели экспрессии микроРНК-27, микроРНК-339 и микроРНК-424 в плазме крови у пациентов с терминальной стадией хронической сердечной недостаточности по сравнению со здоровыми лицами. У потенциальных реципиентов сердца уровень экспрессии микроРНК-339, микроРНК-424 коррелировал с концентрацией галектина-3, уровень экспрессии микроРНК-101 – с концентрацией PLGF-1, уровень микроРНК-27 – с концентрацией MCP-1. В ранние сроки после трансплантации у реципиентов сердца уровень экспрессии микроРНК-101, микроРНК-339 и микроРНК-424 был достоверно ниже, чем у пациентов с тяжелой хронической сердечной недостаточностью. Через год и более после трансплантации уровень экспрессии микроРНК-101 и микроРНК-27 был достоверно выше, чем у реципиентов сердца в ранние сроки. У реципиентов сердца спустя год и более после трансплантации установлена корреляционная связь между уровнем экспрессии микроРНК-142 и концентрацией галектина-3 ($p = 0,05$), уровнем экспрессии микроРНК-27, микроРНК-424 и концентрацией ST2 ($p = 0,02$), уровнем экспрессии микроРНК-27 и концентрацией PLGF-1 ($p = 0,02$), уровнем экспрессии микроРНК-101 и концентрацией PAPP-A ($p = 0,05$). **Заключение.** У реципиентов сердца величина экспрессии микроРНК-142, микроРНК-27, микроРНК-424 и микроРНК-101 связана с концентрацией биомаркеров фиброза (галектин-3), отторжения (ST2), неоангиогенеза (PLGF) и деструкции тканей (PAPP-A). Комплексный анализ до- и посттрансплантационных маркеров может открыть новые перспективы как в диагностике, оценке рисков посттрансплантационных осложнений, так и в понимании процессов, ведущих к их развитию.

Ключевые слова: трансплантация сердца, отторжение, микроРНК, ST2, галектин-3, плацентарный фактор роста (PLGF), ассоциированный с беременностью протеин-A (PAPP-A).

Для корреспонденции: Великий Дмитрий Алексеевич. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (499) 193-87-62. E-mail: dim_vel@mail.ru

Corresponding author: Dmitriy Velikiy. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (499) 193-87-62. E-mail: dim_vel@mail.ru

CORRELATION BETWEEN MICRORNA EXPRESSION LEVELS AND PLASMA CONCENTRATIONS OF BIOMARKERS OF POST-TRANSPLANT COMPLICATIONS IN HEART TRANSPLANT RECIPIENTS

D.A. Velikiy¹, O.E. Gichkun^{1, 2}, A.A. Ulybysheva^{1, 3}, S.O. Sharapchenko¹, A.V. Marchenko¹, O.P. Shevchenko^{1, 2}, A.O. Shevchenko¹⁻³

¹ Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation

² Sechenov University, Moscow, Russian Federation

³ Pirogov Medical University, Moscow, Russian Federation

Objective: to analyze the correlation between the expression levels of microRNA-101, microRNA-142, microRNA-27, microRNA-339, and microRNA-424 and the plasma concentrations of biomarkers that are potentially significant for the diagnosis of post-transplant complications in heart recipients. **Materials and methods.** The study enrolled 72 heart recipients, among whom were 56 men (77.8%). The average age of recipients was 48.6 ± 10.9 (16 to 70) years. There were 38 patients with severe chronic heart failure, among whom were 29 men (76.3%). Patients' mean age was 48.8 ± 9.9 (26 to 70) years. The control group consisted of 12 healthy individuals who did not differ significantly by sex and age. microRNA expression levels in blood plasma were measured via quantitative polymerase chain reaction. Plasma concentrations of VEGF-A, PLGF, MCP-1, and sCD40L were determined using a multiplex method. ST2 and Galectin-3 concentrations were measured via enzyme-linked immunosorbent assay. **Results.** Patients with end-stage chronic heart failure were found to have significantly higher expression levels of microRNA-27, microRNA-339 and microRNA-424 in blood plasma compared with the healthy individuals. In potential heart recipients, the expression levels of microRNA-339 and microRNA-424 correlated with serum galectin-3 concentrations, microRNA-101 expression levels correlated with PLGF-1 concentrations, while microRNA-27 expression levels correlated with plasma MCP-1 concentrations. In the early post-transplant period, the expression levels of microRNA-101, microRNA-339, and microRNA-424 in heart recipients were significantly lower than in patients with severe chronic heart failure. In the early post-transplant period (one year or more after transplantation), microRNA-101 and microRNA-27 expression levels were significantly higher than in heart recipients. A year or more after transplantation, the following correlations were found in heart recipients: microRNA-142 expression level correlated with serum levels of galectin-3 ($p = 0.05$), microRNA-27 and microRNA-424 expression levels correlated with ST2 concentrations ($p = 0.02$), microRNA-27 expression level correlated with PLGF-1 concentrations ($p = 0.02$), while microRNA-101 expression level correlated with serum levels of PAPP-A ($p = 0.05$). **Conclusion.** In heart recipients, the expression levels of microRNA-142, microRNA-27, microRNA-424, and microRNA-101 correlate with the concentration levels of biomarkers of fibrosis (Galectin-3), rejection (ST2), neoangiogenesis (PLGF), and tissue destruction (PAPP-A). A comprehensive analysis of pre- and post-translational markers may open up new perspectives in diagnosis, assessment of the risks of post-transplant complications, and in understanding the processes leading to their development.

Keywords: heart transplantation, rejection, microRNA, ST2, Galectin-3, placental growth factor (PLGF), pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A).

Своевременная диагностика посттрансплантационных осложнений необходима для подбора и корректировки оптимальных дозировок иммуносупрессивной терапии и восстановления функции трансплантированного органа. На сегодняшний день стандартом определения степени и характера острого отторжения трансплантированного сердца является эндомиокардиальная биопсия (ЭМБ), которая выполняется после трансплантации, в сроки, предусмотренные протоколом, а также при проявлении признаков нарушения функции трансплантата [1]. Вследствие того, что иннервация трансплантированного сердца нарушена, посттрансплантационные осложнения у реципиентов сердца не сопровождаются болевыми

ощущениями и могут развиваться бессимптомно. Для обеспечения длительного функционирования трансплантированного органа необходима ранняя диагностика осложнений после трансплантации и назначение своевременного лечения [2].

В последние годы было показано участие ряда биомаркеров в развитии сердечно-сосудистых осложнений у больных сердечной недостаточностью и у пациентов с трансплантированным сердцем, а также возможность использования оценки их концентрации для прогнозирования и диагностики острого отторжения, болезни коронарных артерий, фиброза сердечного трансплантата [3–6].

Отдельную группу сигнальных молекул, рассматриваемых в качестве перспективных кандидатов на роль биомаркеров посттрансплантационных осложнений у реципиентов сердца, составляют микроРНК – малые некодирующие РНК, регулирующие экспрессию генов. Считается, что микроРНК играют важную роль в регуляции функций как здоровых, так и поврежденных клеток. Изменение экспрессии некоторых микроРНК тесно связано с рядом патологических процессов, таких как аутоиммунные заболевания, злокачественные новообразования и отторжение трансплантированных органов [7–9].

В настоящей работе проведен анализ связи уровня экспрессии микроРНК-27, микроРНК-101, микроРНК-142, микроРНК-339 и микроРНК-424, определяемого в плазме крови реципиентов сердца, с концентрацией биомаркеров, потенциально значимых для диагностики посттрансплантационных осложнений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 72 пациента, которым в период с 2013-го по 2016 год в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России была выполнена трансплантация сердца (ТС), среди них мужчин – 56 (77,8%), средний возраст реципиентов составил $48,6 \pm 10,9$ (от 16 до 70) года, и 38 пациентов с тяжелой хронической сердечной недостаточностью (III и IV функциональный класс по NYHA), среди них мужчин – 29 (76,3%), средний возраст пациентов составил $48,8 \pm 9,9$ (от 26 до 70) года. У 20 (52,6%) пациентов с тяжелой хронической сердечной недостаточностью была диагностирована дилатационная кардиомиопатия (ДКМП), у 18 (47,4%) – ишемическая болезнь сердца (ИБС). Наблюдение реципиентов после трансплантации включало: ранний период – первый месяц после ТС (медиана 35 [15; 69] суток), отдаленный период – спустя год и более после ТС (медиана 404 [346,7; 783,5] суток). Группу сравнения составили 12 здоровых лиц, значимо не отличающихся по полу и возрасту.

Все пациенты, имевшие показания к ТС, проходили плановое обследование согласно Национальным клиническим рекомендациям «Трансплантация сердца и механическая поддержка кровообращения» и протоколу ведения пациентов в НМИЦ ТИО. После трансплантации плановые обследования реципиента включали: клиническую оценку состояния, общий и биохимический анализы крови с определением концентрации такролимуса, суточное мониторирование артериального давления (для коррекции антигипертензивной терапии), эхокардиографическое исследование, повторные биопсии миокарда, ежегодное коронароангиографическое исследование. Все реципиенты получали трехкомпонентную иммуносупрессивную терапию, включающую комбинацию ингибиторов кальциневрина (такролимус) и цитоста-

тиков (микофенолата мофетил или микофеноловая кислота), а также варьирующие дозы преднизолона перорально в зависимости от сроков после операции и частоты эпизодов отторжения трансплантата и адъювантную медикаментозную терапию по показаниям [1].

Материалом для исследования экспрессии микроРНК служила плазма венозной крови (от 1 до 3 образцов от каждого пациента, в среднем 1,44). Образцы периферической крови пациентов собирались в одноразовые пробирки с антикоагулянтом этилендиаминуксусной кислотой (EDTA), центрифугировали в течение 10 минут при 3000 оборотах в минуту, после чего плазма крови отделялась от клеточного осадка и незамедлительно замораживалась при -20°C . Из 100 мкл плазмы крови с использованием наборов Serum Plasma (Qiagen, США) выделяли суммарную РНК с предварительным добавлением $1,6 \times 10^8$ копий синтетической микроРНК cel-miR-39 (Qiagen) после инкубации плазмы с фенольной смесью Qiazol. В качестве внутреннего контроля эффективности выделения РНК, синтеза комплементарной ДНК (кДНК) и количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени использовали Cel-miR-39. Интенсивность экспрессии микроРНК рассчитывалась по $2^{-\Delta\text{Ct}}$ методу [10] и выражалась в относительных единицах, эквивалентных $\log_2(2^{-\Delta\text{Ct}})$, где ΔCt – рабочие значения изменения цикла получения продукта относительно внутреннего контроля экспрессии микроРНК cel-miR-39.

Определение концентрации VEGF-A, PlGF, MCP-1 и sCD40L в плазме крови проводили с помощью мультиплексного метода, который объединяет принцип проточной флуориметрии и иммуноферментного анализа, с применением магнитных микросфер из полистирола, маркированных красными и инфракрасными флуорофорами, нагруженных специфическими антителами. Мультиплексная панель была сформирована на основе наборов реагентов Simplex ProcartaPlex™. Определение концентрации ST2 в плазме крови проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием набора реагентов Critical Diagnostics Presage® ST2 Assay (США). Измерение концентрации галектина-3 в плазме крови проводили иммуноферментным методом с помощью наборов реагентов Human Galectin-3 Platinum ELISA (Bender MedSystems GmbH, Вена, Австрия). Оптическую плотность при длине волны 450 нм измеряли на спектрофотометре.

Статистическая обработка данных. Статистический анализ полученных результатов был проведен при помощи пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics 20 (IBM SPSS Inc., США). Статистическую обработку полученных данных проводили непараметрическими методами: при сравнении зависимых выборок рассчитывали парный критерий Уилкоксона, для сравнения независимых переменных применяли

U-критерий Манна–Уитни. Для оценки связи количественных и качественных порядковых признаков рассчитывался коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Критический уровень значимости принимался равным 5%, т. е. нулевая гипотеза отвергалась при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительный анализ уровня экспрессии микроРНК-101, микроРНК-142, микроРНК-27, микроРНК-339 и микроРНК-424 у здоровых лиц и пациентов с терминальной стадией хронической сердечной недостаточности представлен в табл. 1.

Данные представлены в виде медианы концентраций [интерквартильного размаха] с указанием достоверности различий, что обусловлено распределением значений, отличным от нормального.

У пациентов с терминальной стадией хронической сердечной недостаточности уровень экспрессии микроРНК-27, микроРНК-339 и микроРНК-424 оказался достоверно выше, чем у здоровых лиц (рис. 1).

Уровень экспрессии микроРНК-101 и микроРНК-142 в данных группах достоверно не различался ($p = 0,08$ и $p = 0,77$ соответственно).

У пациентов с тяжелой хронической сердечной недостаточностью уровень экспрессии микроРНК-101,

Таблица 1
Сравнительный анализ экспрессии микроРНК у здоровых лиц и пациентов с тяжелой хронической сердечной недостаточностью

Comparative analysis of microRNAs expression in healthy individuals and patients with severe chronic heart failure

МикроРНК ($\log_2(2^{-\Delta Ct})$)	Здоровые лица	Пациенты с ХСН	Достоверность, p
МикроРНК-101	–5,66 [–6,85; –4,97]	–4,29 [–6,86; –3,21]	0,08
МикроРНК-142	–7,39 [–10,26; –6,36]	–7,35 [–8,19; –6,25]	0,77
МикроРНК-27	–5,79 [–6,70; 4,6]	–5,3 [–6,37; –1,22]	0,02
МикроРНК-339	–11,14 [–11,75; –11,03]	–6,06 [–7,89; –4,86]	0,0001
МикроРНК-424	–8,3 [–9,34; –7,41]	–5,46 [–7,54; –1,46]	0,001

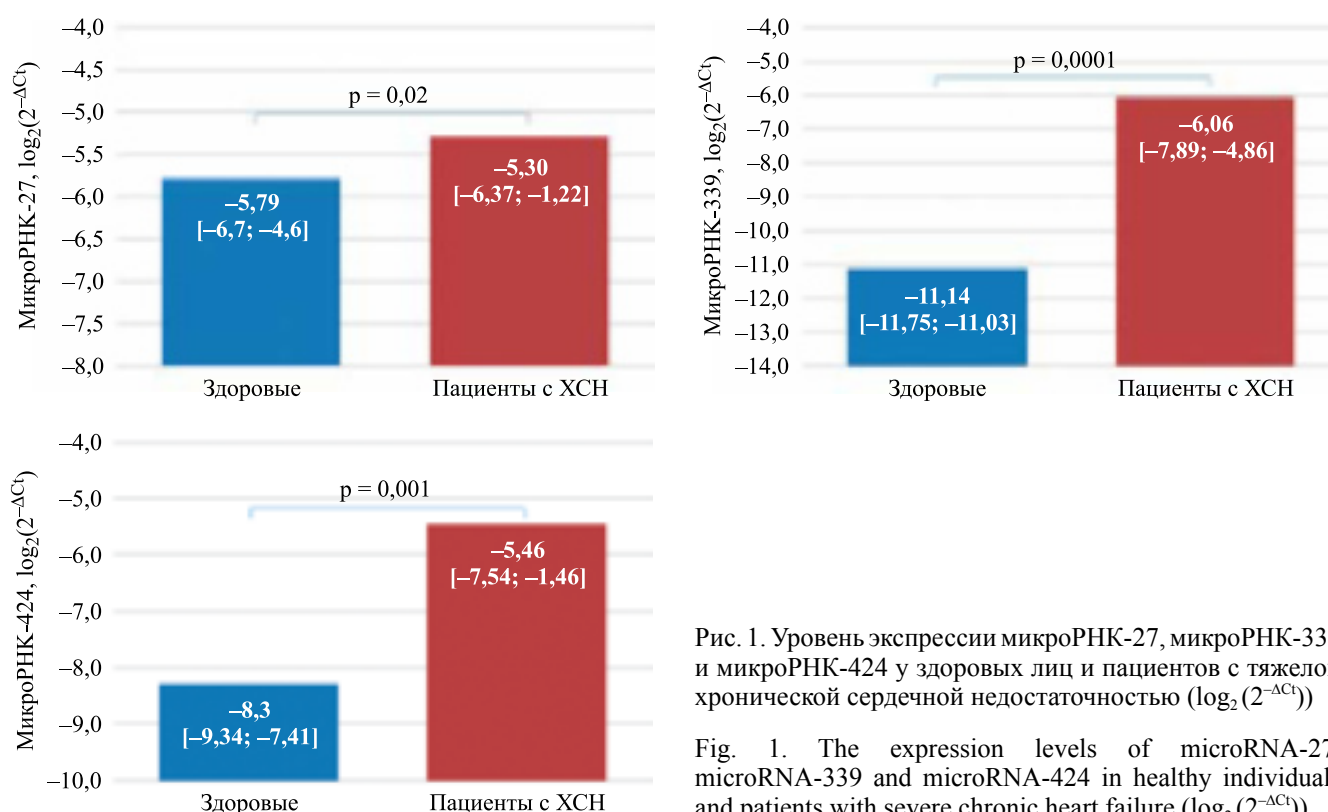


Рис. 1. Уровень экспрессии микроРНК-27, микроРНК-339 и микроРНК-424 у здоровых лиц и пациентов с тяжелой хронической сердечной недостаточностью ($\log_2(2^{-\Delta Ct})$)

Fig. 1. The expression levels of microRNA-27, microRNA-339 and microRNA-424 in healthy individuals and patients with severe chronic heart failure ($\log_2(2^{-\Delta Ct})$)

микроРНК-142, микроРНК-27, микроРНК-339 и микроРНК-424 не различался у мужчин и женщин ($p = 0,93$, $p = 0,98$, $p = 0,63$, $p = 0,97$ и $p = 0,26$ соответственно). Показатели экспрессии микроРНК не зависели от возраста пациентов ($r = -0,304$, $p = 0,16$; $r = -0,236$, $p = 0,35$; $r = -0,361$, $p = 0,08$; $r = 0,146$, $p = 0,44$ и $r = -0,054$, $p = 0,82$ соответственно).

Уровень экспрессии микроРНК-339 у пациентов с тяжелой хронической сердечной недостаточностью, причиной развития которой была ишемическая болезнь сердца, был достоверно выше, чем у пациентов, у которых была диагностирована дилатационная кардиомиопатия (рис. 2).

Достоверных различий в уровне экспрессии микроРНК-101, микроРНК-142, микроРНК-27 и микроРНК-424 в зависимости от исходного диагноза (ДКМП или ИБС), послужившего причиной развития тяжелой хронической сердечной недостаточности, не выявлено ($p = 0,6$, $p = 0,52$, $p = 0,87$, $p = 0,57$ и $p = 0,12$ соответственно).

В настоящее исследование были включены следующие биомаркеры:

- фактор роста эндотелия сосудов А (VEGF-A), продуцирующийся макрофагами, фибробластами, эндотелиальными и другими клетками; участвующий в активации, пролиферации, миграции и дифференцировке клеток эндотелия кровеносных и лимфатических сосудов [12];
- плацентарный фактор роста (PLGF) – биомаркер неоангиогенеза, участвующий в инициации воспалительных процессов в сосудистой стенке [13];
- хемоаттрактантный белок макрофагов (MCP-1), продуцирующийся эндотелиальными и гладкомышечными клетками сосудов, фибробластами, лимфоцитами и другими клетками; MCP-1 активирует миграцию лейкоцитов в сосудистую стенку, участвует в активации и дегрануляции лейкоцитов, миелопоэзе, ангиогенезе и фиброгенезе [14];
- растворимая форма лиганда CD40 (sCD40L) – компонент системы костимуляции лимфоцитов CD40/CD40L; участвует в процессах воспаления, тромбообразования, вызывает активацию и пролиферацию гладкомышечных клеток [15];
- стимулирующий фактор роста (ST2), растворимая форма которого представляет циркулирующую форму рецептора к интерлейкину-33 и является биомаркером острого отторжения сердечного трансплантата; секреция интерлейкина-33 главным образом происходит в ответ на механическое растяжение фибробластов и кардиомиоцитов, приводя к активации сигнальных путей и препятствуя развитию гипертрофии миокарда [16];
- галектин-3, относящийся к семейству β -галактозидсвязывающих белков, играющих важную роль в регуляции процессов воспаления, иммунного ответа и фиброза; в месте повреждения галек-

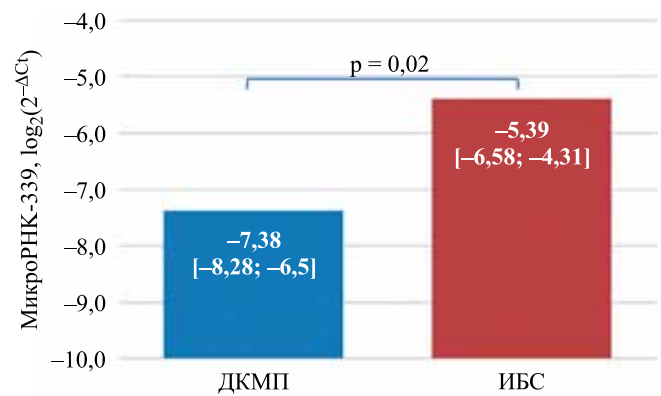


Рис. 2. Уровень экспрессии микроРНК-339 у пациентов с тяжелой хронической сердечной недостаточностью в зависимости от исходного диагноза: ДКМП или ИБС ($\log_2(2^{-\Delta C_t})$)

Fig. 2. The expression levels of microRNA-339 in patients with severe chronic heart failure depending on the initial diagnosis: DCM or CHD ($\log_2(2^{-\Delta C_t})$).

тин-3 способен секретироваться во внеклеточное пространство, что стимулирует процесс фиброза через активацию и размножение фибробластов [17].

Сравнительный анализ корреляционной связи уровня экспрессии микроРНК в плазме крови пациентов, страдающих терминальной сердечной недостаточностью, с содержанием белковых (посттрансляционных) биомаркеров посттрансплантационных осложнений представлен в табл. 2.

У пациентов с терминальной стадией хронической сердечной недостаточности уровень экспрессии микроРНК-339 и микроРНК-424 имел обратную корреляцию с концентрацией галектина-3 (рис. 3).

Уровень экспрессии микроРНК-101 имел прямую корреляцию с концентрацией PLGF-1, а уровень экспрессии микроРНК-27 – обратную корреляцию с концентрацией MCP-1 ($r = 0,783$, $p = 0,01$ и $r = -0,717$, $p = 0,03$ соответственно).

Корреляционных связей уровня экспрессии микроРНК-101, микроРНК-142, микроРНК-27, микроРНК-339 и микроРНК-424 и концентрации VEGF-A, sCD40L и PAPP-A у пациентов с терминальной стадией хронической сердечной недостаточности не выявлено.

При сравнительном анализе уровня экспрессии микроРНК-101, микроРНК-142, микроРНК-27, микроРНК-339 и микроРНК-424 у пациентов с хронической сердечной недостаточностью и реципиентов сердца отмечена тенденция к снижению экспрессии в ранние сроки после трансплантации и постепенному повышению в отдаленные сроки (табл. 3).

На рис. 4 представлена динамика исследуемых микроРНК у пациентов с тяжелой хронической сер-

Таблица 2

Сравнительный анализ корреляционной связи уровня экспрессии микроРНК в плазме крови пациентов, страдающих терминальной сердечной недостаточностью, с содержанием биомаркеров, потенциально значимых для диагностики посттрансплантационных осложнений

A comparative analysis of the correlation between of the microRNA expression levels in the blood plasma of the patients with severe chronic heart failure and the concentration of biomarkers potentially significant for the diagnosis of post-transplant complications

МикроРНК	Галектин-3	VEGF-A	PIGF-1	MCP-1	sCD40L	PAPP-A
МикроРНК-101	$r = 0,174$, $p = 0,55$	$r = 0,4$, $p = 0,29$	$r = 0,783$, $p = 0,01$	$r = -0,017$, $p = 0,97$	$r = 0,324$, $p = 0,28$	$r = 0,0182$, $p = 0,96$
МикроРНК-142	$r = 0,321$, $p = 0,48$	$r = 0,5$, $p = 0,67$	$r = 0,5$, $p = 0,67$	$r = -0,5$, $p = 0,67$	$r = 0,314$, $p = 0,54$	$r = -0,6$, $p = 0,4$
МикроРНК-27	$r = -0,139$, $p = 0,62$	$r = -0,183$, $p = 0,64$	$r = -0,417$, $p = 0,26$	$r = -0,717$, $p = 0,03$	$r = 0,0813$, $p = 0,78$	$r = -0,248$, $p = 0,49$
МикроРНК-339	$r = -0,519$, $p = 0,03$	$r = -0,115$, $p = 0,75$	$r = 0,336$, $p = 0,31$	$r = 0,176$, $p = 0,63$	$r = -0,012$, $p = 0,97$	$r = 0,385$, $p = 0,19$
МикроРНК-424	$r = -0,714$, $p = 0,01$	$r = 0,286$, $p = 0,49$	$r = 0,690$, $p = 0,06$	$r = 0,476$, $p = 0,23$	$r = 0,0091$, $p = 0,98$	$r = 0,238$, $p = 0,57$

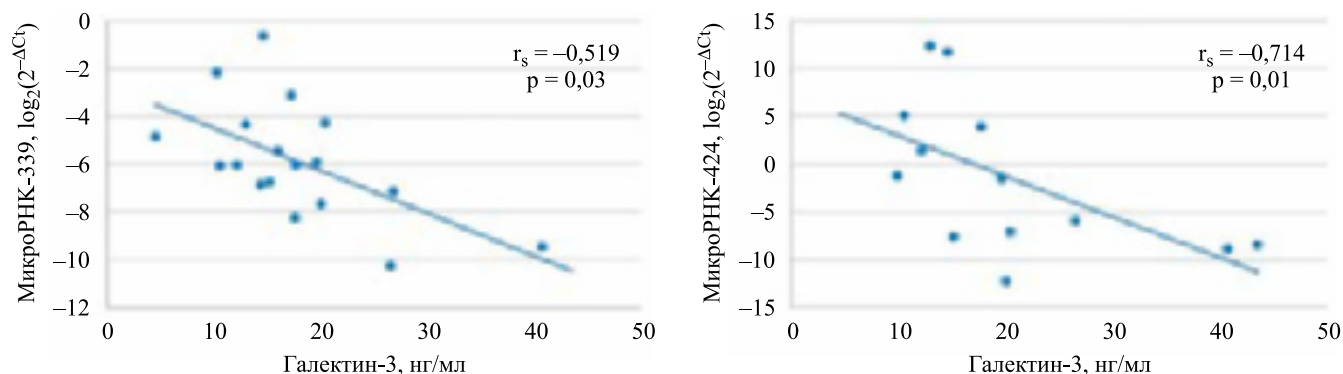


Рис. 3. Корреляционная связь уровня экспрессии микроРНК-339, микроРНК-424 и концентрации галектина-3 у пациентов с тяжелой хронической сердечной недостаточностью ($\log_2(2^{-\Delta C_t})$)

Fig. 3. Correlation between the expression level of microRNA-339, microRNA-424 and the concentration of Galectin-3 in patients with severe chronic heart failure ($\log_2(2^{-\Delta C_t})$)

Таблица 3

Сравнительный анализ экспрессии микроРНК у пациентов с хронической сердечной недостаточностью и реципиентов сердца в ранние и отдаленные сроки после трансплантации

Comparative analysis of microRNAs expression in patients with chronic heart failure and heart transplant recipients at early and long-term after transplantation

МикроРНК ($\log_2(2^{-\Delta C_t})$)	Пациенты с ХСН	Реципиенты сердца		Достоверность, p	
		1 месяц после ТС	1 год и более после ТС		
МикроРНК-101	-4,29 [-6,86; -3,21]	-8,28 [-9,74; -5,77]	-6,12 [-7,39; -4,61]	0,005*	0,03**
МикроРНК-142	-7,35 [-8,19; -6,25]	-7,03 [-8,35; -6,01]	-6,52 [-7,39; -5,09]	0,89*	0,25**
МикроРНК-27	-5,3 [-6,37; -1,22]	-5,76 [-6,24; -4,08]	-3,85 [-4,88; -1,73]	0,19*	0,02**
МикроРНК-339	-6,06 [-7,89; -4,86]	-9,91 [-11,29; -5,94]	-9,02 [-10,56; -5,80]	0,02*	0,44**
МикроРНК-424	-5,46 [-7,54; -1,46]	-7,21 [-8,25; -6,13]	-6,41 [-7,60; -5,50]	0,01*	0,09**

Примечание. * – при сравнении показателей пациентов с ХСН и реципиентов спустя 1 мес. после ТС; ** – при сравнении показателей реципиентов спустя 1 мес. и 1 год после ТС.

Note. * – comparison between groups of patients with CHF and recipients after 1 month after HT; ** – comparison between groups of recipients after 1 month and 1 year after HT.

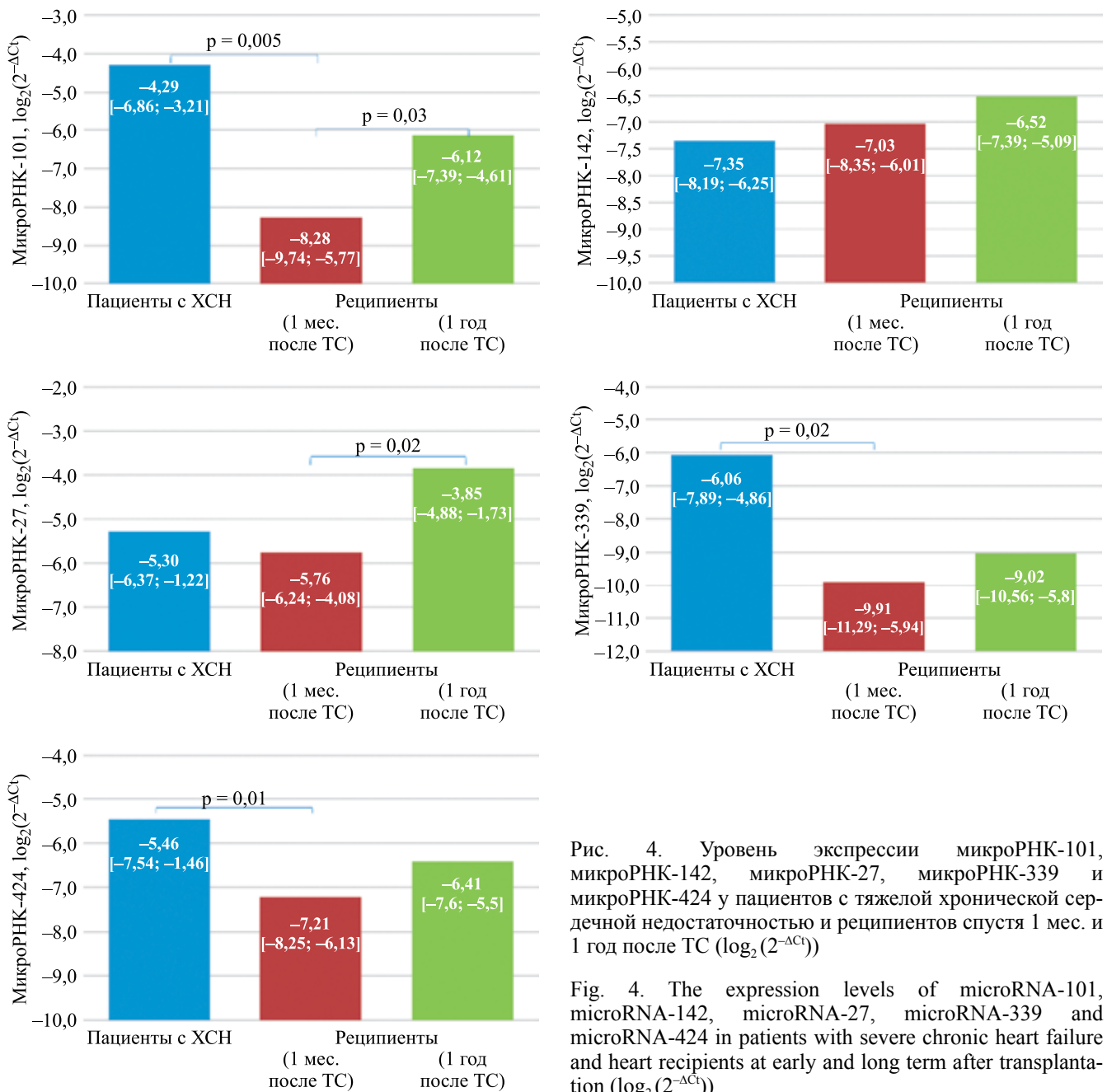


Рис. 4. Уровень экспрессии микроРНК-101, микроРНК-142, микроРНК-27, микроРНК-339 и микроРНК-424 у пациентов с тяжелой хронической сердечной недостаточностью и реципиентов спустя 1 мес. и 1 год после ТС ($\log_2(2^{-\Delta C_t})$)

Fig. 4. The expression levels of microRNA-101, microRNA-142, microRNA-27, microRNA-339 and microRNA-424 in patients with severe chronic heart failure and heart recipients at early and long term after transplantation ($\log_2(2^{-\Delta C_t})$)

дечной недостаточностью и реципиентов в различные сроки после трансплантации.

У реципиентов сердца спустя 1 мес. после трансплантации уровень экспрессии микроРНК-101, микроРНК-339 и микроРНК-424 был достоверно ниже, чем у пациентов с терминальной стадией хронической сердечной недостаточности.

Уровень экспрессии микроРНК-101 и микроРНК-27 у реципиентов сердца спустя 1 год и более после трансплантации был достоверно выше, чем через 1 мес. после ТС.

Не выявлено различий в экспрессии исследуемых микроРНК у пациентов с тяжелой хронической сердечной недостаточностью и реципиентов в отдаленные сроки после трансплантации ($p \geq 0,05$)

В ранние сроки после трансплантации уровень экспрессии микроРНК-101, микроРНК-339 и микроРНК-424 ниже, чем у пациентов с терминальной стадией хронической сердечной недостаточности. Спустя год и более после трансплантации уровень экспрессии микроРНК-101 и микроРНК-27 у реципиентов сердца повышается по сравнению с показателями в ранние сроки, что может отражать развитие процессов фиброобразования в трансплантате.

Представленные данные, полученные при исследовании большого количества реципиентов сердца, подтверждают результаты нашей предыдущей работы [11] в отношении достоверности различий уровня экспрессии микроРНК-101 у пациентов с терминальной стадией ХСН и реципиентов в ранние

Таблица 4

Сравнительный анализ корреляционной связи уровня экспрессии микроРНК в плазме крови реципиентов спустя год и более после трансплантации сердца с содержанием биомаркеров, потенциально значимых для диагностики посттрансплантационных осложнений

A comparative analysis of the correlation between of the microRNA expression levels in the blood plasma of the recipients at long-term after transplantation and the concentration of biomarkers potentially significant for the diagnosis of post-transplant complications

МикроРНК	Галектин-3	ST2	VEGF-A	PLGF-1	MCP-1	sCD40L	PAPP-A
МикроРНК-101	$r = 0,0673$, $p = 0,73$	$r = -0,209$, $p = 0,44$	$r = 0,119$, $p = 0,78$	$r = 0,491$, $p = 0,22$	$r = 0,143$, $p = 0,74$	$r = -0,429$, $p = 0,34$	$r = -0,557$, $p = 0,05$
МикроРНК-142	$r = -0,534$, $p = 0,05$	$r = 0,1$, $p = 0,87$	$r = 0,5$, $p = 0,67$	$r = 0,9451$, $p = 0,21$	$r = 0,5$, $p = 0,67$	н/д	$r = -0,4$, $p = 0,6$
МикроРНК-27	$r = 0,133$, $p = 0,51$	$r = -0,585$, $p = 0,02$	$r = 0,429$, $p = 0,34$	$r = 0,847$, $p = 0,02$	$r = 0,679$, $p = 0,09$	$r = -0,143$, $p = 0,79$	$r = -0,321$, $p = 0,34$
МикроРНК-339	$r = 0,0433$, $p = 0,83$	$r = -0,041$, $p = 0,88$	$r = 0,0303$, $p = 0,93$	$r = 0,377$, $p = 0,28$	$r = -0,03$, $p = 0,93$	$r = -0,405$, $p = 0,32$	$r = -0,303$, $p = 0,29$
МикроРНК-424	$r = 0,0148$, $p = 0,94$	$r = -0,542$, $p = 0,02$	$r = 0,286$, $p = 0,49$	$r = 0,539$, $p = 0,17$	$r = -0,381$, $p = 0,35$	$r = 0,2746$, $p = 0,55$	$r = -0,099$, $p = 0,76$

сроки после ТС, а также уровня микроРНК-101 и микроРНК-27 в ранние и отдаленные сроки после трансплантации. При этом показаны новые результаты относительно достоверности различий уровня экспрессии микроРНК-339 и микроРНК-424 у пациентов с терминальной стадией ХСН и реципиентов в ранние сроки после ТС.

Анализ корреляционной связи уровня экспрессии микроРНК в плазме крови реципиентов спустя 1 год и более после трансплантации с содержанием биомаркеров, потенциально значимых для диагностики посттрансплантационных осложнений, представлен в табл. 4.

У реципиентов сердца спустя 1 год и более после трансплантации уровень экспрессии микроРНК-142

имел обратную корреляцию с концентрацией галектина-3 (рис. 5).

Имеются данные о том, что микроРНК-142 экспрессируется Т-лимфоцитами и участвует в регуляции процессов острого клеточного отторжения трансплантированного сердца [18]. Корреляционная связь между уровнем экспрессии микроРНК-142 и концентрацией галектина-3 позволяет предположить участие иммунных механизмов в процессах фиброобразования миокарда у реципиентов сердца.

Уровни экспрессии микроРНК-27 и микроРНК-424 у реципиентов сердца спустя 1 год и более после трансплантации имели обратную корреляцию с концентрацией ST2 (рис. 6).

Показано, что микроРНК-424 играет важную роль в патогенезе легочной гипертензии и последующей гипертрофии правого желудочка через ингибирование функции специфического регуляторного фактора SMURF [19].

Уровень экспрессии микроРНК-101 имел обратную корреляцию с концентрацией PAPP-A, а уровень экспрессии микроРНК-27 – прямую корреляцию с концентрацией PLGF-1 ($r = -0,557$, $p = 0,05$ и $r = 0,847$, $p = 0,02$ соответственно). Изменение профиля экспрессии микроРНК-101 и микроРНК-27 связано с участием этих молекул в регуляции процессов фиброобразования миокарда через взаимодействие с фактором транскрипции RUNX1 и рецептором 1 трансформирующего фактора роста β (TGFBR1) [20, 21].

Корреляционных связей уровня экспрессии микроРНК-101, микроРНК-142, микроРНК-27, микроРНК-339 и микроРНК-424 и концентрации VEGF-A, MCP-1 и sCD40L у реципиентов сердца спустя 1 год и более после трансплантации не выявлено.

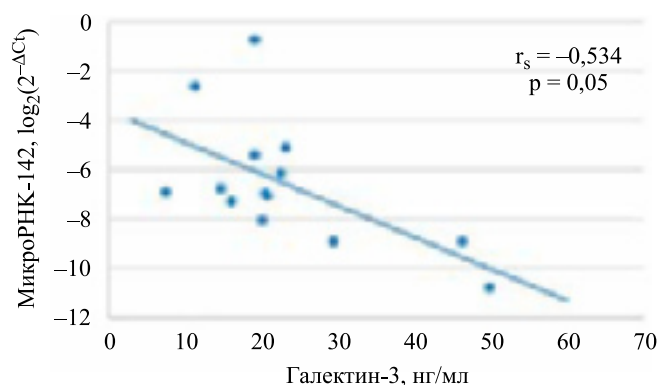


Рис. 5. Корреляционная связь уровня экспрессии микроРНК-142 и концентрации галектина-3 у реципиентов спустя 1 год и более после ТС ($\log_2(2^{-\Delta C_t})$)

Fig. 5. Correlation between the expression level of microRNA-142 and the concentration of Galectin-3 in heart recipients at long-term after transplantation ($\log_2(2^{-\Delta C_t})$)

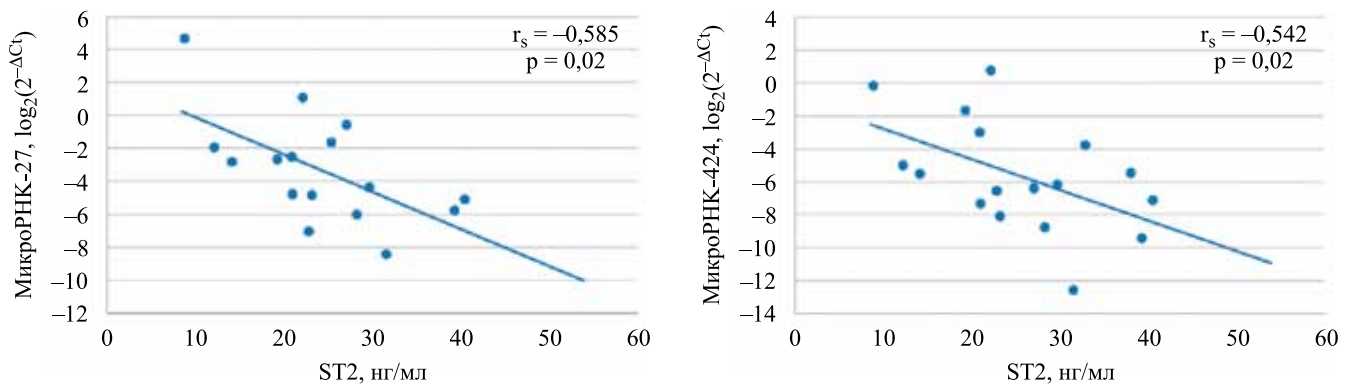


Рис. 6. Корреляционная связь уровня экспрессии микроРНК-27, микроРНК-424 и концентрации ST2 у реципиентов спустя 1 год и более после ТС ($\log_2(2^{-\Delta C_t})$)

Fig. 6. Correlation between the expression level of microRNA-27, microRNA-424 and the concentration of ST2 in heart recipients at long-term after transplantation ($\log_2(2^{-\Delta C_t})$)

У реципиентов сердца спустя год и более после трансплантации имеет место корреляционная связь между уровнем экспрессии микроРНК-142 и концентрацией галектина-3, уровнем экспрессии микроРНК-27, микроРНК-424 и концентрацией ST2, уровнем экспрессии микроРНК-27 и концентрацией PLGF-1, уровнем экспрессии микроРНК-101 и концентрацией PAPP-A. Связь уровня экспрессии микроРНК с концентрацией биомаркеров, потенциально значимых для диагностики посттрансплантационных осложнений у реципиентов сердца, не только подтверждает имеющиеся данные об участии этих сигнальных молекул в регуляции различных патологических процессов, в том числе в трансплантате, но и позволяет предположить их диагностический потенциал для оценки риска развития отторжения и возможности минимизации иммуносупрессивной терапии. В этой связи особенно перспективным может стать совместное использование микроРНК с биомаркерами посттрансплантационных осложнений для формирования комплексных тестов (мультимаркерных панелей), позволяющих диагностировать изменения на различных трансляционных уровнях. Дальнейшие комплексные исследования до- и посттрансляционных маркеров могут открыть новые перспективы как в диагностике, оценке рисков посттрансплантационных осложнений, так и в понимании процессов, ведущих к их развитию.

Исследование профинансировано грантом Президента Российской Федерации НШ-2598.2020.7 для государственной поддержки ведущих научных школ РФ.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Готье СВ, Шевченко АО, Попцов ВН. Пациент с трансплантированным сердцем: руководство для врачей по ведению пациентов, перенесших трансплантацию сердца. М.: Триада, 2014; 144. Gautier SV, Shevchenko AO, Popcov VN. Pacient s transplantirovanym serdцем: rukovodstvo dlya vrachej po vedeniyu pacientov, perenessih transplantaciyu serdca. M.: Triada, 2014; 144.
2. Crespo-Leiro MG, Barge-Caballero G, Couto-Mallon D. Noninvasive monitoring of acute and chronic rejection in heart transplantation. *Curr Opin Cardiol*. 2017 Mar 16. doi: 10.1097/HCO.0000000000000400. [Epub ahead of print].
3. Kransdorf EP, Kobashigawa JA. Novel molecular approaches to the detection of heart transplant rejection. *Per Med*. 2017 Jul; 14 (4): 293–297.
4. van Gelder T. Biomarkers in solid organ transplantation. *Br J Clin Pharmacol*. 2017 Dec; 83 (12): 2602–2604.
5. Starling RC, Stehlik J, Baran DA et al. Multicenter analysis of immune biomarkers and heart transplant outcomes: results of the clinical trials in organ transplantation-05 study. *American Journal of Transplantation*. 2016; 16: 121–136.
6. Savic-Radojevic A, Pljesa-Ercegovac M, Matic M et al. Novel biomarkers of heart failure. *Advances in Clinical Chemistry*. 2017; 79: 93–152.
7. Di Francesco A, Fedrigo M, Santovito D, Ntarelli L, Castellani C, De Pascale F et al. MicroRNA signatures in cardiac biopsies and detection of allograft rejection. *J Heart Lung Transplant*. 2018 Nov; 37 (11): 1329–1340.
8. Shah P, Bristow MR, Port JD. MicroRNAs in Heart Failure, Cardiac Transplantation, and Myocardial Recovery: Biomarkers with Therapeutic Potential. *Curr Heart Fail Rep*. 2017 Dec; 14 (6): 454–464.
9. Khush K, Zarafshar S. Molecular Diagnostic Testing in Cardiac Transplantation. *Curr Cardiol Rep*. 2017 Oct 13; 19 (11): 118.
10. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the

- 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*. 2001 Dec; 25 (4): 402–408.
11. Великий ДА, Гичкун ОЕ, Шарпченко СО, Шевченко ОП, Шевченко АО. Уровень экспрессии микроРНК в ранние и отдаленные сроки после трансплантации у реципиентов сердца. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2020; 22 (1): 26–34. Velikiy DA, Gichkun OE, Sharapchenko SO, Shevchenko OP, Shevchenko AO. Uroven' ekspressii mikroRNK v rannie i otdalennye sroki posle transplantacii u recipientov serdca. *Vestnik transplantologii i iskusstvennyh organov*. 2020; 22 (1): 26–34.
 12. Daly KP, Stack M, Eisenga MF, Keane JF, Zurakowski D, Blume ED, Briscoe DM. Vascular endothelial growth factor A is associated with the subsequent development of moderate or severe cardiac allograft vasculopathy in pediatric heart transplant recipients. *J Heart Lung Transplant*. 2017 Apr; 36 (4): 434–442.
 13. Albonici L, Giganti MG, Modesti A, Manzari V, Bei R. Multifaceted Role of the Placental Growth Factor (PlGF) in the Antitumor Immune Response and Cancer Progression. *Int J Mol Sci*. 2019 Jun 18; 20 (12): 2970.
 14. Abe T, Su CA, Iida S, Baldwin WM 3rd, Nonomura N, Takahara S, Fairchild RL. Graft-derived CCL2 increases graft injury during antibody-mediated rejection of cardiac allografts. *Am J Transplant*. 2014 Aug; 14 (8): 1753–1764.
 15. Michel NA, Zirlik A, Wolf D. CD40L and Its Receptors in Atherothrombosis-An Update. *Front Cardiovasc Med*. 2017 Jun 20; 4: 40.
 16. Grupper A, AbouEzzeddine OF, Maleszewski JJ et al. Elevated ST2 levels are associated with antibody-mediated rejection in heart transplant recipients. *Clin Transplant*. 2018; 32 (9): e13349.
 17. Coromilas E, Que-Xu EC, Moore D, Kato TS, Wu C, Ji R et al. Dynamics and prognostic role of galectin-3 in patients with advanced heart failure, during left ventricular assist device support and following heart transplantation. *BMC Cardiovasc Disord*. 2016 Jun 14; 16: 138.
 18. Sukma Dewi I, Hollander Z, Lam KK, McManus JW, Tebbutt SJ, Ng RT et al. Association of Serum MiR-142-3p and MiR-101-3p Levels with Acute Cellular Rejection after Heart Transplantation. *PLoS One*. 2017; 12 (1): e0170842.
 19. Baptista R, Marques C, Catarino S, Enguita FJ, Costa MC, Matafome P et al. MicroRNA-424(322) as a new marker of disease progression in pulmonary arterial hypertension and its role in right ventricular hypertrophy by targeting SMURF1. *Cardiovasc Res*. 2018 Jan 1; 114 (1): 53–64.
 20. Li X, Zhang S, Wa M, Liu Z, Hu S. MicroRNA-101 Protects Against Cardiac Remodeling Following Myocardial Infarction via Downregulation of Runt-Related Transcription Factor 1. *J Am Heart Assoc*. 2019 Dec 3; 8 (23): e013112.
 21. Zhang XL, An BF, Zhang GC. MiR-27 alleviates myocardial cell damage induced by hypoxia/reoxygenation via targeting TGFBR1 and inhibiting NF-κB pathway. *Kaohsiung J Med Sci*. 2019 Oct; 35 (10): 607–614.

Статья поступила в редакцию 22.07.2020 г.

The article was submitted to the journal on 22.07.2020

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ГЕМОЛИЗА КАНАЛЬНОГО ЦЕНТРОБЕЖНОГО НАСОСА

А.П. Кулешов¹, Г.П. Иткин^{1, 2}, А.С. Бучнев¹, А.А. Дробышев¹

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

² ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)», Москва, Российская Федерация

Целью работы является проведение исследований на математической модели по оценке гемолитических характеристик в разработанном нами канальном центробежном насосе в диапазоне скоростей рабочего колеса 2000–3400 об/мин и перепадом давления 100–250 мм рт. ст. в разных отделах проточного тракта насоса. Расчетный индекс гемолиза проведен при скоростях потока от 1 до 10 л/мин. Результатом работы явилась оценка среднего значения касательного напряжения (КН) с учетом распределения в насосе, которое составило от 40 до 60 Па. Были проведены оценки наиболее критичных с точки зрения травмы крови зон насоса. В результате расчетов определены максимальные КН в зоне РК 456 Па и прилегающей зоне корпуса 533,3 Па, при соответствующем времени экспозиции 0,0115 и 0,0821 с. В этих зонах наблюдаются максимальные значения ИГ 0,0420 и 0,0744. На основании полученных данных была проведена оптимизация данных зон с точки зрения минимизации гемолиза.

Ключевые слова: 3D-моделирование, механическая поддержка кровообращения, канальный центробежный насос, касательное напряжение, время экспозиции, индекс гемолиза.

MATHEMATICAL EVALUATION OF HEMOLYSIS IN A CHANNEL CENTRIFUGAL BLOOD PUMP

A.P. Kuleshov¹, G.P. Itkin^{1, 2}, A.S. Buchnev¹, A.A. Drobyshev¹

¹ Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation

² Moscow Institute of Physics and Technology, Moscow, Russian Federation

The objective of this work is to conduct research on a mathematical model to assess hemolytic characteristics in a channel centrifugal blood pump developed by us with 2000–3400 rpm impeller speed range and 100–250 mmHg pressure drop in different parts of the pump flow path. Hemolysis index was measured at 1 to 10 L/min flow rate. The result was an estimate of the average magnitude of the shear stress (SS), taking into account the distribution in the pump, which ranged from 40 to 60 Pa. The most critical areas of the pump in terms of blood injury were evaluated. The maximum SSs were determined: 456 Pa in the impeller wheel zone and 533.3 Pa in the adjacent area of the body, with an exposure time of 0.0115 s and 0.0821 s respectively. In these zones, maximum hemolysis index values were 0.0420 and 0.0744 respectively. Based on the data obtained, these zones were optimized in terms of minimizing hemolysis.

Keywords: 3D modeling, mechanical circulatory support, channel centrifugal blood pump, shear stress, exposure time, hemolysis index.

ВВЕДЕНИЕ

При разработке современных насосов вспомогательного кровообращения одним из основных этапов является предварительная теоретическая оценка

влияния работы насоса на показатели гемосовместимости с точки зрения минимизации условий, приводящих к травме крови [1, 2]. Для решения данной задачи применяются современные программные комплексы, которые в процессе проектирования на-

Для корреспонденции: Кулешов Аркадий Павлович. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (915) 292-47-98. E-mail: ilovemylene@yandex.ru

Corresponding author: Arkady Kuleshov. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, Russian Federation. Phone: (915) 292-47-98. E-mail: ilovemylene@yandex.ru

сосов позволят определять направления оптимизации конструкции насосов. В данной работе проведен теоретический анализ разработанного нами канального центробежного насоса (КЦН) с точки зрения минимизации травмы крови в условиях использования насоса при обходе левого желудочка сердца (ОЛЖ) и экстракорпоральной мембранной оксигенации (ЭКМО) с результатами расчетов касательного напряжения (КН) и времени экспозиции, которые являются основными параметрами, определяющими травму крови. С учетом полученных данных были оценены расчетные индексы гемолиза (НИН) для основных рабочих зон насоса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на разработанной нами модели КЦН с детальным расчетом компонентов насоса – входного тракта, рабочего колеса (РК), спирального отвода (СО) и выходного канала, а также переходных зон, которые более детально описаны в статье [3]. Общий вид насоса изображен на рис. 1.

Геометрические параметры проточного тракта РК представляют собой обновленную модель ло-



Рис. 1. Расчетная модель КЦН

Fig. 1. Calculation model of the channel centrifugal pump

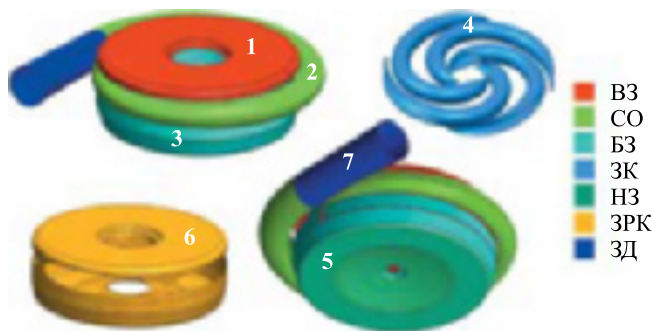


Рис. 2. Исследуемые зоны насоса. ВЗ – верхняя зона, СО – спиральный отвод, БЗ – боковая зона, ЗК – зона каналов, НЗ – нижняя зона, ЗРК – зона рабочего колеса, ЗД – зона диффузора

Fig. 2. Pump areas for investigation. ВЗ – upper area, СО – spiral branch, БЗ – sidewall area, ЗК – area of the cannels, НЗ – lower area, ЗРК – area of the impeller, ЗД – area of the diffuser

пастной структуры закрытого типа. Внутренний диаметр входной канюли составляет 10 мм. В диске РК с наружным диаметром 46 мм имеются четыре трубчатых канала постоянного сечения диаметром 5 мм. Каждый канал сформирован по логарифмической спирали и имеет круглое сечение, обеспечивающее условия ламинарного течения. Основные элементы насоса представлены на рис. 2. Вращение РК осуществляется за счет магнитной муфты, которая представляет собой механизм бесконтактной передачи энергии вращения от привода насоса к РК. Выходной канал оканчивается 10-мм штуцером (8). Зазоры между РК и внутренней поверхностью составили 500 мкм. В работе оценка КН проведена для семи основных критических с точки зрения травмы крови зон насоса, показанных на рис. 2: верхняя зона – ВЗ (1726,9 мм²), зона спирального отвода – СО (1449,2 мм²), боковая зона – БЗ (1135,0 мм²), зона каналов – ЗК (3152,3 мм²), нижняя зона – НЗ (1688,9 мм²), зона рабочего колеса – ЗРК (4435,1 мм²) и зона диффузора – ЗД (473,3 мм²).

На основании предварительных компьютерных исследований была построена 3D-модель КЦН в программном обеспечении Solid Works Corporation (Concord, MA), послужившая основой для построения конструкции КЦН. Для моделирования расчетной сетки КЦН были использованы ресурсы программного пакета Fluent v16.0 (ANSYS inc., Canonsburg, Pennsylvania). В программном комплексе использована SST-модель турбулентного потока, адаптированная для расчетов вблизи стенки. Рабочая жидкость была принята несжимаемой и ньютоновской с вязкостью 4,0 СП, плотностью 1,050 кг/м³, что отражает картину ожидаемого гематокрита 35%. При этом концентрация и размеры частиц были выбраны в соответствии с физиологией форменных элементов крови. Выбор граничных условий отражал параметры применения КЦН в процедурах ОЛЖ и ЭКМО. Диапазон скорости вращения РК КЦН от 2000 до 3400 об/мин с шагом 200. Пять рабочих точек для анализа были выбраны таким образом, чтобы охватить клинически значимую рабочую область: 1,0 л/мин (низкий расход), 2,5; 5; 7,5 л/мин (номинальный расход) и 10,0 л/мин (высокий расход). Шероховатость поверхности выбрана 10 мкм.

Расчет касательного напряжения и индекса гемолиза

Па вызывают активацию тромбоцитов, а неконтролируемый гемолиз происходит при значениях выше 150 Па [4], которое нами принято в качестве порогового значения. Исследуемое КН τ при установившейся скорости движения жидкости v изменяется по линейному закону в зависимости от расстояния от стенки y независимо от характера движения [5]:

$$\tau = \mu \frac{dv}{dy} \quad (1)$$

где μ – динамический коэффициент вязкости.

Важным фактором является время экспозиции (ВЭ). В этом исследовании расчет t был произведен по среднему времени пробега частицы, полученному в программном расчете. Значение ВЭ вычисляется как среднее по времени 10 треков частицы. При этом ВЭ вычисляется как расстояние между начальной и конечной точками вдоль исследуемой зоны, деленное на среднюю скорость по сегменту.

Одним из важных аспектов вызванного потоком повреждения крови является гемолиз, определяемый как высвобождение гемоглобина в плазму вследствие повреждения мембраны эритроцитов. КНН, вызываемое насосом, и Vt являются основными факторами, вызывающими гемолиз. По-прежнему считается полезным для инженерных задач степенное уравнение оценки количества прироста высвобожденного гемоглобина ΔHb , выраженного в единицах концентрации, относительно базового значения Hb [4, 6].

$$\frac{\Delta Hb}{Hb} = A \times t^\alpha \tau^\beta, \quad (2)$$

где τ – касательное напряжение, действующее на кровь, а t – ВЭ в области касательного напряжения.

Модель Goubergrits and Affeld, которая использует численную модель Эйлера для гемолиза, рассчитывается с помощью коэффициентов уравнения $A = 3,62 \times 10^{-7}$, $\alpha = 0,785$, $\beta = 2,416$. Константы успешно используются, несмотря на то что их действительность была поставлена под сомнение многими исследователями за то, что они завышают гемолиз в значительной степени [7–9].

РЕЗУЛЬТАТЫ РАСЧЕТОВ

Расчеты проведены на частицах, размером сопоставимых с размерами эритроцита. ВЭ составило в среднем от 0,6 до 0,08 секунды на всем диапазоне входных параметров при увеличении расхода через насос. На рис. 3 показано изменение КН в каналах, на рабочем колесе и на внутренней поверхности насоса. Выделены максимальные значения КН по каждой области, показанные на рис. 4 для каждой зоны, которые являются оценочным критерием гемолиза. Для этих целей были рассмотрены области выше пороговых напряжений. За основу критического КН было взято значение 150 Па.

Проведенные расчеты показали стабильное увеличение максимального значения КН при увеличении скорости вращения с 2000 до 3400 и переходе

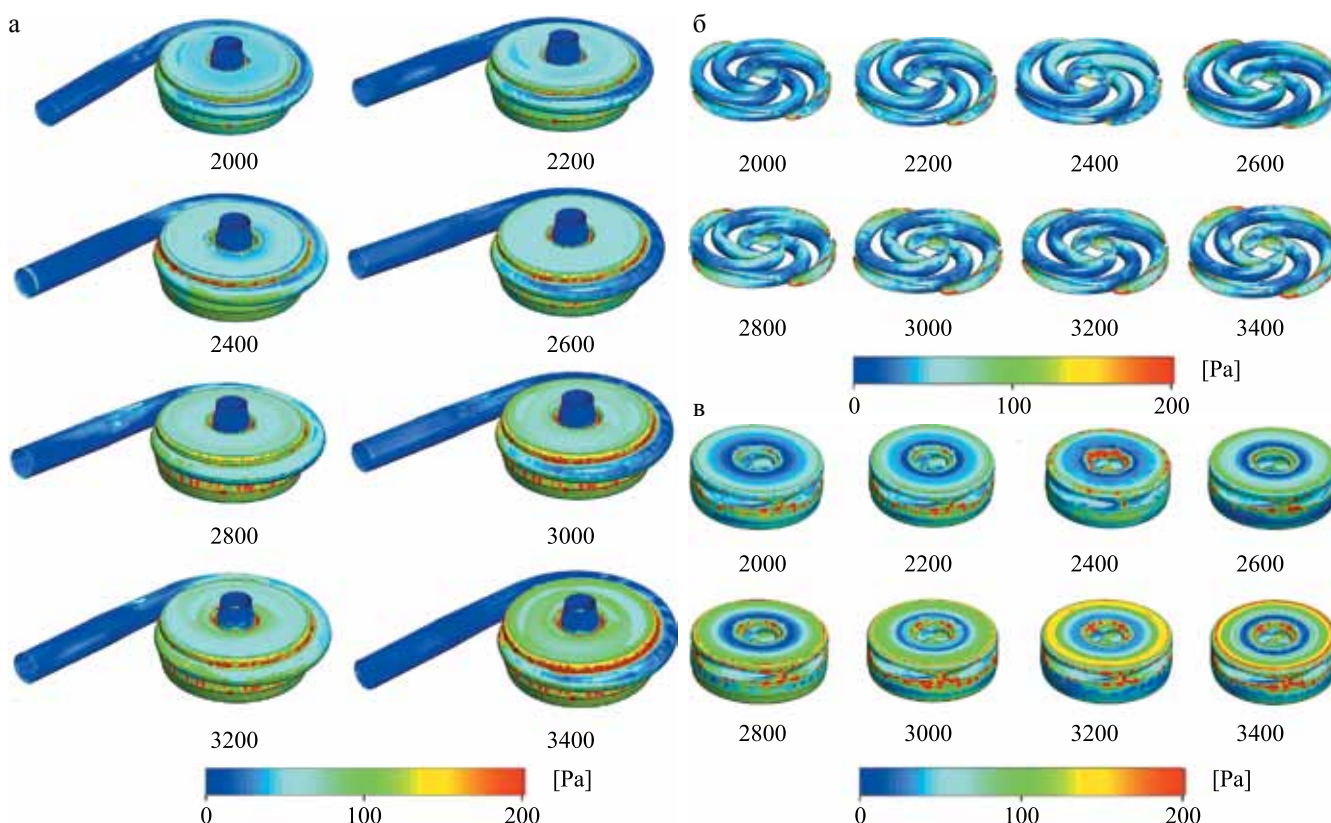


Рис. 3. Изменение КН в полости насоса (а), в каналах (б) и на поверхности РК (в) при увеличении оборотов рабочего колеса и фиксированном расходе 5 л/мин

Fig. 3. Change of shear stress in the pump cavity (a), in the channels (б) and on the surface of the impeller (в) with an increase of the impeller's speed and a fixed flow rate of 5 l/min

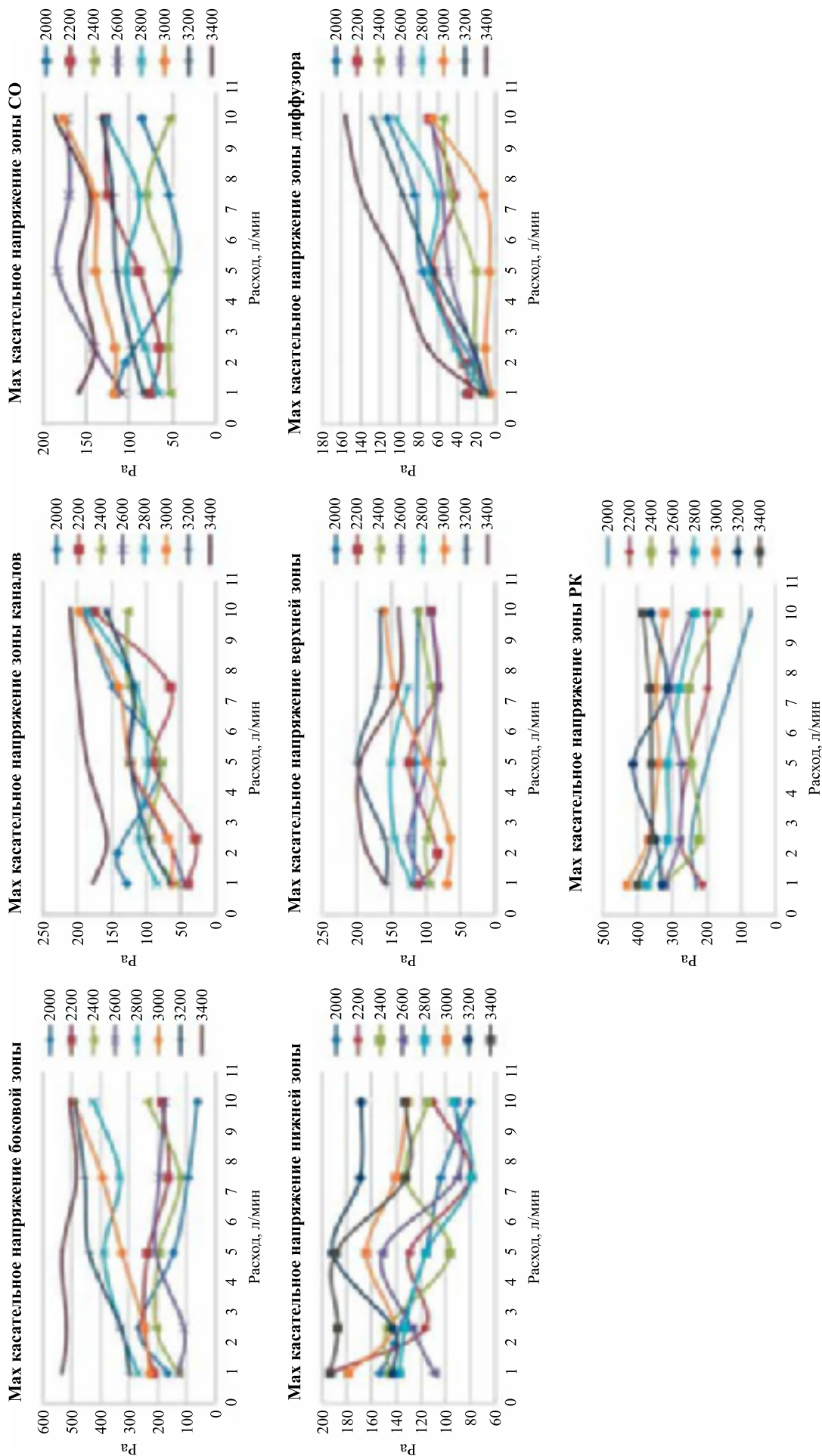


Рис. 4. Максимальное касательное напряжение в исследуемых областях

Fig. 4. Maximum shear stress in the studied areas

от режима ОЛЖС к ЭКМО. Среднее значение КН не превысило критического порога. Наибольшие значения получены в областях ЗРК и БЗ. Также имеется тенденция к увеличению значений КН при увеличении расхода, который нагружает спиральный отвод и диффузор. На основе полученных данных и расчетов t выведены зависимости среднего индекса гемолиза (ИГ) (рис. 5).

ИГ увеличивается с увеличением расхода и при повышении скорости вращения РК, однако находится в пределах допустимой нормы. Так как оценка среднего ИГ отражает только общую тенденцию изменения параметров воздействия полости насоса на кровь, наиболее достоверным признаком гемолиза является зона высокого КН выше 150 Па. В этом случае были проанализированы максимальные значения КН в каждой рассматриваемой зоне насоса. Необходимо учитывать, что значения КН, превышающие критический порог, имеют высокий разброс значений – от 150 до 500 Па. Ввиду этого оценка ИГ для каждого значения выше 150 Па является нецелесообразной. Поэтому было сделано допущение, в результате которого расчет ИГ был произведен на основе максимального значения КН и t , наблюдаемых в отдельной исследуемой зоне. В результате этого можно предположить, что расчет максимального ИГ будет несколько завышен, но тем не менее он отражает основные значения гемолиза. Помимо КН для оценки результатов воздействия насоса на кровь проведена численная оценка площади поверхности, вызывающей гемолиз эритроцитов для каждой зоны. В данном случае площадь представляет собой сумму областей высоких КН более 150 Па. На рис. 6 показаны средние и максимальные значения индекса гемолиза в каждой зоне. Данные расчеты объективно показывают важность оптимизации зоны РК и БЗ. Остальные области не требуют существенной доработки.

Для примера рассмотрен наиболее критичный режим работы насоса в системах ЭКМО, при скорости вращения рабочего колеса 3400 об/мин. Были выписаны средние и максимальные значения ИГ в рассматриваемых зонах, площади воздействия на



Рис. 5. Изменение расчетного среднего ИГ КЦН

Fig. 5. Change in the calculated average hemolysis index of the channel centrifugal pump

эритроциты и t по каждой зоне. Значения были записаны в таблице для расхода 5 л/мин.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты моделирования CFD и математического расчета позволили проанализировать конструкцию КЦН с оценкой КН и гемолиза в условиях его работы в системах ОЛЖС и ЭКМО в широком диапазоне расхода крови. Одним из основных результатов проведенного расчета является оценка ВЭ в различных областях насоса, которое определяет длительность воздействия на форменные элементы крови. Для зон характерно снижение ИГ при увеличении расхода, что можно объяснить снижением ВЭ. Было показано, что расчетное время экспозиции крови для зон не превышает 0,09 с, что в совокупности с КН в диапазоне 150–200 Па определяет низкий уровень гемолиза для таких зон, как ВЗ, НЗ, ЗК и ЗД. Зона СО имеет одно из наиболее высоких ВЭ, но низкое КН, что также обеспечивает низкий уровень ИГ. В критических областях, таких как БЗ и РК, наблюдаются максимальные значения ИГ 0,0420 и 0,0744. Это объясняется высоким КН – 533,3 Па на внутренней боковой поверхности и 456 Па на боковой поверхности РК, при соответствующем t 0,0115 и 0,0821.

При максимальных оборотах РК увеличивается площадь воздействия на форменные элементы крови

Таблица

Распределение параметров для зон насоса при расходе 5 л/мин и 3400 об/мин
Distribution of parameters in the pump areas at the flow rate of 5 L/min and 3400 rpm

Зона	ВЗ	БЗ	НЗ	ЗК	ЗРК	СО	ЗД
Среднее КН, Па	87,0	170,1	60,1	42,5	140,7	50,2	14,3
Максимальное КН, Па	189,2	533,3	189,2	185,3	359,0	157,1	100,7
Индекс по максимальному КН	0,0083	0,042	0,0091	0,0037	0,0744	0,0105	0,0022
Площадь зоны, мм ²	1726	1135	1688	3152	4435	1449	473
Площадь зоны высокого КН >150 Па, мм ² (% от зоны)	100 (5,8%)	566 (49,8%)	302 (17,9%)	60 (1,9%)	788 (17,8%)	103 (7,1%)	0 (0%)
ВЭ, с	0,0321	0,0115	0,0411	0,0352	0,0821	0,0832	0,0240

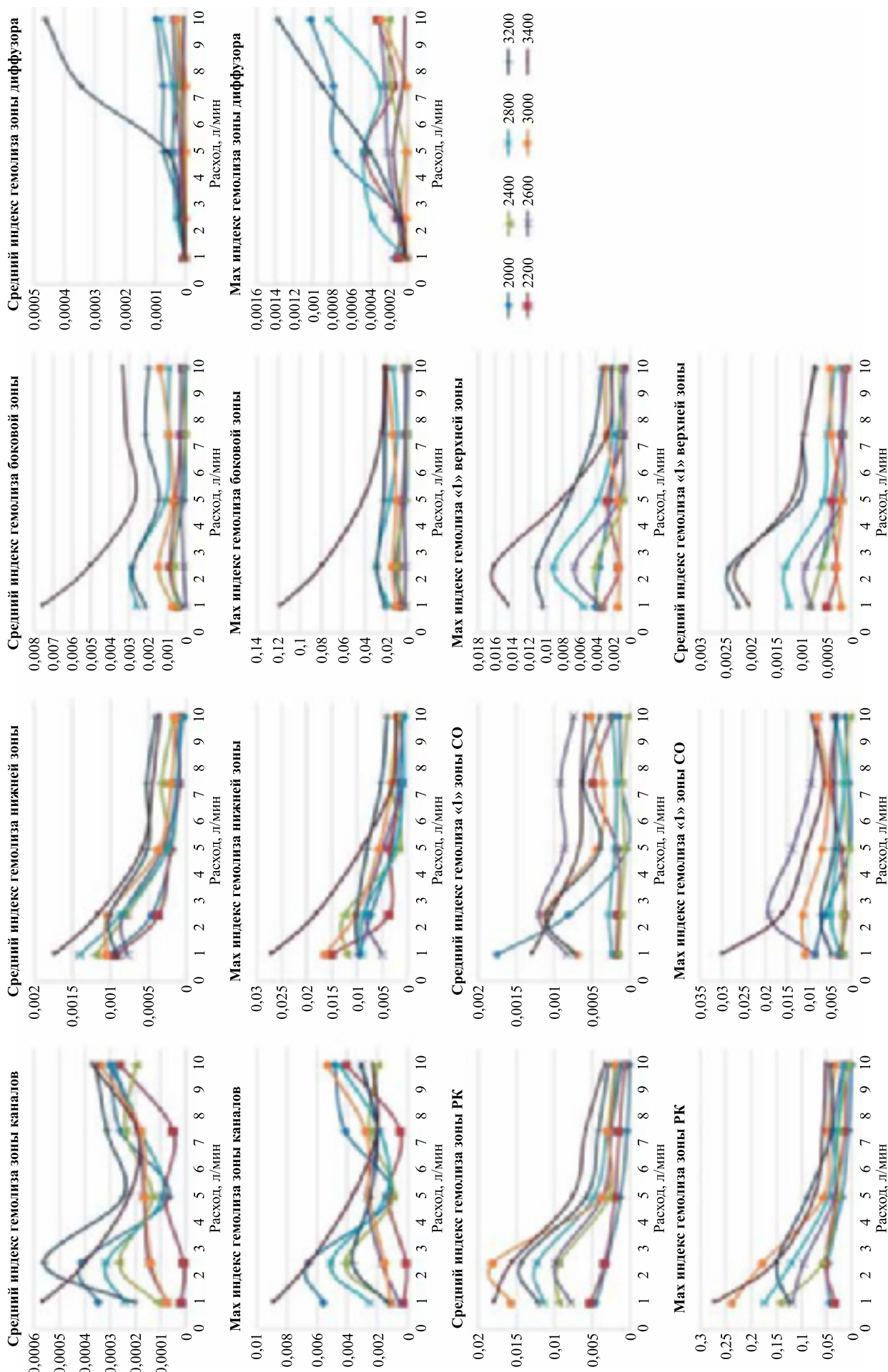


Рис. 6. Зависимости среднего и максимального индекса гемолиза в оцениваемых зонах КЦН

Fig. 6. Dependences of the average and maximum hemolysis index in the evaluated areas of channel centrifugal pump

с КН выше 150 Па. На примере режима работы насоса в системах ЭКМО ВЗ, ЗК, СО и НЗ практически не влияют на кровь. В НЗ наблюдается умеренное распространение высокого параметра КН. Значительное преобладание областей с высоким КН замечено в БЗ и РК.

Также стоит отметить увеличение напряжения в спиральном отводе, особенно в области перехода в диффузор при низких и высоких расходах жидкости. Это можно объяснить высоким давлением в этой области и высокой скоростью. Зоны высоких скоростей связаны с увеличением гидросопротивлений при развитии турбулентного течения и повышении вязкости жидкости. Данный факт обуславливает резкое повышение касательного напряжения в области перехода спирального отвода в диффузор для каждой скорости вращения РК.

Полученные результаты дают основания для проведения оптимизации СО, БЗ и ЗРК, которые критические с точки зрения воздействия на кровь зон насоса. Наиболее важным решением представляется расширить площадь СО, увеличив его пропускную способность. Так как каналы постоянного сечения обеспечивают оптимальные параметры КН, то расширение диаметра канала на 5–7 процентов позволит сохранить расход при более низких оборотах РК. Это уменьшит радиальную скорость потока при выходе из канала, что в соответствии с уравнением (1) обеспечивает снижение КН. Увеличение боковых зазоров между РК и БЗ также снизит КН.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Компьютерный анализ CFD в системах автоматизированного проектирования становится основным инструментом для исследования множества разработок медицинских устройств МПК. Однако этот инструмент имеет свои ограничения. Расчетные диапазоны КН в насосах необходимы для предварительной оценки гемосовместимости насосов с точки зрения вероятности травмы крови и послужат основанием оптимизации насосов.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Wiegmann L, Thamsen B, de Zélicourt D, Granegger M, Boës S, Schmid Daners M, Kurtcuoglu V. Fluid dynamics in the HeartMate 3: Influence of the artificial pulse feature and residual cardiac pulsation. *Artif Organs*. 2019 Apr 7; 43 (4): 363–376. Epub 2018 Nov 7. doi: 10.1111/aor.13346.
2. Thamsen B, Gülan U, Wiegmann L, Loosli C, Schmid Daners M, Kurtcuoglu V et al. Assessment of the Flow Field in the HeartMate 3 Using Three-Dimensional Particle Tracking Velocimetry and Comparison to Computational Fluid Dynamics. *ASAIO Journal*. 2019; 1. doi: 10.1097/mat.0000000000000987.
3. Кулешов АП, Иткин ГП, Байбиков АС. Разработка центробежного насоса канального типа. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2018; 20 (3): 32–39. Kuleshov AP, Itkin GP, Baybikov AS. Razrabotka tsentrobezhnogo nasosa kanal'nogo tipa. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2018; 20 (3): 32–39.
4. Thamsen B, Blümel B, Schaller J, Paschereit CO, Afeld K, Goubergrits L, Kertzscher U. Numerical Analysis of Blood Damage Potential of the HeartMate II and HeartWare HVAD Rotary Blood Pumps. *Artificial Organs*. 2015; 39 (8): 651–659. doi: 10.1111/aor.12542.
5. Ломакин АА. Центробежные и осевые насосы. 2-е изд., перераб. и доп. М.–Л.: Машиностроение, 1966. 364. Lomakin AA. Tsentrobezhnye i osevye nasosy. 2-e izd., pererab. i dop. M.–L.: Mashinostroenie, 1966. 364.
6. Taskin ME, Fraser KH, Zhang T, Gellman B, Fleischli A, Dasse KA et al. Computational Characterization of Flow and Hemolytic Performance of the UltraMag Blood Pump for Circulatory Support. *Artificial Organs*. 2010; 34 (12): 1099–1113. doi: 10.1111/j.1525-1594.2010.01017.x.
7. Paul R, Schügner F, Reul H, Ray G. Recent findings on flow induced blood damage: critical shear stresses and exposure times obtained with a high shear stress Couette system. *Artif Organs*. 1999; 23: 680.
8. Schima H, Müller MR, Tsangaris S et al. Mechanical blood traumatization by tubing and throttles *in vitro* pump tests: Experimental results and implications for hemolysis theory. *Artif Organs*. 1993; 17: 167–170.
9. De Wachter D, Verdonck P, Verhoeven R, Hombrouckx R. Red cell injury assessed in a numerical model of a peripheral dialysis needle. *ASAIO J*. 1996; 42: M524–29.

Статья поступила в редакцию 17.06.2020 г.
The article was submitted to the journal on 17.06.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-3-86-98

ПЕРВЫЙ ОТЕЧЕСТВЕННЫЙ ОПЫТ АЛЛОТРАНСПЛАНТАЦИИ ТРУПНОЙ ПОЧКИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РОБОТИЗИРОВАННОЙ СИСТЕМЫ DA VINCI

В.Л. Медведев, В.А. Порханов, К.Е. Чернов, С.Н. Волков, Г.А. Палагута, О.В. Арепьева, Е.В. Гердель

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

Трансплантация почки является предпочтительным методом лечения больных с терминальной стадией почечной недостаточности. В целях снижения количества осложнений открытой хирургии в ряде клиник США и Европы в настоящее время развивается робот-ассистированная техника операций. Согласно литературным данным, роботизированная хирургия позволяет осуществлять трансплантацию почки в оптимальных для хирурга условиях, с сопоставимыми по сравнению с открытым доступом функциональными результатами и безопасностью для пациента. Мы сообщаем о нашем первом в Российской Федерации опыте выполнения лапароскопической гетеротопической трансплантации трупной почки с использованием роботизированной системы Da Vinci.

Ключевые слова: трансплантация почки, роботизированная система Da Vinci.

CADAVERIC KIDNEY ALLOGRAFT TRANSPLANTATION USING THE DA VINCI ROBOTIC SURGICAL SYSTEM. INITIAL EXPERIENCE IN THE RUSSIAN FEDERATION

V.L. Medvedev, V.A. Porkhanov, K.E. Chernov, S.N. Volkov, G.A. Palaguta, O.V. Arepyeva, E.V. Gerdel

Ochapovsky Regional Clinical Hospital No. 1, Krasnodar, Russian Federation

Kidney transplantation is the treatment of choice for patients with end-stage renal disease. In order to reduce the number of postoperative complications following open surgeries, a number of clinics in the USA and Europe are currently developing robot-assisted surgical techniques. Studies have shown that robotic surgery facilitates kidney transplantation under optimal ergonomic position for the surgeon, with functional results and patient safety comparable to those obtained under an open approach. We herein present our initial experience (in the Russian Federation) on heterotopic cadaveric kidney transplantation by laparoscopic surgery using the Da Vinci robotic surgical system.

Keywords: kidney transplantation, Da Vinci robotic surgical system.

ВВЕДЕНИЕ

Минимально инвазивная хирургия позволяет уменьшить послеоперационный болевой синдром и количество ранних послеоперационных осложнений по сравнению с традиционными открытыми операциями, что, в свою очередь, способствует более ранней активизации пациентов [1–5]. Роль мини-ин-

вазивной хирургии особенно важна у ряда больных, перенесших трансплантацию почки, так как зачастую у них присутствует тяжелая сопутствующая патология, сопровождающаяся иммунодефицитом после хирургического вмешательства. У таких пациентов существует очень высокий риск развития послеоперационных осложнений, что, несомненно, влияет не только на сроки реабилитации, но и ставит под

Для корреспонденции: Чернов Кирилл Евгеньевич. Адрес: 350086, Краснодар, ул. 1 Мая, 167. Тел. (861) 252-87-32, моб. тел. +7 (967) 302-33-30. E-mail: chernov_ke@mail.ru

Corresponding author: Kirill Chernov. Address: 167, Pervaya Maya str., Krasnodar, 350086, Russian Federation. Phone: (861) 252-87-32; mobile phone: (967) 302-33-30. E-mail: chernov_ke@mail.ru

угрозу как жизнеспособность трансплантата, так и жизнь самого больного [6–9].

Техника мини-инвазивных операций в трансплантации почки была описана совсем недавно [10–12]. В 2010 году Modi et al. разработали лапароскопический метод трансплантации почки [10]. Giulianotti et al. впервые выполнили и описали методику роботизированной трансплантации [11]. Тем не менее авторы отмечали более медленное восстановление функции трансплантата по сравнению с открытой хирургией [13, 14]. Первоначально использовалась хирургическая техника без охлаждения почечного трансплантата. Для снижения времени тепловой ишемии ряд авторов модернизировали методику [15] и стали использовать всевозможные устройства для интраоперационного, интраперитонеального охлаждения трансплантата, которое и мы использовали в проведении операции. Всего в клиниках США и Европы накоплен опыт до 500 подобных операций. В отечественной литературе не удалось найти публикаций о проведении такого рода хирургических вмешательств. В нашей клинике трансплантации почек проводятся с 2009 г., на 01.01.2020 г. выполнено 467 операций почки. С декабря 2014 г. в НИИ – Краевой клинической больнице № 1 им. проф. С.В. Очаповского появилась возможность выполнять операции с использованием роботизированной системы Da Vinci Si. С этого момента по январь 2020 г. выполнено более 900 робот-ассистированных оперативных вмешательств различной категории сложности: радикальная простатэктомия с расширенной тазовой лимфаденэктомией, резекция почки при опухолевом поражении, с высоким индексом RENAL, радикальная цистэктомия с ортотопической и гетеротопической кишечной деривацией мочи у мужчин и женщин, пластика лоханочно-мочеточникового сегмента, уретероцистоанастомоз, аденомэктомия и прочие оперативные вмешательства. Благодаря большому опыту профессора В.Л. Медведева и его коллектива, выполняющих как открытые и лапароскопические, так и роботизированные операции, а также осуществляющих трансплантацию почки, стало возможным успешное выполнение данной операции.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Клинический случай № 1

Реципиент – женщина, 55 лет, индекс массы тела (ИМТ) – 36,9 (рис. 1). В 2000 г. у больной был диагностирован аутосомно-доминантный поликистоз почек. С 2004 г. наступила почечная недостаточность, в связи с чем проводилось консервативное лечение. В феврале 2008 г. диагностирована терминальная почечная дисфункция, что потребовало проведения заместительной почечной терапии методом гемодиализа 3 раза в неделю по 5 часов. В связи с большими

размерами почек для подготовки к трансплантации в 2013 г. выполнены последовательно нефрэктомии справа и слева из люботомных доступов. Пациентка включена в лист ожидания трансплантации. Реципиент вызвана из листа ожидания почечного трансплантата, согласно протоколу типирования, 19.03.16 г. Группа крови A(II). Гемотрансфузий не было. Лабораторные данные при поступлении в стационар: мочевины 11,65 ммоль/л, креатинин 487 мкмоль/л. Донор – мужчина 50 лет – и реципиент идентичны по системе ABO и по антигенам системы HLA (I и II класса).

Клинический случай № 2

Реципиент – мужчина, 28 лет, ИМТ – 37,8 с алиментарным ожирением (рис. 2). С 2012 года пациент отмечал повышение артериального давления (АД) до 200/120 мм рт. ст. С июля 2017 года почувствовал ухудшение состояния в виде неконтролируемой гипертензии, выраженной общей слабости и одышки. 10.08.2017 г. пациент госпитализирован в центральную районную больницу (ЦРБ) в связи с гипертоническим кризом. При обследовании выявлена азотемия (мочевина – 26,8 ммоль/л, креатинин – 800 мкмоль/л). Установлен клинический диагноз «хронический гломерулонефрит, гипертонический вариант». Пациент начал получать заместительную почечную терапию методом программного гемодиализа. С 23.01.2018 г. включен в лист ожидания почечного трансплантата, 11.10.18 г. он вызван из



Рис. 1. Внешний вид пациента № 1 перед операцией

Fig. 1. The appearance of patient № 1 before surgery

листа ожидания согласно протоколу типирования. Группа крови (0)1. Гемотрансфузий не было. Лабораторные показатели при поступлении в стационар: мочевина 14,16 ммоль/л, креатинин 612,9 мкмоль/л. Донор – женщина 27 лет – и реципиент идентичны по системе АВ0 и по антигенам системы HLA (I и II класса).



Рис. 2. Внешний вид пациента № 2 перед операцией

Fig. 2. The appearance of patient № 2 before surgery



Рис. 3. Положение портов (троакаров)

Fig. 3. The position of the ports (trocars)

ТЕХНИКА И ЭТАПЫ ОПЕРАЦИИ

Положение больного и расположение портов

Пациенты на операционном столе находились в позиции, как при стандартном разработанном вмешательстве на органах таза, лежа на спине с разведенными ногами [16,17]. У первой пациентки на 4–5 см выше пупка по срединной линии выполнен вертикальный разрез кожи длиной до 4 см и осуществлен открытый вход в брюшную полость под визуальным контролем (учитывая проведенную ранее пластику вентральной грыжи). А у второго пациента закрытым способом установлен основной телескопический троакар. Другие порты, в том числе три 8-мм роботизированных и один 12-мм порт ассистента установлены, как указано на рис. 3 [16, 18].

После этого операционный стол переводился в положение Тренделенбурга, и у ножного конца стола располагалась роботизированная система Da Vinci Si (Intuitive Surgical, Sunnyvale, CA, USA) и фиксировали манипуляторы (рис. 4).

Подготовка сосудов

В обоих случаях начальные этапы операции совпадали. Выполнена лапароскопия и ревизия брюшной полости объективом камеры 30°. Патологических изменений в брюшной полости не было выявлено. Идентифицированы правые наружные подвздошные

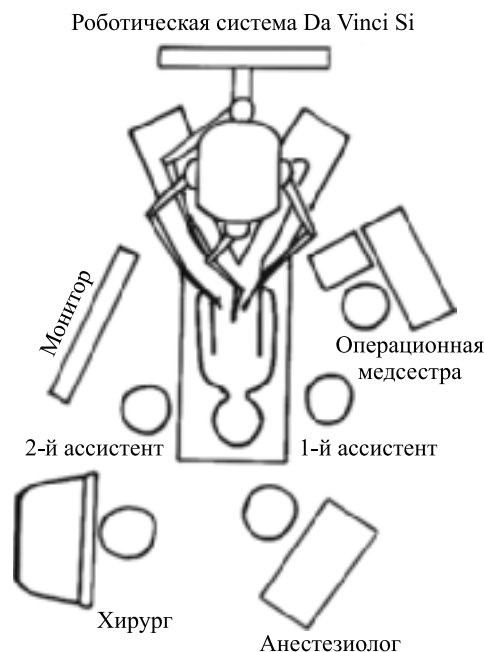


Рис. 4. Расположение пациента, операционной бригады и роботической системы в операционной

Fig. 4. The location of the patient, the operating team and the robot system in the operating room

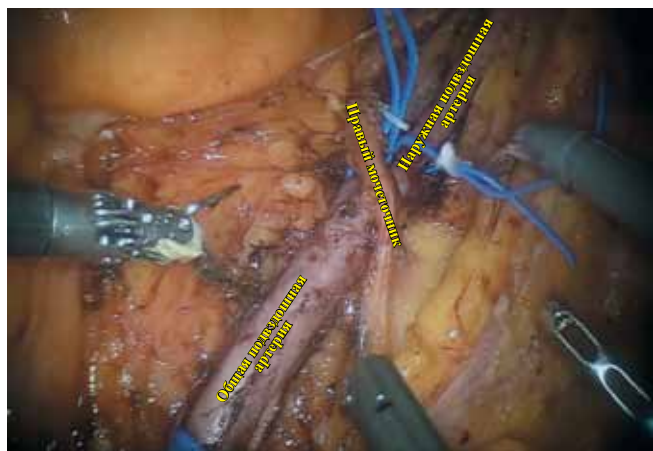


Рис. 5. Правые подвздошные (общая, наружная и внутренняя) артерии

Fig. 5. Right iliac (common, external and internal) arteries



Рис. 6. Правые наружные подвздошные артерия и вена

Fig. 6. Right external iliac artery and vein

сосуды, над их проекцией рассечена париетальная брюшина. Выделены правые общие, наружные, внутренние артерии и вены, после чего сосуды взяты на турникеты (рис. 5, 6).

Подготовка почечного трансплантата

Одновременно с подготовкой реципиента и началом роботизированного этапа в соседней операционной производился забор трупной почки и препарирование почечного трансплантата. В каждом случае трупная почка выделялась из паранефральной клетчатки, препарировались почечные сосуды (1 артерия и 1 вена в обоих случаях), мобилизовался мочеточник с брыжейкой. Почечный трансплантат был обернут несколькими турами марлевой салфетки, предварительно пропитанной ледяной крошкой и физиологическим раствором хлорида натрия, и помещался в стерильный полиэтиленовый контейнер со льдом, в который вводилась хлорвиниловая трубка длиной 12 см и диаметром 16Ch. К последней подсоединялась система для инфузии ледяным физиологическим раствором с целью поддержания дальнейшего интраперитонеального охлаждения. Почечные сосуды трансплантата выводились наружу через отверстие в контейнере (рис. 7).

В первом случае у пациентки матка была взята на держалки отдельными швами и отведена вперед и вверх к передней брюшной стенке. В Дугласовом пространстве, в проекции заднего свода влагалища шириной до 5 см выполнен поперечный разрез брюшины и рассечена на всю глубину стенка влагалища, и через влагалище проводился рукав из полиэтилена, по которому в брюшную полость заводился трансплантат в контейнере и размещался в правой подвздошной области (рис. 8–11).



Рис. 7. Подготовка почечного трансплантата

Fig. 7. Renal transplant preparation



Рис. 8. Этап трансвагинального заведения почечного трансплантата

Fig. 8. The stage of transvaginal input of renal transplant



Рис. 9. Положение контейнера с трансплантатом в брюшной полости

Fig. 9. The position of the transplant container in the abdominal cavity



Рис. 10. Положение почечной вены трансплантата относительно подвздошных сосудов реципиента перед выполнением анастомоза

Fig. 10. The position of the renal vein of the graft relative to the iliac vessels of the recipient before performing the anastomosis

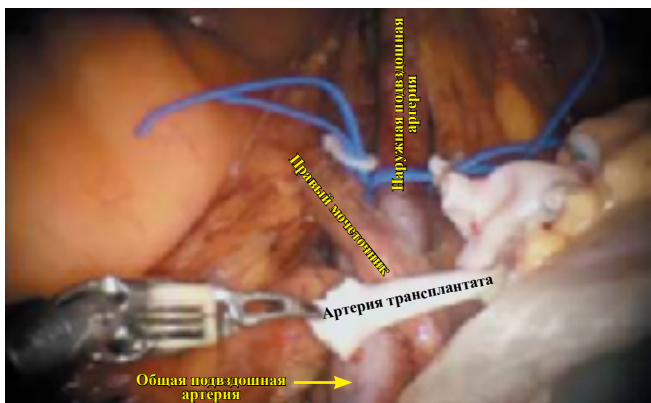


Рис. 11. Положение почечной артерии трансплантата относительно подвздошных сосудов реципиента перед выполнением анастомоза

Fig. 11. The position of the renal artery transplant relative to the iliac vessels of the recipient before performing anastomosis



Рис. 12. Подключение системы орошения трансплантата ледяным физиологическим раствором

Fig. 12. Connecting the transplant irrigation system with ice-cold saline

Свод влагалища ушит непрерывным швом резорбируемой нитью. Ушита брюшина.

Во втором случае выполнена мини-лапаротомия доступом по Пфанненштилю. В полость малого таза по полиэтиленовому рукаву погружен почечный трансплантат в контейнере. Лапаротомная рана ушита послойно наглухо.

Через отдельный прокол в правой подвздошной области в брюшную полость заведена система для подачи и орошения трансплантата физиологическим

раствором хлорида натрия +2 °С с целью минимизировать время тепловой ишемии почки (рис. 12).

Наложение венозного анастомоза

Сосудистый этап операции начинался с выполнения венозного анастомоза. На проксимальные и дистальные концы предварительно выделенных подвздошных сосудов (артерии и вены) накладывались сосудистые зажимы по типу «бульдог» с целью прекращения кровотока (рис. 13, 14).



Рис. 13. Наложение сосудистого зажима типа «бульдог» на правую общую подвздошную артерию

Fig. 13. The application of the vascular clamp type «bulldog» on the right common iliac artery

Первоначально вскрыта и резецирована стенка наружной подвздошной вены по размерам несколько шире диаметра вены трансплантата (около 12 мм). Просвет подвздошной вены промыт раствором гепарина (5000 ед. гепарина на 100,0 физиологического раствора хлорида натрия) через катетер 6Ch. Наложен анастомоз по типу «конец в бок» непрерывным швом с использованием шовного материала

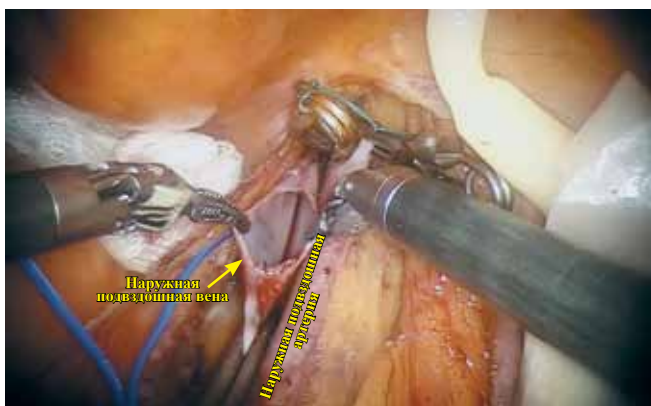


Рис. 15. Вскрытие просвета правой наружной подвздошной вены

Fig. 15. Dissection of the lumen of the right external iliac vein

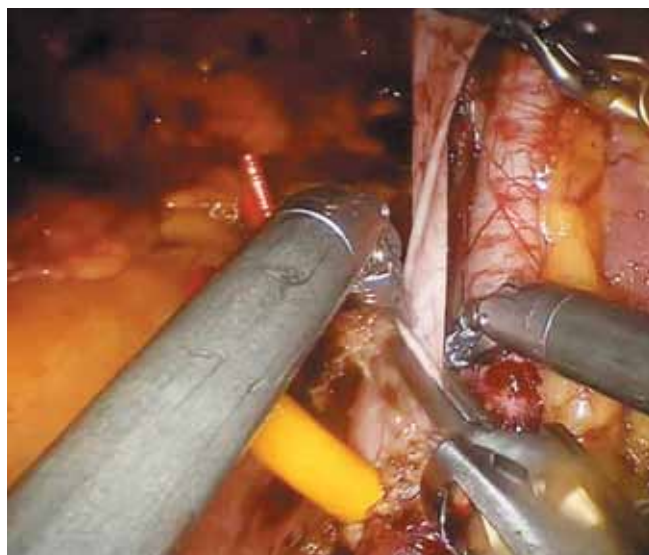


Рис. 14. Наложение сосудистого зажима типа «бульдог» на правую наружную подвздошную вену

Fig. 14. The application of the vascular clamp type «bulldog» on the right external iliac vein

Gore-Tex5/0 (W. L. Gore&Associates Inc, Flagstaff, AZ, USA) (рис. 15, 16), при этом в «правой руке» роботической системы использовался иглодержатель, а «левой руке» – биполярный форцепт «Maryland forceps» Da Vinci (Intuitive Surgical, Sunnyvale, CA, USA). Перед завершением венозного анастомоза просвет вены повторно промыт гепаринизирован-



Рис. 16. Выполнение сосудистого анастомоза между почечной веной и правой наружной подвздошной веной

Fig. 16. Performing a vascular anastomosis between the renal vein and the right external iliac vein

ным физиологическим раствором хлорида натрия в количестве 20 мл.

Наложение артериального анастомоза

В стенке правой общей подвздошной артерии выполнена круговая артериотомия диаметром до 10 мм с использованием ножниц роботизированной системы. Просвет артерии также промыт гепаринизированным раствором натрия хлорида 20 мл. Наложен анастомоз по типу «конец в бок» с артерией почечного трансплантата, которая была диаметром около 6 мм, непрерывным швом с использованием шовного материала Gore-Tex 5/0 (рис. 17, 18). Аналогично, перед завершением артериального анастомоза, про-

свет сосудов повторно промыт гепаринизированным раствором натрия хлорида 20 мл.

На область сосудистых анастомозов нанесен слой препарата BioGlue® для дополнительной герметизации швов (CryoLife USA). Согласно стандартному протоколу трансплантации почек, перед запуском кровотока в трансплантате реципиенту внутривенно струйно введен метилпреднизолон 1000 мг. Поочередно сняты сосудистые зажимы, начиная с венозных дистальных, затем краниальных, далее артериальных. После возобновления кровотока и контроля герметичности анастомозов сосудистые зажимы извлечены из брюшной полости (рис. 19, 20).

Следует отметить, что во время возобновления кровотока в почечный трансплантат необходимо быть



Рис. 17. Выполнение сосудистого анастомоза между почечной артерией и правой общей подвздошной артерией (начало)

Fig. 17. Performing a vascular anastomosis between the renal artery and the right common iliac artery (beginning)

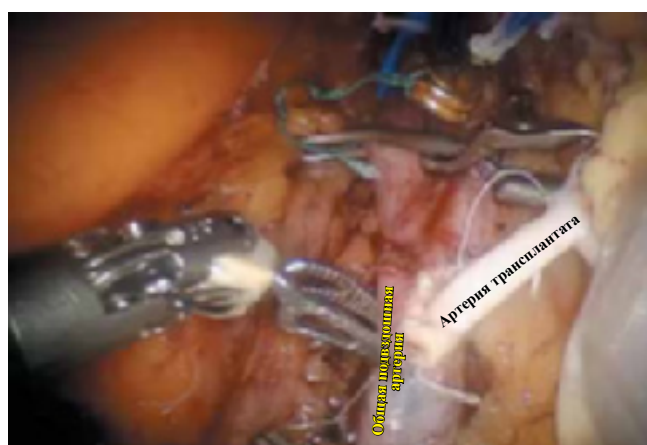


Рис. 18. Выполнение сосудистого анастомоза между почечной артерией и правой общей подвздошной артерией (завершение)

Fig. 18. Performing a vascular anastomosis between the renal artery and the right common iliac artery (completion)

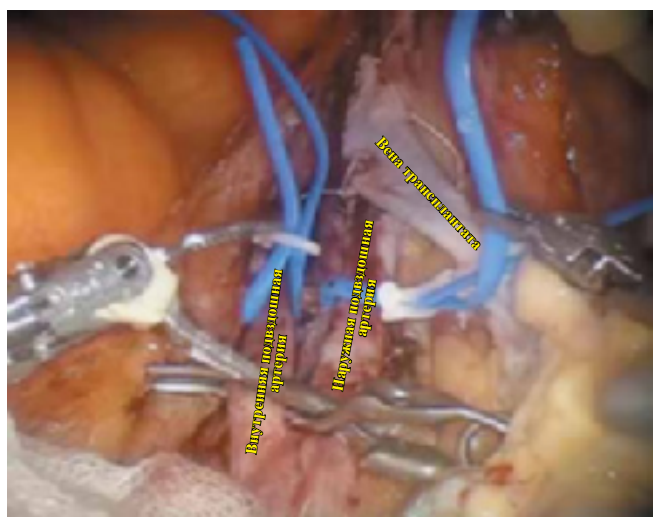


Рис. 19. Снятие зажима с наружной подвздошной вены

Fig. 19. Removing the clamp from the external iliac vein

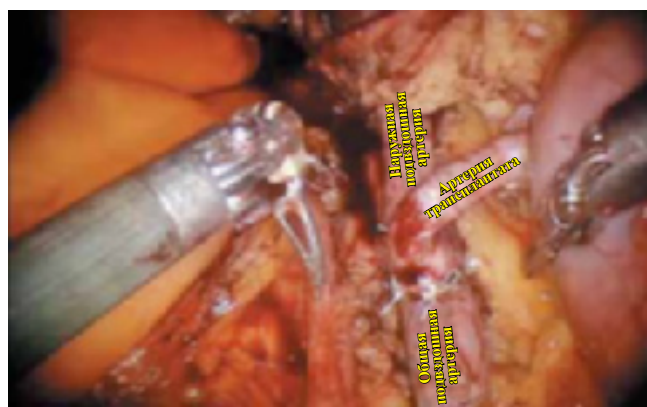


Рис. 20. Возобновление кровотока в трансплантат

Fig. 20. Restoring blood flow to the graft

готовым к немедленному гемостазу. С этой целью в зоне сосудистых анастомозов помещали марлевую салфетку на 2–3 минуты. В случае продолжающегося кровотечения диастаз и/или перфорации в сосудах ушиваются отдельными Z-образными швами нитью Prolene 5/0 (Ethicon, USA). Визуально оценивалась пульсация артерии, кровенаполнение трансплантата. Крайне важным считаем на этом этапе операции медикаментозно повысить артериальное давление у реципиента до высоких цифр – 130–140 мм рт. ст. Из дистального конца мочеточника трансплантата приблизительно через 3–5 минут после запуска кровотока капельно выделилась светлая моча. После контроля проходимости, герметичности сосудистых анастомозов, гемостаза отсоединена система орошения трансплантата ледяным раствором. Контейнер и марлевая салфетка, которой был окутан почечный трансплантат, разрезаны ножницами и извлечены из брюшной полости через 12-миллиметровый порт ассистента.

Уретероцистоанастомоз

В мочевой пузырь реципиентов через предварительно установленный в стерильных условиях уретральный катетер введено 200 мл физиологического раствора натрия хлорида. В области дна мочевого пузыря произведен продольный разрез его стенки длиной до 2,5 см монополярными электроножницами роботизированной системы. Выполнена спатуляция дистального конца мочеточника трансплантата на протяжении 2 см. Наложен уретероцистоанастомоз непрерывным швом нитью Biosyn 4-0 (Covidien, USA). После прошивания латеральной губы анастомоза через ассистентский 12-мм порт в брюшную полость введен двойной J стент Ch 7/22 (RuschGmbH, Германия). Стент установлен одним концом в лоханку трансплантата, другим – в полость мочевого пузыря, после чего ушивалась медиальная губа уретероцистоанастомоза. Аналогично открытой хирургии важным моментом этого этапа операции является создание антирефлюксного механизма мочеточника. В наших клинических случаях мы осуществляли это, ушив волокна детрузора поверх дистального конца мочеточника по технике Лич–Грегуара [19, 20] (рис. 21, 22).

Заключительный этап – ретроперитонизация и дренирование

Почечный трансплантат погружался в карман, который предварительно был сформирован в правой подвздошной ямке между ретроперитонеальной фасцией и брюшиной. Восстановлена целостность листка брюшины над трансплантатом непрерывным швом нитью V-Loc™ 3-0 (Covidien, USA). Произведен заключительный гемостаз. Через роботизирован-



Рис. 21. Выполнение уретероцистоанастомоза (начало)

Fig. 21. Performing ureterocystoanastomosis (beginning)



Рис. 22. Выполнение уретероцистоанастомоза (завершение)

Fig. 22. Performing ureterocystoanastomosis (completion)

ный порт в правой подвздошной области во вновь сформированное забрюшинное пространство справа к почечному трансплантату установлен страховой трубчатый силиконовый дренаж диаметром 20Ch. Манипуляторы отключены, роботизированный этап операции завершен. Под визуальным контролем, с использованием скорняжной иглы ушиты троакарные отверстия. Внутрικοжные швы на кожу. Асептические наклейки.

Время операции в первом случае составило 405 мин, во втором наблюдении, с учетом накопленного опыта первой операции, время операции составило 190 минут. Основные этапы операции во временных интервалах представлены в таблице. Более длительное время некоторых этапов операции, по сравнению с открытыми, связано с освоением методики. Объем кровопотери при этом не превышал 80 мл в первом наблюдении и 50 мл – во втором.

Таблица

Этапы операции во временных интервалах
The stages of the operation in time intervals

Этапы операции	Время, мин	
	Наблюдение 1 (19.03.2016 г.)	Наблюдение 2 (11.10.2018 г.)
Установка портов	15	12
Вскрытие брюшины, выделение подвздошных сосудов	25	20
Подготовка трансплантата	35	25
Вскрытие заднего свода влагалища, трансвагинальное заведение трансплантата	20	–
Лапаротомия по Пфанненштилю, заведение трансплантата, ушивание раны	–	35
Венозный анастомоз	25	20
Артериальный анастомоз	25	15
Пуск кровотока, гемостаз	20	10
Уретероцистоанастомоз с установкой стента	40	25
Установка дренажей, перитонизация	35	30
Удаление, ушивание портов	15	15
Время тепловой ишемии	10	10
Время холодовой ишемии	120	90
Время работы консоли	315	155
Общее время операции	405	190
Время анестезии	435	220

Интраоперационно проводилась иммуносупрессивная терапия по стандартной схеме: индукция базиликсимабом 20 мг внутривенно до начала разреза за 10 мин. Перед запуском кровотока в трансплантате введение метилпреднизолона 1000 мг. С первых суток после операции схема иммуносупрессивной терапии была следующая: в первом наблюдении – циклоспорин 300 мг/сут, метилпреднизолон 14 мг/сут, микофенолата мофетил 360 мг 2 р/сут; во втором наблюдении – метилпреднизолон 4 мг 4 р/сут, с 3-х суток после операции такролимус 5,5 мг 2 раза в сутки, а с 10-х – 5,5 + 4,5 мг в сутки.

Течение послеоперационного периода

После окончания операции реципиентов доставили в боксированную палату реанимационного отделения, где они находились в течение 7 дней. На следующий день после трансплантации пациенты активизированы, начали ходить в пределах палаты. Обезболивание наркотическими анальгетиками не потребовалось. Функция трансплантата – срочная. В первом наблюдении диурез в первые сутки составил 4000 мл, во втором – 2200 мл. Как видно из представленного графика (рис. 23, 24), с 3-х суток после операции у первой пациентки установился определенный стабильный объем диуреза, который составлял около 3000 мл/сут. У второго пациента на 10-е и 12-е сутки послеоперационного периода отмечалась полиурия до 7500 и 5700 мл в сутки соответственно.

У обоих пациентов не было клинических проявлений послеоперационного пареза кишечника, что позволило назначить питание на следующие после операции сутки и полноценно кормить больных со второго дня после хирургического вмешательства. Страховые дренажи удалены на 2-е сутки после операции. Инфекционных, раневых осложнений не было за все время наблюдения. С периодичностью 2 раза в неделю контролируемая концентрация препаратов иммуносупрессивной терапии в крови была адекватной. По данным УЗИ трансплантата, которые периодически выполняли пациентам, нарушений экоструктуры трансплантатов и признаков нарушения уродинамики не отмечалось. Данные кровотока с 10-х суток после хирургического лечения стабилизировались и составили в среднем следующие показатели: общая $V_{\max}$ 58 см/с, RI 0,7; сегментарная $V_{\max}$ 40 см/с, RI 0,6, дуговая $V_{\max}$ 22 см/с, RI 0,6 (рис. 25–28).

По данным лабораторных анализов крови за период наблюдения 30 суток, уровень лейкоцитов крови не превышал $9,0 \times 10^9/\text{л}$, эритроцитов и гемоглобина не снижался ниже $3,0 \times 10^{12}/\text{л}$ и 94 г/л соответственно. В биохимическом анализе крови, как представлено на графике (рис. 29, 30), показатели мочевины и креатинина у первой пациентки неуклонно снижались и оставались относительно стабильными с 5–6-х суток после трансплантации почки (в среднем 4,64 ммоль/л – для мочевины и 115 мкмоль/л – для креатинина).

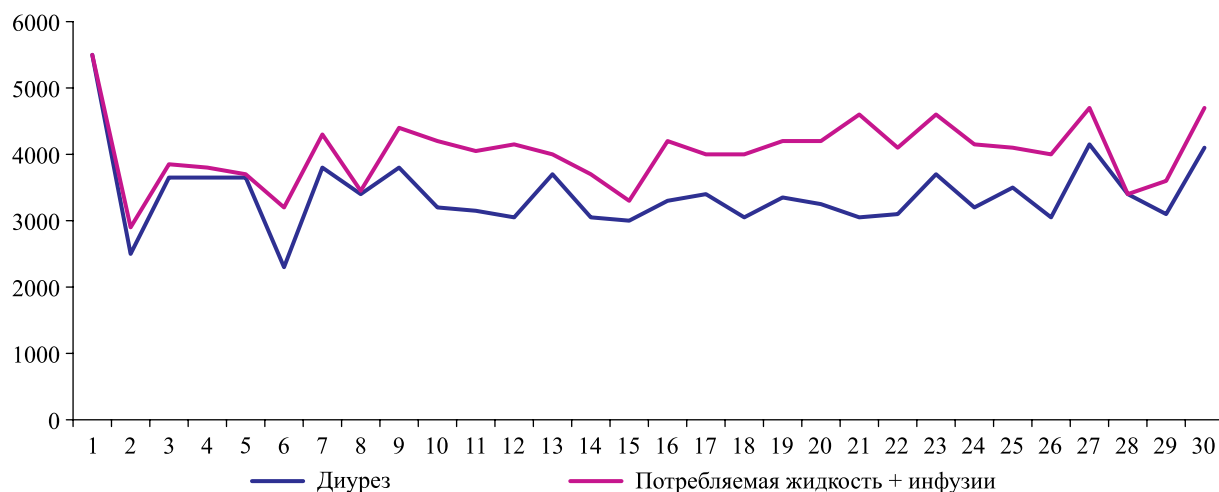


Рис. 23. Динамика диуреза и потребляемой жидкости с инфузионной терапией (в мл) в послеоперационном периоде в наблюдении № 1

Fig. 23. Dynamics of diuresis and fluid intake with infusion therapy (ml) in the postoperative period in observation № 1

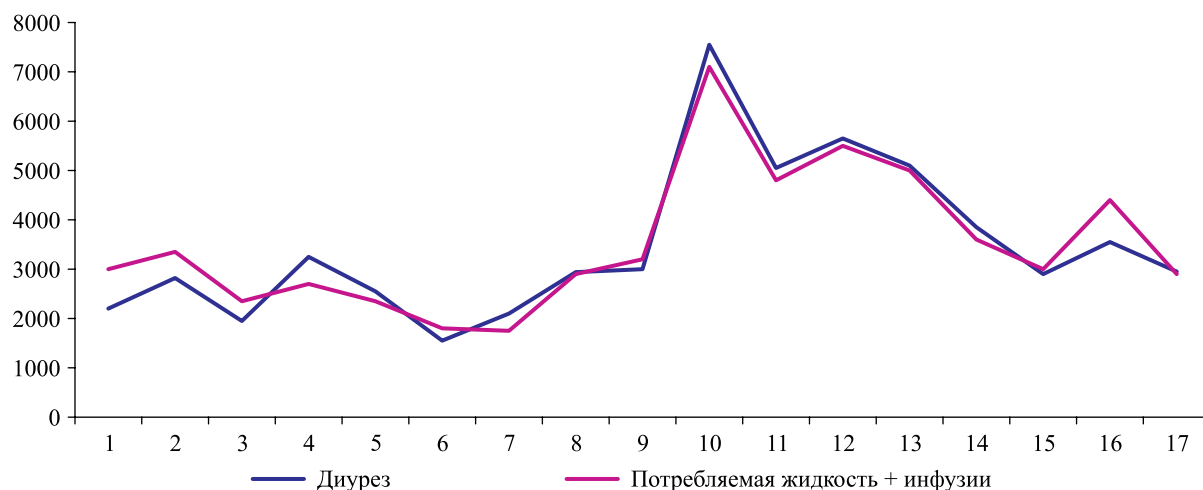


Рис. 24. Динамика диуреза и потребляемой жидкости с инфузионной терапией (в мл) в послеоперационном периоде в наблюдении № 2

Fig. 24. Dynamics of diuresis and fluid intake with infusion therapy (ml) in the postoperative period in observation № 2

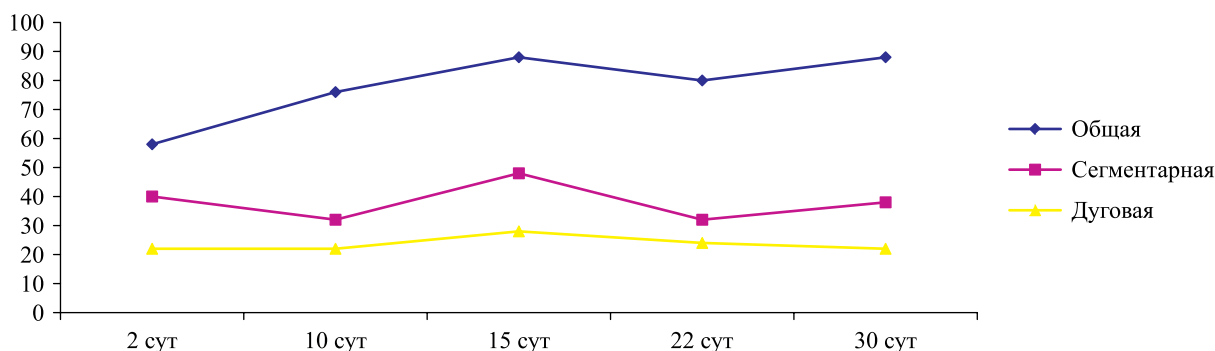


Рис. 25. Данные кровотока ТП в 1-м наблюдении Vmax (см/с)

Fig. 25. Transplant blood flow data in the 1st observation Vmax (cm/s)

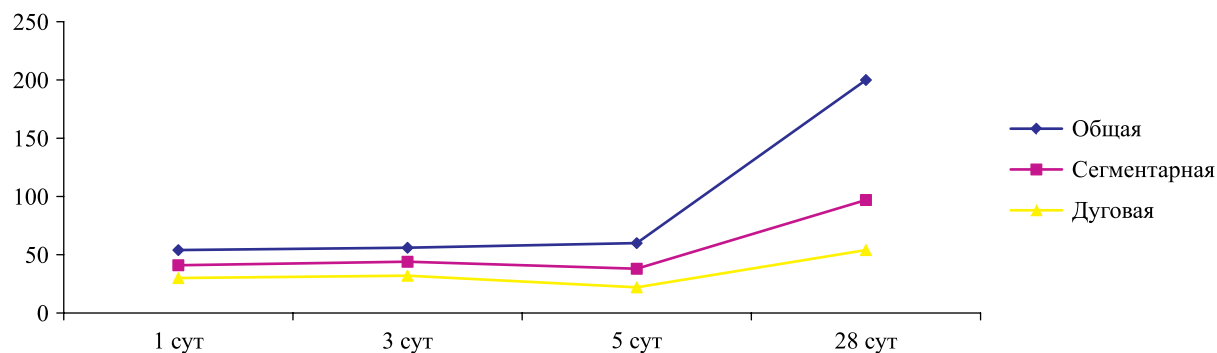


Рис. 26. Данные кровотока ТП во 2-м наблюдении Vmax (см/с)

Fig. 26. Transplant blood flow data in the 2nd observation Vmax (cm/s)

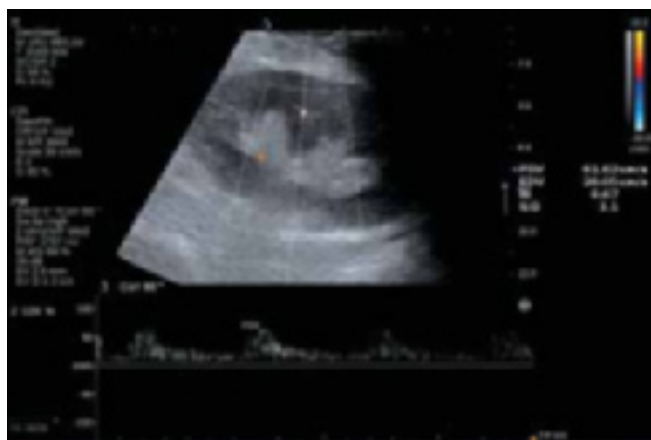


Рис. 27. УЗ-изображение почечного трансплантата клинического случая № 1

Fig. 27. Ultrasound image of a renal transplant of clinical case № 1

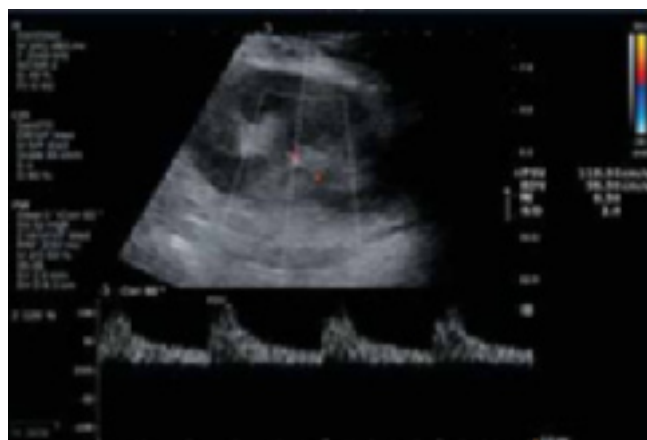


Рис. 28. УЗ-изображение почечного трансплантата клинического случая № 2

Fig. 28. Ultrasound image of a renal transplant of clinical case № 2

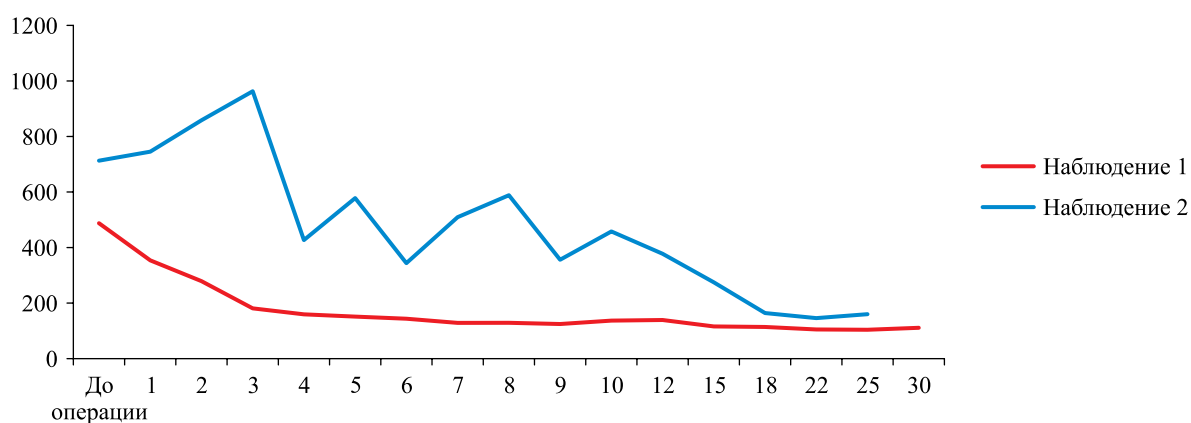


Рис. 29. Показатели креатинина в крови в послеоперационном периоде (мкмоль/л)

Fig. 29. Indicators of blood creatinine in the postoperative period (μmol/L)

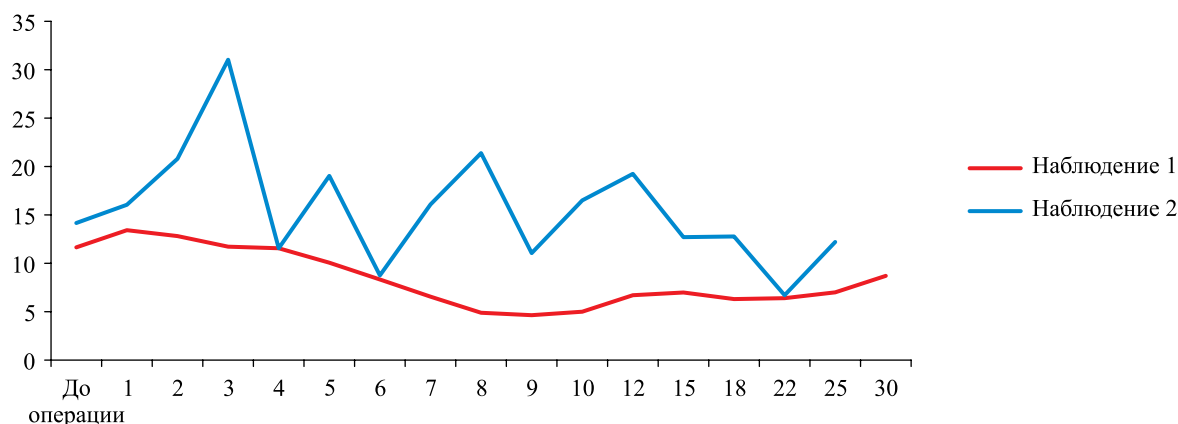


Рис. 30. Показатели мочевины в крови в послеоперационном периоде (ммоль/л)

Fig. 30. The indicators of blood urea in the postoperative period (mmol/L)

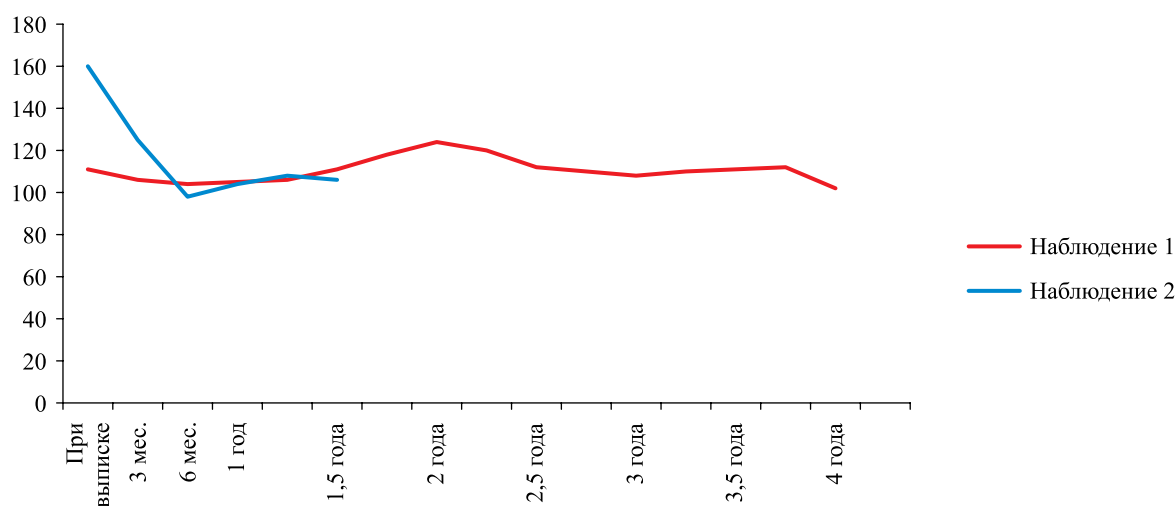


Рис. 31. Показатели креатинина в крови пациентов в ходе динамического наблюдения (мкмоль/л)

Fig. 31. Indicators of creatinine in the blood of patients during dynamic observation (μmol/L)

Уретральный катетер удаляли на 7-е и 10-е сутки (в 1-м и 2-м наблюдениях соответственно), а мочеточниковый стент – на 21-й день после операции. На 30-е сутки больные выписаны из стационара в удовлетворительном состоянии.

Пациенты регулярно (1 раз в 3 месяца) осматриваются врачом-нефрологом. На протяжении всего периода наблюдения и по сегодняшний день самочувствие больных удовлетворительное, они имеют возможность свободного путешествия. Почечные трансплантаты функционируют удовлетворительно. Данных за почечную недостаточность по показателям мочевины и креатинина крови не отмечается (рис. 31).

В настоящий момент пациентка получает иммуносупрессивную терапию в объеме: микофеноловая кислота – 360 мг 2 раза в сутки, циклоспорин – 50 мг утром и 75 мг вечером, метилпреднизолон – 4 мг 1 раз в сутки. А второму больному назначена следую-

щая терапия: микофеноловая кислота – 360 мг 2 раза в сутки, такролимус – 1,5 мг утром и 2,0 мг вечером, а также метилпреднизолон – 4 мг утром.

ВЫВОДЫ

К преимуществам трансплантации почки с использованием роботизированной системы Da Vinci по сравнению с открытой операцией можно отнести: значительное уменьшение операционной травмы и вследствие этого минимальный послеоперационный болевой синдром, не требующий применения наркотических анальгетиков, удобство визуализации для хирурга при манипуляциях в полости малого таза, возможность прецизионного наложения анастомозов.

Кроме того, данный вид хирургии позволяет до минимума свести риск раневых инфекционных осложнений, активизировать пациентов на следующие сутки после операции, что особенно важно для пациентов с сахарным диабетом и ожирением из-за риска

тромботических осложнений и гиповентиляционных изменений в легких.

Из недостатков методики необходимо отметить большую продолжительность операции на этапе освоения, достаточно высокую стоимость инструментов и оборудования.

Однако при наличии достаточного опыта хирурга в работе на роботизированной системе Da Vinci, оснащенной стационара, высокой квалификации специалистов и слаженной работе бригады операция технически выполнима.

Соблюдение всех правил консервативного лечения опытным персоналом, постоянный лабораторный и инструментальный контроль позволяют добиться удовлетворительных функциональных результатов лечения больных, перенесших трансплантацию почки с помощью малоинвазивной технологии.

Для получения статистически достоверных результатов необходимо выполнять большее количество подобных операций, что позволит совершенствовать хирургическую технику, уменьшить время оперативного вмешательства и сократить время пребывания реципиентов в стационаре, тем самым улучшив качество жизни данной категории больных и сократив материальные затраты на реабилитацию.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Trinh QD, Sammon J, Sun M et al. Perioperative outcomes of robotassisted radical prostatectomy compared with open radical prostatectomy: results from the nationwide inpatient sample. *Eur Urol.* 2012; 61: 679–685.
2. Nguyen NT, Goldman C, Rosenquist CJ et al. Laparoscopic versus open gastric bypass: a randomized study of outcomes, quality of life, and costs. *Ann Surg.* 2001; 234: 279–289.
3. Park A, Birch DW, Lovrics P. Laparoscopic and open incisional hernia repair: a comparison study. *Surgery.* 1998; 124: 816–821, discussion 821–822.
4. Park Y, Ha JW. Comparison of one-level posterior lumbar interbody fusion performed with a minimally invasive approach or a traditional open approach. *Spine.* 2007; 32: 537–543.
5. Romy S, Eisenring MC, Bettschart V, Petignat C, Francioli P, Troillet N. Laparoscope use and surgical site infections in digestive surgery. *Ann Surg.* 2008; 247: 627–632.
6. Giral-Classe M, Hourmant M, Cantarovich D et al. Delayed graft function of more than six days strongly decreases long-term survival of transplanted kidneys. *Kidney Int.* 1998; 54: 972–978.
7. Lynch RJ, Ranney DN, Shijie C, Lee DS, Samala N, Englesbe MJ. Obesity, surgical site infection, and outcome following renal transplantation. *Ann Surg.* 2009; 250: 1014–1020.
8. Matas AJ, Gillingham KJ, Payne WD, Najarian JS. The impact of an acute rejection episode on long-term renal allograft survival (t1/2). *Transplantation.* 1994; 57: 857–859.
9. Osman Y, Shokeir A, Ali-el-Dein B et al. Vascular complications after live donor renal transplantation: study of risk factors and effects on graft and patient survival. *J Urol.* 2003; 169: 859–862.
10. Modi P, Rizvi J, Pal B et al. Laparoscopic kidney transplantation: an initial experience. *Am J Transplant.* 2011; 11: 1320–1324.
11. Giulianotti P, Gorodner V, Sbrana F et al. Robotic transabdominal kidney transplantation in a morbidly obese patient. *Am J Transplant.* 2010; 10: 1478–1482.
12. Boggi U, Vistoli F, Signori S et al. Robotic renal transplantation: first European case. *Transpl Int.* 2011; 24: 213–218.
13. Modi P, Pal B, Modi J et al. Retroperitoneoscopic living-donor nephrectomy and laparoscopic kidney transplantation: experience of initial 72 cases. *Transplantation.* 2013; 95: 100–105.
14. Oberholzer J, Giulianotti P, Danielson KK et al. Minimally invasive robotic kidney transplantation for obese patients previously denied access to transplantation. *Am J Transplant.* 2013; 13: 721–728.
15. Menon M, Abaza R, Sood A et al. Robotic kidney transplantation with regional hypothermia: evolution of a novel procedure utilizing the IDEAL guidelines (IDEAL phase 0 and 1). *Eur Urol.* 2014; 65: 1001–1009.
16. Menon M, Shrivastava A, Kaul S et al. Vattikuti Institute prostatectomy: contemporary technique and analysis of results. *Eur Urol.* 2007; 51: 648–658, discussion 657–658.
17. Jeong W, Sood A, Ghani KR et al. Bimanual examination of the retrieved specimen and regional hypothermia during robot assisted radical prostatectomy: a novel technique for reducing positive surgical margin and achieving pelvic cooling. *BJU Int.* In press. <http://dx.doi.org/10.1111/bju.12573>.
18. Menon M, Tewari A, Peabody J. Vattikuti Institute prostatectomy: technique. *J Urol.* 2003; 169: 2289–2292.
19. Riedmiller H, Gerharz EW. Antireflux surgery: Lich-Gregoir extravesical ureteric tunnelling. *BJU Int.* 2008; 101: 1467–1482.
20. Hoznek A, Zaki SK, Samadi DB et al. Robotic assisted kidney transplantation: an initial experience. *J Urol.* 2002; 167: 1604–1606.

*Статья поступила в редакцию 19.05.2020 г.
The article was submitted to the journal on 19.05.2020*

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-3-99-106

ПЕРВЫЙ ОПЫТ ПРЯМОГО ПЕРФУЗИОННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ТРАНСПЛАНТАТА ПОСЛЕ ОРТОТОПИЧЕСКОЙ ПЕРЕСАДКИ ПЕЧЕНИ

А.В. Моисеенко, А.А. Поликарпов, П.Г. Таразов, Д.А. Гранов

ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Цель. Классические методы определения артериального кровоснабжения печени после ортотопической трансплантации (ОТП) отображают наличие кровотока в стволе и крупных ветвях *A. hepatica*, без характеристики полноты кровенаполнения периферических отделов, что представляется весьма важным для объективной оценки функции. Цель исследования – установить диагностическую ценность прямого перфузионного исследования (IFlow) трансплантата. **Материалы и методы.** С 1998-го по 2019 г. проведено 245 ОТП. С 2015-го по 2019 г. артериальные изменения после 104 ОТП выявлены у 24 (23%) пациентов. Перфузионное исследование выполнено у 9 пациентов с подозрением на артериальную недостаточность трансплантата. По данным IFlow, гипоперфузия печени ввиду стеноза и/или синдрома обкрадывания печени селезеночной артерией выявлена в 8 случаях и явилась показанием к лечебным вмешательствам. **Результаты.** Выполняли стентирование печеночной и/или эмболизацию селезеночной артерий для улучшения артериального кровоснабжения печени. В результате проведенных эндоваскулярных процедур перфузионный показатель восстановился с 0,24 (0,01–0,89) до 0,61 (0,35–0,98). **Заключение.** Отсутствие УЗ- и МСКТ-признаков артериальных осложнений не исключает необходимости проведения ангиографии с перфузионным исследованием; последнее позволяет объективизировать данные ангиографии и вовремя выполнить корригирующее вмешательство.

Ключевые слова: ортотопическая трансплантация печени, кровоснабжение, стентирование, эмболизация селезеночной артерии, перфузионная ангиография.

INITIAL EXPERIENCE IN DIRECT GRAFT PERFUSION ASSESSMENT FOLLOWING ORTHOTOPIC LIVER TRANSPLANT

A.V. Moiseenko, A.A. Polikarpov, P.G. Tarazov, D.A. Granov

Granov Russian Scientific Center of Radiology and Surgical Technology, St. Petersburg, Russian Federation

Objective: classical methods of determining arterial blood supply of the graft following orthotopic liver transplantation (OLT) reflect the presence of blood flow in the trunk and large branches of the *A. hepatica*, without the characteristic of completeness of blood filling of peripheral sections, which is very important for objective evaluation of function. The aim of this study is to establish the diagnostic value of a direct perfusion study (IFlow) of the graft. **Materials and methods.** From 1998 to 2019, 245 OLTs were conducted. From 2015 to 2019, arterial changes were detected in 24 (23%) patients after 104 OLTs. A perfusion study was performed in 9 patients with suspected arterial graft failure. According to the IFlow study, liver hypoperfusion due to stenosis and/or splenic steal syndrome was detected in 8 cases and became an indication for therapeutic intervention. **Results.** Hepatic stenting and/or splenic artery embolization was performed to improve arterial blood supply to the liver. Endovascular procedures performed restored the perfusion index from 0.24 (0.01–0.89) to 0.61 (0.35–0.98). **Conclusion.** Absence of ultrasound and multispiral computed tomography signs of arterial complications does not rule out the need for perfusion angiography. Perfusion angiography allows to objectify the angiography data and perform corrective intervention in good time.

Keywords: orthotopic liver transplantation, blood flow, stenting, splenic artery embolization, graft perfusion angiography.

Для корреспонденции: Моисеенко Андрей Викторович. Адрес: 197758, Санкт-Петербург, ул. Ленинградская, 70. Тел. (981) 837-78-19. E-mail: med_moiseenko@mail.ru

Corresponding author: Andrey Moiseenko. Address: 70, Lenigradskaya str., St. Petersburg, 197758, Russian Federation. Phone: (981) 837-78-19. E-mail: med_moiseenko@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Основным показанием для ортотопической трансплантации печени (ОТП) является терминальный цирроз различной этиологии. Формирование цирроза приводит к гемодинамическим изменениям в панкреатобилиарной зоне: обеднению артериального притока к печени и одновременному усилению его по левой желудочной, гастродуоденальной и селезеночной артериям. Это создает неблагоприятные условия для кровоснабжения донорского органа [1].

Во время ОТП выполняют лигирование aberrantных артерий печени, оставляя общую печеночную артерию в качестве единственного источника кровоснабжения паренхимы органа и желчных протоков. Классические методы определения артериального кровоснабжения трансплантата после ОТП (ультразвуковое исследование, УЗИ, компьютерная томография, КТ и ангиография) отображают наличие кровотока в стволе и крупных ветвях *A. hepatica*, без характеристики полноты кровенаполнения его периферических отделов, что представляется весьма важным для объективной оценки функции трансплантата [2].

Цель данного исследования – установить диагностическую ценность прямого перфузионного исследования трансплантата путем использования программы IFlow ангиографического комплекса у пациентов с клиническим, лабораторным и рентгенологическим подозрением на гипоперфузию печени.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В центре с 1998-го по 2019 г. проведено 245 ОТП. С 1998-го по 2014 г. классическую субтракционную диагностическую ангиографию выполняли только при выявлении сосудистых осложнений с помощью неинвазивных (КТ и/или УЗИ) методов (рис. 1).

На рис. 1:

- а–в – МСКТ органов брюшной полости с внутривенным контрастированием, артериальная фаза: диаметры селезеночной (белая стрелка) и общей печеночной артерии (черная стрелка) сопоставимы, = 3 мм (а); правая печеночная артерия (стрелка) проходима (б); сегментарные артерии печени (стрелка) определяются (в);
- г – целиакография через 2 сут после МСКТ; обедненная внутривенная артериальная архитектура: отсутствует сегментарный сосудистый рисунок как признак недостаточного притока (толстые белые стрелки); диаметр расширенной селезеночной артерии (черная стрелка) в два раза больше общей печеночной артерии (белая стрелка): синдром «обкрадывания»;
- д – контрольная целиакография после эмболизации ствола селезеночной артерии (при тех же условиях введения контрастного вещества); вос-

становленная внутривенная артериальная архитектура, сосудистый рисунок прослеживается до субсегментарного уровня (белые стрелки); стеноз общей печеночной артерии, гемодинамическую значимость которого не оценить без iFlow (черная стрелка); через 2 нед. после эндоваскулярного вмешательства биохимические показатели нормализовались, наблюдается 4 года после ОТП без билиарных осложнений.

С 2015 г. у всех пациентов с подозрением на гипоперфузию печени по клиническим и лабораторным данным проводили ангиографию. С 2015-го по 2019 г. артериальные изменения после 104 ОТП выявлены у 24 (23%) пациентов.

Классическую диагностическую ангиографию выполняли на современном ангиографическом комплексе Siemens Artis Zee Biplane (Германия) с функцией IFlow. Под местной анестезией 1% раствора лидокаина выполняли пункцию бедренной артерии с использованием 5F (1F = 0,33 мм) интродьюсера. Далее катетер Hook 5F (Cook/Cordis, США) последовательно устанавливали в верхнюю брыжеечную артерию и чревный ствол, выполняли субтракционную ангиографию с использованием шприца-инжектора и введением 35 мл контрастного вещества (Омнипак-350 или Ультравист-370) со скоростью 4 мл/с.

Перфузионное исследование выполнили у 9 пациентов (табл.). При этом определяли разницу концентрации контрастного вещества в референтной области (Ref AUC) и контрольных областях (ROI AUC), где Ref AUC (referral area under curve) – это площадь референтного значения под кривой, а ROI AUC (region of interest area under curve) – площадь контрольной области под кривой. Референтная область – это сосуд (как правило, чревный ствол) с максимальным наполнением контрастным веществом при ангиографии. Контрольные области – это участки интересующих сегментов печени (наиболее периферические: S_{VI} , S_{VIII} , S_{IV}). Полученные ангиограммы оценивали в программе IFlow. Для этого на рабочей станции выбирали целиакографию на 6–8 с серии, когда сосудистый рисунок печени прослеживается максимально далеко по сегментам. Во вкладке image переходили в режим IFlow, в появившемся диалоговом окне ролик duration устанавливали на той секунде, когда была остановлена субтракционная целиакография. Далее переходили в диалоговое окно total contrast ROI selection с последующим выбором кругового значения контрольной области (circle ROI). Референтную область устанавливали в чревном стволе, задавая ей значение, равное площади поперечного сечения сосуда. Контрольные области измерения кровотока в количестве трех устанавливали в проекции донорского органа с одинаковыми значениями их площади, в пределах 150–400 мм² и располагали их в сегментах, наиболее удаленных

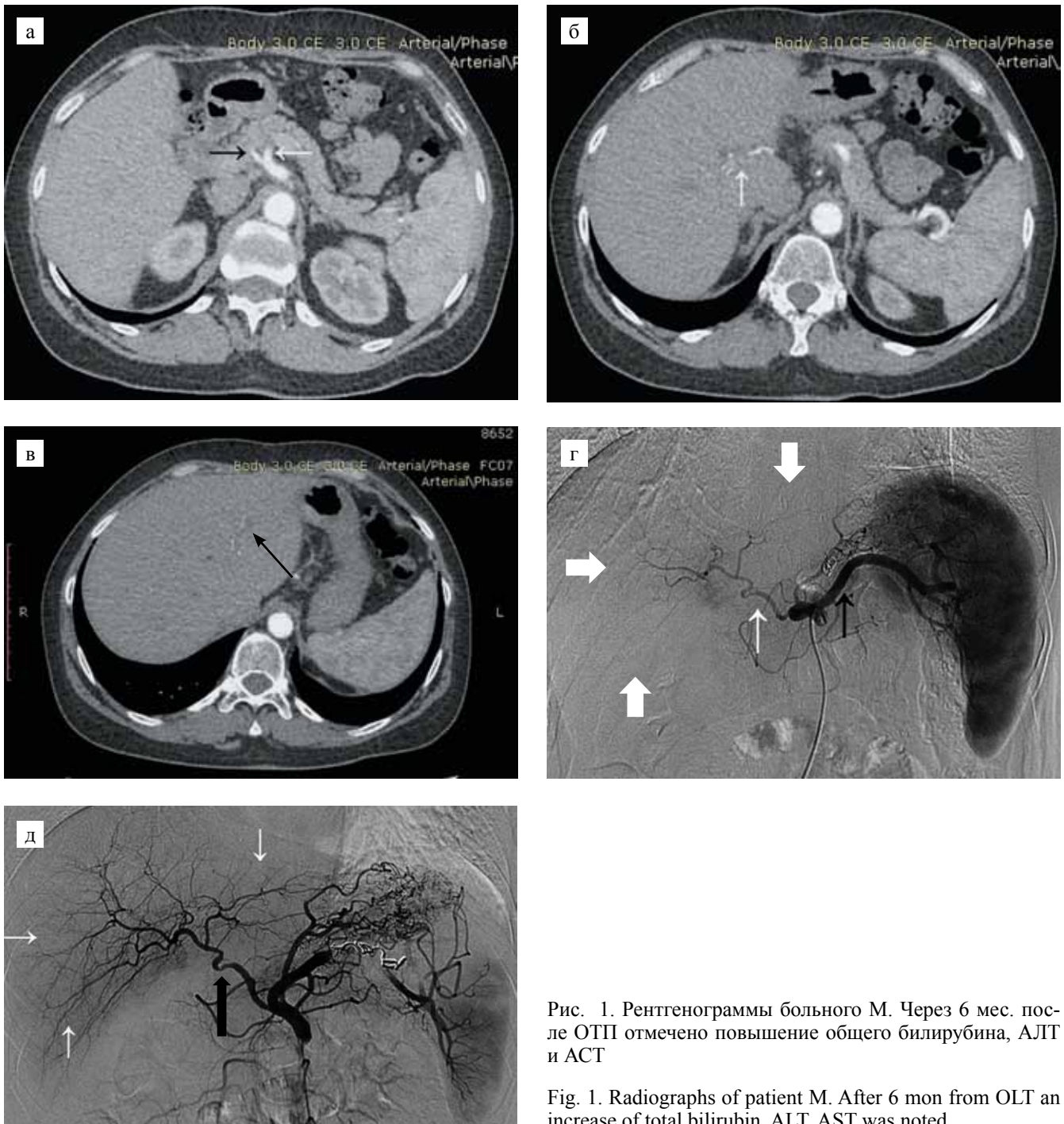


Рис. 1. Рентгенограммы больного М. Через 6 мес. после ОТП отмечено повышение общего билирубина, АЛТ и АСТ

Fig. 1. Radiographs of patient M. After 6 mon from OLT an increase of total bilirubin, ALT, AST was noted

от референтной точки (S_{VI} , S_{VIII} , S_{II}). Полученные табличные и графические изображения отображали полноту наполнения паренхимы контрастным веществом и скорость достижения пиковой концентрации контрастного препарата, что в числовом значении объективизировало полученные результаты (рис. 2, наблюдение № 1, табл.). Адекватным перфузионным показателем (ROI AUC/REF AUC) считали значение $\geq 0,65$, референтное значение равнялось 1,0.

На рис. 2:

– а – целиакография, картина обедненной внутрипеченочной артериальной архитектоники. Диаметр расширенной селезеночной артерии (черная

стрелка) в два раза больше общей печеночной артерии (белая стрелка): синдром «обкрадывания»;

– б – перфузионное исследование; референтная область, размер которой равен площади поперечного сечения чревного ствола (значение = 1) – круг Ref; исследуемые области, площади всех кругов в мм² – белые круги 2, 3 и 4 (стрелки в верхней таблице); график (внизу рисунка) отображает степень наполнения исследуемых областей (круги 2, 3 и 4) контрастным веществом во времени, на 7 с: 5, 10 и 10% соответственно (толстая стрелка); перфузионные показатели исследуемых областей снижены (изогнутые стрелки);

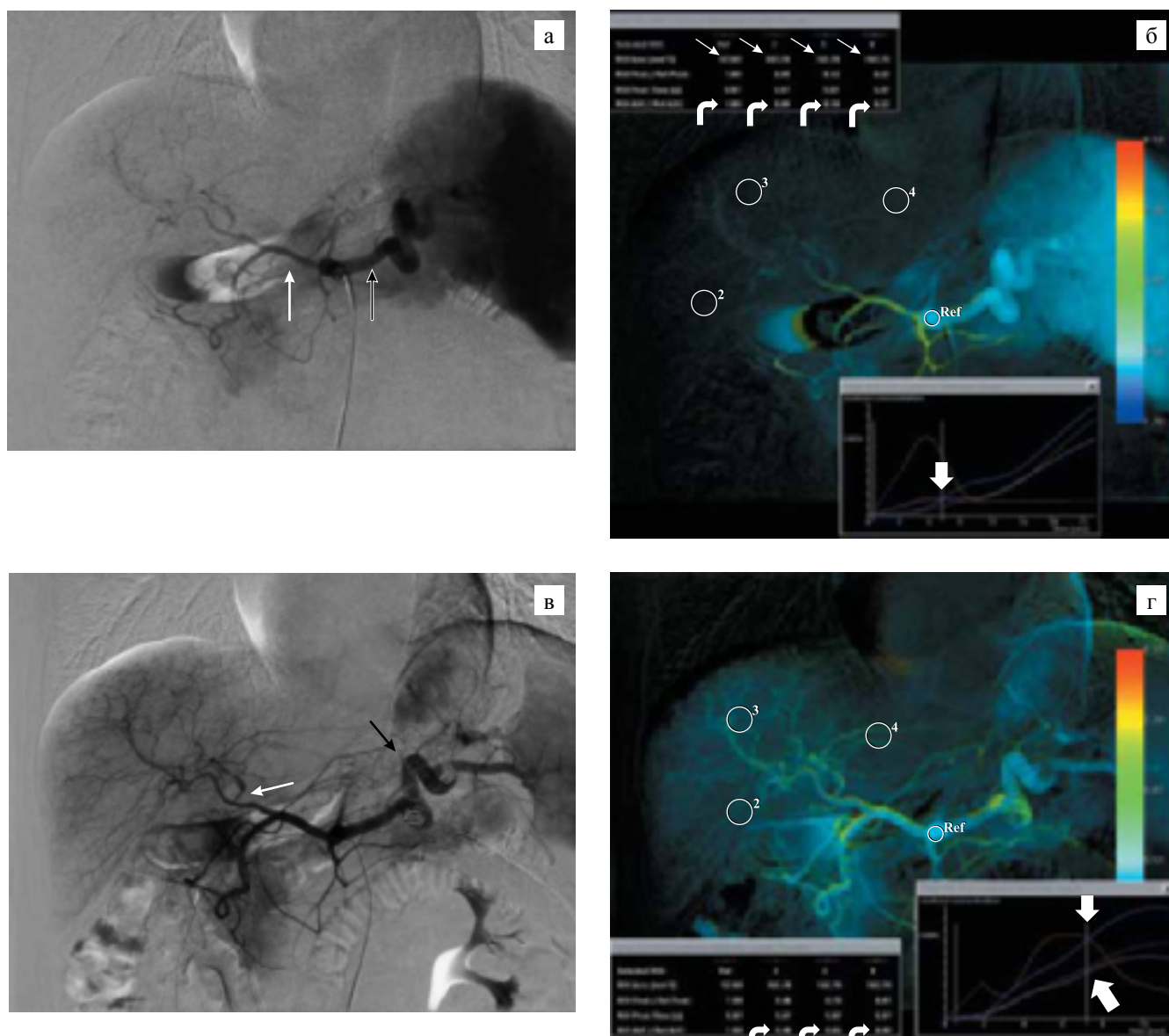


Рис. 2. Ангиограммы пациента К. через 47 мес. после ОТП (наблюдение 1). На фоне адекватной иммуносупрессивной терапии отмечено повышение АЛТ и АСТ

Fig. 2. Angiograms of patient K. 47 mon after OLT (case 1). The increase of ALT and AST was noted against adequate immunosuppressive therapy

- в – контрольная целиакография после эмболизации ствола селезеночной артерии для ликвидации синдрома обкрадывания: внутрипеченочная артериальная архитектура прослеживается во всех сегментах; стеноз левой печеночной артерии (белая стрелка); металлические спирали в стволе селезеночной артерии (черная стрелка).
- г – перфузионное исследование того же пациента после эмболизации, перфузионный показатель увеличился в 5, 6 и 2 раза соответственно (изогнутые стрелки); наполнение исследуемых областей контрастным веществом на 7 с возросло до 40, 40 и 70% (толстые стрелки); несмотря на неровность контуров левой печеночной артерии, перфузионный показатель левой доли печени удовлетво-

рительный, дополнительное вмешательство не требуется; пациент наблюдается 5,5 года после ОТП без билиарных осложнений.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Осложнений, связанных с проведением диагностической ангиографии, не было. Исходные ангиограммы и перфузия печени были удовлетворительными в одном случае (рис. 3, наблюдение № 2, табл.). На основании полученных ангиографических и перфузионных данных лечебные внутрисосудистые вмешательства потребовались 8 пациентам (табл.).

На рис. 3:

- а – холангиография; рентгенологическая картина «обгорелого дерева» левой доли печени, класс С

Таблица

Анализ перфузионных значений после ОТП

Analysis of perfusion values after OLT

№ п/п, возраст (лет)	Сроки ангиографии после ОТП	Вмешательства	Исходная перфузия в S_{VI} , S_{VIII} , S_{II}	Итоговая перфузия в S_{VI} , S_{VIII} , S_{II}	Ишемические билиарные осложнения
1. К., 49	47 мес.	ЭСА SAE	0,08 0,10 0,22	0,40 0,65 0,40	–
2. С., 26	19 сут	ДАГ DA	0,89 0,81 0,89	0,89 0,81 0,89	–
3. К., 29	2 мес.	ЭСА + Ст SAE + St	0,20 0,25 0,10	0,55 0,50 0,53	+
4. Ч., 36	2 мес.	Ст St	0,15 0,20 0,10	0,60 0,28 0,33	+
5. К., 50	1 сут	Ст St	0,01 0,02 0,01	0,45 0,40 0,35	+
6. С., 47	1 мес.	БПл BAp	0,50 0,55 0,30	0,70 0,75 0,65	–
7. К., 38	3 мес.	ЭСА + Ст SAE + St	0,02 0,30 0,25	0,45 0,55 0,35	+
8. Ч., 53	4 сут	ЭСА + Ст SAE + St	0,12 0,11 0,35	0,80 0,81 0,83	–
9. Г., 49	9 сут	ЭСА SAE	0,08 0,05 0,16	0,81 0,89 0,98	–

Примечание. ОТП – ортотопическая трансплантация печени, ДАГ – диагностическая ангиография, ЭСА – эмболизация селезеночной артерии, Ст – стентирование, БПл – баллонная пластика печеночной артерии.

Note. OLT – orthotopic liver transplantation, DA – diagnostic angiography, SAE – splenic artery embolization, St – stenting, BAp – balloon angioplasty.

- по С. Buis (черные стрелки); полный блок на уровне желчного анастомоза (белая стрелка); холангиостома (толстая белая стрелка);
- б – при целиакографии контуры печеночной артерии ровные, диаметры селезеночной и общей печеночной артерий сопоставимы, артериальная архитектура прослеживается до субсегментарного уровня; ангиографических признаков гипоперфузии не выявлено;
 - в – перфузионное исследование; референтная область, размер которой равен площади поперечного сечения чревного ствола (значение = 1) – круг Ref; исследуемые области (белые круги 2, 3, 4), перфузионный показатель которых в S_{VI} , S_{VIII} , S_{II} = 0,89; 0,81; 0,81 (изогнутые стрелки); график (внизу рисунка) отображает процент наполнения исследуемых областей контрастным веществом во времени, на 5 с: до 45% (белая стрелка); перфузионные показатели больше 0,65, а кривая наполнения ис-

следуемых областей контрастным веществом во времени приравнена к референтному значению; гипоперфузия не выявлена; билиарная стриктура признана анастомотической, проводятся баллонные пластики билио-билиарного анастомоза.

Среднее исходное перфузионное значение при наличии синдрома обкрадывания печени селезеночной артерией и/или стенозе печеночной артерии было 0,24 (0,01–0,89). В результате проведенных лечебных мероприятий (стентирование печеночной артерии и/или эмболизация ствола селезеночной артерии) сегментарный перфузионный показатель восстановлен до 0,61 (0,35–0,98) у всех 8 пациентов. У четырех пациентов перфузионный показатель не превысил 0,6; в последующем развились билиарные неанастомотические стриктуры класса С и D по Buis [3, 4]. Перфузионное исследование позволило избежать эмболизации левой желудочной артерии для усиления притока к печени и объективизировало необходи-

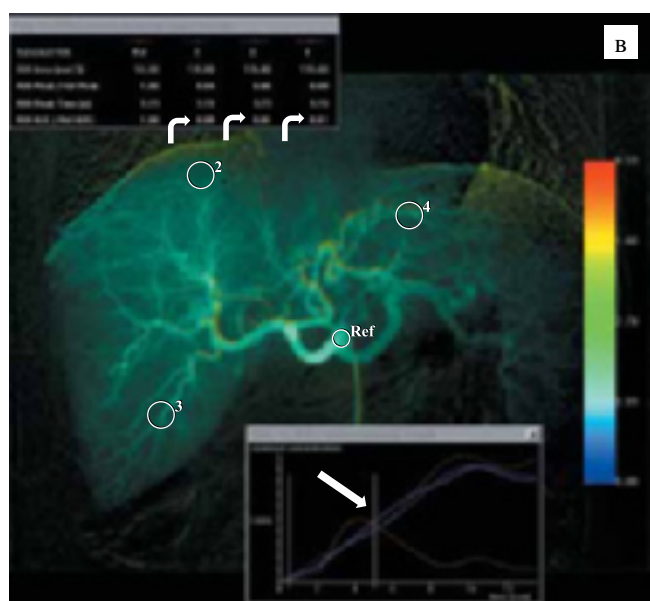


Рис. 3. Рентгенограммы пациента С. (наблюдение 2). На 20-е сутки после трансплантации возникла механическая желтуха (стриктура билио-билиарного анастомоза), что потребовало холангиодренирования и диагностической ангиографии с перфузионным исследованием для исключения артериальной гипоперфузии как причины билиарного осложнения

Fig. 3. Radiographs of patient C. (case 2). On the 20th day after transplantation, obstructive jaundice occurred (stricture of biliary-biliary anastomosis), which required cholangio-drainage and diagnostic angiography with perfusion examination to exclude arterial hypoperfusion as a cause of biliary complication

мость стентирования печеночной артерии несмотря на удовлетворительную ангиографическую картину у одного пациента (рис. 4, наблюдение 8). При достижении перфузионного значения $\geq 0,65$ лечебные действия не проводили.

На рис. 4:

- а – целиакография: синдром «обкрадывания» печени селезеночной артерией (черная стрелка); перегиб неанастомотической части печеночной артерии (белая стрелка) расценен как гемодинамически не значимый; обедненная внутрипеченочная артериальная архитектура;
- б – перфузионное исследование; референтная область, размер которой равен площади поперечного сечения чревного ствола (значение = 1) – круг Ref; исследуемые области (белые круги 2, 3, 4), перфузионный показатель которых в S_{VI} , S_{VIII} , S_{II} = 0,13; 0,16; 0,37 (изогнутые стрелки); график (внизу рисунка) отображает процент наполнения исследуемых областей контрастным веществом во

времени, на 9 с: до 30% (толстая стрелка); IFlow картина выраженной гипоперфузии;

- в – целиакография после эмболизации ствола селезеночной артерии: сохраняются обедненный внутрипеченочный артериальный рисунок, с умеренно положительной динамикой, перегиб печеночной артерии (белая стрелка); редуцированный кровоток в стволе селезеночной артерии (черная стрелка);
- г – перфузионный показатель в исследуемых областях 0,07; 0,07; 0,24, ниже исходных значений (изогнутые стрелки); наполнение исследуемых областей контрастным веществом лишь на 13 с достигает 30–35% (толстая стрелка); IFlow картина выраженной гипоперфузии, отрицательная динамика несмотря на эмболизацию селезеночной артерии; принято решение стентировать печеночную артерию;
- д – перфузионное исследование после стентирования печеночной артерии (черная стрелка); перфу-

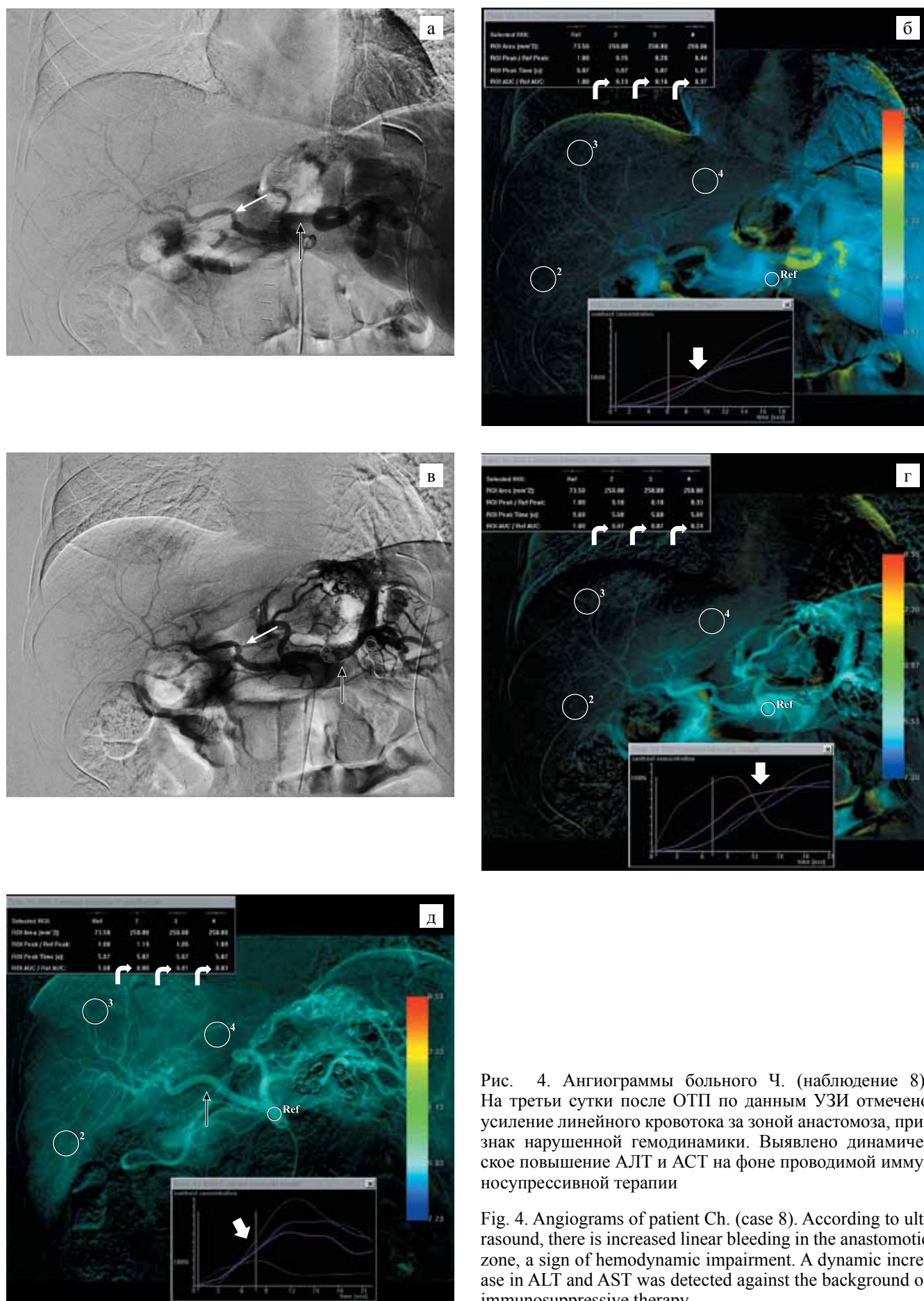


Рис. 4. Ангиограммы больного Ч. (наблюдение 8). На третьи сутки после ОТП по данным УЗИ отмечено усиление линейного кровотока за зоной анастомоза, признак нарушенной гемодинамики. Выявлено динамическое повышение АЛТ и АСТ на фоне проводимой иммуносупрессивной терапии

Fig. 4. Angiograms of patient Ch. (case 8). According to ultrasound, there is increased linear bleeding in the anastomotic zone, a sign of hemodynamic impairment. A dynamic increase in ALT and AST was detected against the background of immunosuppressive therapy

зионный показатель в исследуемых областях увеличился в 11, 11 и 4 раза и составил 0,80; 0,81; 0,83 соответственно (изогнутые стрелки); наполнение исследуемых областей контрастным веществом сократилось до 7 с и возросло до 40, 40 и 50% соответственно (толстые стрелки); эндоваскулярное лечение признано эффективным, показатели АЛТ и АСТ нормализовались на 10-е сутки.

ОБСУЖДЕНИЕ

Мы разделяем мнение авторов, считающих ангиографию приоритетным методом выявления сосудистых изменений после ОТП. Осложнения, связанные с диагностической ангиографией, не превышают 1%, у нас таковых не было [5, 6].

Исследование показало, что наличие УЗ- и/или КТ-признаков внутрипеченочного артериального кровоснабжения не исключает гипоперфузии трансплантата [7].

Программы, имеющиеся в современных ангиографических комплексах, помогают не только заподозрить, но и объективно выявить причину гипоперфузионного состояния трансплантата, что при своевременном и адекватном его устранении может снизить риск возникновения билиарных ишемических осложнений [2].

Полученные данные имеют большое значение в выборе тактики восстановления адекватной перфузии трансплантата. Выполненная без показаний эмболизация селезеночной или левой желудочной артерий может привести к септическим осложнениям, ведущим к каскаду патологических механизмов, особенно на фоне обязательной иммуносупрессивной терапии [8]. Ненужное стентирование печеночной артерии обрекает пациента на пожизненную дезагрегантную терапию, а в случае тромбоза приводит к гибели органа и пациента [5]. По мнению D. Seehofer et al. [4], в основе формирования неанастомотических стриктур желчных протоков в трансплантате лежит артериальная гипоперфузия на всех уровнях. Она связана либо с дефектом забора органа, либо с неадекватной его перфузией после запуска артериального кровотока. По нашим данным, прослеживается четкая взаимосвязь низкого перфузионного значения (<0,65) и показателей АЛТ и АСТ с последующим развитием билиарных стриктур.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Отсутствие УЗ- и КТ-признаков артериальных осложнений не исключает необходимости проведения ангиографии при подозрении на гипоперфузию трансплантата по клинико-лабораторным данным. Ангиография в комбинации с IFlow дополняет данные неинвазивных методов диагностики, позволяя

объективно оценить показания и эффективность рентгеноэндоваскулярных вмешательств у пациентов после ОТП. Требуется дальнейшее изучение гипоперфузии трансплантата с использованием результатов IFlow и МСКТ-перфузии.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Guan Y-S, Hu Y. Clinical application of partial splenic embolization. *The Scientific World Journal*. 2014; 1–9. doi: 10.1155/2014/961345/.
2. Prieto M, Gastaca M, Valdivieso A et al. Does low hepatic artery flow increase rate of biliary strictures in deceased donor liver transplantation? Letter. The author's reply Kim PT., Fernandez H., Gupta A. et al. *Transplantation*. 2017; 101 (2): 332–340. doi: 10.1097/TP.0000000000001564.
3. Buis CI, Verdonk RC, Van der Jagt EJ et al. Nonanastomotic biliary strictures after liver transplantation, part 1: Radiological features and risk factors for early vs late presentation. *Liver Transplantation*. 2007; 13: 708–718. doi: 10.1002/lt.21166.
4. Seehofer D, Eurich D, Veltzke-Schlieker W et al. Biliary complications after liver transplantation: old problems and new challenges. *American Journal of Transplantation*. 2013; 13: 253–265. doi: 10.1111/ajt.12034.
5. Goldsmith LE, Wiebke K, Seal J et al. Complications after endovascular treatment of hepatic artery stenosis after liver transplantation. *Journal of Vascular Surgery*. 2017; 66 (5): 1488–1496. doi: 10.1016/j.jvs.2017.04.062.
6. Dariushnia SR, Gill AE, Martin LG et al. Quality improvement guidelines for diagnostic arteriography. *Journal of Vascular and Interventional Radiology*. 2014; 25 (12): 1873–1881. doi: 10.1016/j.jvir.2014.07.020.
7. Гранов ДА, Поликарпов АА, Тилеубергенов ИИ и др. Случай успешной ретрансплантации печени у пациента с ранним тромбозом печеночной артерии, осложненным некрозом желчных протоков, сепсисом. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2019; 21 (3): 76–83. Granov DA, Polikarpov AA, Tileubergenov II et al. A case report of successful liver retransplantation in patient with early hepatic artery thrombosis complicated by bile ducts necrosis. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2019; 21 (3): 76–83. doi: 10.15825/1995-1191-2019-3-76-83.
8. Aiolfi A, Inaba K, Strumwasser A et al. Splenic artery embolization versus splenectomy. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. 2017; 83 (3): 356–360. doi: 10.1097/ta.0000000000001550.

*Статья поступила в редакцию 1.06.2020 г.
The article was submitted to the journal on 1.06.2020*

ТРАНСКАТЕТЕРНАЯ ИМПЛАНТАЦИЯ БИОПРОТЕЗА АОРТАЛЬНОГО КЛАПАНА НА НИТИНОВОМ САМОРАСШИРЯЮЩЕМСЯ КАРКАСЕ ПО МЕТОДИКЕ «КЛАПАН В КЛАПАН» В СВЯЗИ С ДЕГЕНЕРАЦИЕЙ СТВОРОК ПЕРВИЧНОГО БИОПРОТЕЗА. КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ ПАЦИЕНТКИ С ВЫСОКИМ ХИРУРГИЧЕСКИМ РИСКОМ

Л.С. Коков^{1, 2}, В.В. Соколов¹, М.В. Пархоменко^{1, 2}, Р.Ш. Муслимов¹, М.В. Буланова¹, Н.М. Бикбова¹

¹ ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи имени Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва, Российская Федерация

² ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация

Введение. Представлено клиническое наблюдение 72-летней пациентки с высоким операционным риском и структурной дегенерацией створок биологического протеза аортального клапана (АК) в виде стеноза, сопровождающегося тяжелой дисфункцией. Проведена транскатетерная имплантация биологического протеза Medtronic CoreValve Evolut R23 по методике «клапан в клапан». В статье обосновывается выбор малоинвазивной тактики лечения, приводится алгоритм предоперационного обследования и выбор конкретной модели биопротеза для такого вмешательства. **Материалы и методы.** Инструментальное обследование – эхокардиография (ЭхоКГ), электрокардиография, мультиспиральная компьютерная томография, коронароангиография. Показанием к малоинвазивной операции стали кальцификация и стеноз биопротеза с критическими показателями пикового градиента давления на АК по данным ЭхоКГ. **Результаты.** В результате динамического наблюдения выявлено прогрессирующее ухудшение функции ранее имплантированного биопротеза клапана сердца в аортальной позиции, критическое ухудшение состояния пациентки. После дообследования больной и подбора нового протеза выполнено эндоваскулярное вмешательство – транскатетерная имплантация биопротеза АК по методике «клапан в клапан». В раннем послеоперационном периоде отмечена положительная динамика общего состояния больной. По данным ЭхоКГ пиковый систолический градиент на биопротезе АК снизился с 90 до 29 мм рт. ст., средний градиент – с 42 до 19 мм рт. ст. **Заключение.** Примененный вариант коррекции дисфункции ранее имплантированного при открытой операции биопротеза АК малоинвазивным транскатетерным способом по методике «клапан в клапан» показал безопасность и эффективность этого метода лечения и может рассматриваться как один из вариантов репротезирования.

Ключевые слова: транскатетерная имплантация аортального клапана по методике «клапан в клапан», аортальный клапан, биопротез аортального клапана, структурная дегенерация протеза.

Для корреспонденции: Буланова Марина Викторовна. Адрес: 129090, Москва, Большая Сухаревская пл., д. 3. Тел. (916) 456-67-80. E-mail: marellabmv@mail.ru

Corresponding author: Marina Bulanova. Address: 3, Bolshaya Sukharevskaya Ploshchad, Moscow, 129090, Russian Federation. Phone: (916) 456-67-80. E-mail: marellabmv@mail.ru

VALVE-IN-VALVE TRANSCATHETER AORTIC VALVE REPLACEMENT ON A SELF-EXPANDABLE NITINOL FRAME DUE TO DEGENERATION OF PRIMARY BIOPROSTHETIC VALVE CUSPS. CLINICAL CASE OF A HIGH-RISK SURGICAL FEMALE PATIENT

L.S. Kokov^{1, 2}, V.V. Sokolov¹, M.V. Parkhomenko^{1, 2}, R.Sh. Muslimov¹, M.V. Bulanova¹, N.M. Bikbova¹

¹ Sklifosovsky Research Institute of Emergency Care, Moscow, Russian Federation

² Sechenov University, Moscow, Russian Federation

Introduction. We present the clinical observation of a 72-year-old female patient with high surgical risk and structural degeneration of a bioprosthetic aortic valve (AV) cusps in the form of stenosis, accompanied by severe dysfunction. Transcatheter implantation of bioprosthesis Medtronic CoreValve™ Evolut™ R-23 was performed using the valve-in-valve technique. The choice of minimally invasive treatment tactics is substantiated, a preoperative examination algorithm and a specific bioprosthesis model for such intervention are provided. **Materials and methods.** Imaging – echocardiography (Echo), electrocardiography, multispiral computed tomography, coronary angiography. Bioprosthetic valve calcification and stenosis with critical parameters of the bioprosthetic AV peak pressure gradient according to Echo data were the indications for minimally invasive surgery. **Results.** Dynamic observation revealed a progressive deterioration in the function of the previously implanted bioprosthetic heart valve in the aortic position, and a critical deterioration in the patient's condition. After additional examination of the patient and selection of a new prosthesis, valve-in-valve transcatheter aortic valve replacement was done. The positive dynamics of the general state of the patient was noted in the early postoperative period. Echo data showed that the bioprosthetic AV peak systolic pressure gradient decreased from 90 to 29 mmHg, average gradient – from 42 to 19 mmHg. **Conclusion.** The minimally invasive valve-in-valve transcatheter aortic valve replacement used to correct the dysfunction of a bioprosthetic AV that was previously implanted during an open surgery was shown to be safe and effective and can be considered as one of the options for repeat valve replacement.

Keywords: valve-in-valve transcatheter aortic valve replacement, aortic valve, aortic valve bioprosthesis, structural valve degeneration.

ВВЕДЕНИЕ

Стеноз аортального клапана (АК) – самое частое приобретенное заболевание среди всех клапанных пороков сердца, требующее хирургического лечения – открытого в условиях искусственного кровообращения (ИК) или малоинвазивного эндоваскулярного вмешательства. Ввиду возрастающей тенденции старения населения каждый год в мире, и в частности в России, увеличивается число применения биологических протезов для коррекции несостоятельности АК при его стенотическом поражении [1].

Использование биологического протеза (БП) позволяет отказаться от пожизненной антикоагулянтной терапии [2, 3–7]. Но в то же время его существенным недостатком является ограниченность периода нормального функционирования, связанная с дегенерацией биоматериала створок и дисфункцией протеза клапана в целом, что обуславливает необходимость проведения повторного вмешательства в отдаленном периоде (через 5–10 лет) [1, 3–7].

На сегодняшний день возможны два пути решения этой проблемы. Первый – выполнение повторной имплантации протеза стандартным способом на «открытом сердце» в условиях ИК. Этот путь связан

с риском осложнений и летальности, обусловленных пожилым и старческим возрастом пациентов, наличием сопутствующих заболеваний у больных этой категории и травматичностью самого вмешательства. Второй способ – малоинвазивный – это транскатетерная имплантация аортального клапана (ТИАК). В случае размещения нового протеза в каркасе старого несостоятельного эта методика называется «клапан в клапан» (в зарубежной литературе – «valve-in-valve») [1, 3, 4].

В настоящее время в мире, и особенно в нашей стране, опубликовано незначительное число наблюдений репротезирования с применением ТИАК по методике «клапан в клапан». Поэтому мы считаем возможным предложить наш собственный опыт подобной операции.

КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

Пациентка К., 72 года, госпитализирована в плановом порядке в отделение неотложной кардиохирургии НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского в ноябре 2019 г. При поступлении предъявляла жалобы на одышку при минимальной физической

нагрузке (ходьба на расстояние 50–100 м), эпизоды тахикардии, слабость.

Из анамнеза известно, что 11 лет назад (в 2008 г.) пациентке по поводу стеноза двустворчатого АК и расширения восходящей аорты до 5 см в условиях ИК выполнено протезирование АК ксеноаортальным биопротезом Carpentier-Edwards 21, линейная резекция и экзопротезирование восходящей аорты синтетическим протезом InterGard. Спустя 10 лет после протезирования АК приступы стенокардии стали возобновляться, в связи с чем пациентка была обследована в июне 2018 г. По результатам коронароангиографии гемодинамически значимых стенозов не обнаружено. При эхокардиографии (ЭхоКГ) выявлена умеренная дисфункция протеза АК (пиковый градиент – 45–50 мм рт. ст.), что не требовало хирургического лечения.

Значительное ухудшение состояния больная стала отмечать с февраля 2019 г. в виде одышки, слабости, приступов тахикардии. При повторной госпитализации через полгода при обследовании получены следующие данные. На ЭКГ – без патологических изменений. По данным ЭхоКГ: фракция выброса (ФВ) левого желудочка (ЛЖ) – 65%, локальная сократимость миокарда не нарушена. АК: определяют контуры ранее имплантированного протеза, створки уплотнены, утолщены, резко ограничено их раскрытие, пиковый градиент – 90 мм рт. ст., средний градиент – 42 мм рт. ст., регургитация 0–1-й степени. Митральный клапан: регургитация 1-й ст., средний диастолический градиент – 2,6 мм рт. ст. Трикуспидальный клапан: регургитация 2-й степени. Систолическое давление в легочной артерии – 40 мм рт. ст.

По данным коронароангиографии гемодинамически значимых стенозов не выявлено.

Из анамнеза известно, что пациентка в течение длительного времени страдает артериальной гипертензией (максимальные значения АД 160/80 мм рт. ст., адаптирована к значениям АД 110/60 мм рт. ст.), сахарным диабетом 2-го типа, бронхиальной астмой, хронической обструктивной болезнью легких, облитерирующим атеросклерозом сосудов нижних конечностей, хронической сердечной недостаточностью.

Проведен консилиум мультидисциплинарной командой в составе кардиолога, кардиохирурга, рентгенэндоваскулярного хирурга, анестезиолога. При обсуждении вариантов коррекции патологии учитывали следующие факторы, определяющие высокий риск повторного открытого оперативного вмешательства в условиях ИК: ранее перенесенную операцию – протезирование АК и вмешательство на восходящей аорте, старший возраст, наличие сопутствующей патологии. Определены индексы стратификации хирургического риска EuroSCORE II

>10% и STS >10%, превышающие предельно допустимый уровень для открытой операции. В связи со всем вышеперечисленным было принято решение о проведении транскатетерного эндоваскулярного репротезирования АК по методике «клапан в клапан». Назначено дообследование.

Проведена мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) сердца с ЭКГ-синхронизацией и введением контрастного препарата (Йопромид 370 мг йода/мл в объеме 100 мл внутривенно болюсно). В проекции АК визуализируется рентгенопозитивный каркас ранее установленного биопротеза с признаками асимметричного кальциноза его створок (объективно оценить объем и степень кальциноза не представляется возможным в связи с наличием металлического каркаса протеза) (рис. 1). В проекции восходящей аорты – сосудистый протез. Определены размеры на уровнях, принципиальных для предоперационного планирования ТИАК (табл. 1, 2). По предварительной оценке, диаметр проходного отверстия ранее установленного биопротеза Carpentier Edwards 21 составил 19 мм.

Также были выявлены высокая бифуркация обеих общих подвздошных артерий (ОПА), аневризма ОПА слева (до 20 мм). Стенка аорты и магистральных ветвей на всем протяжении неравномерно утолщена с наличием множественных кальцинатов, кон-



Рис. 1. МСКТ сердца перед транскатетерной имплантацией биопротеза АК; коронарная проекция; металлический каркас «старого» биопротеза Carpentier Edwards 21 (стрелка)

Fig. 1. MSCT of the heart before transcatheter AV bioprosthesis implantation; coronary projection; metal frame of the «prior» bioprosthesis Carpentier Edwards 21 (white arrow)

Таблица 1

МСКТ – данные элементов аортального клапана и выходного тракта левого желудочка**MSCT – data of the aortic valve elements and the left ventricle outflow tract**

Элемент анализа	Диаметр (мм)	Периметр (мм)	Площадь (мм ²)	Высота (мм)
Проходное отверстие протеза АК	16,3	52,1	211,6	–
Выходной отдел ЛЖ	18,1	67,2	345,8	–
Синусы Вальсальвы	32,4	–	–	Справа – 19 Слева – 23
Синотубулярный гребень	31–33	–	–	–
Расстояние от фиброзного кольца до устьев коронарных артерий	–	–	–	До ЛКА – 15,7 До ПКА – 13,2

трастирование просвета однородное. В проекции коронарных артерий и основания задней створки митрального клапана также выявлены кальцинаты различного размера. Ниже почечных артерий – умеренная девиация аорты вправо. Отмечен дефицит диаметра наружных подвздошных артерий (НПА) с обеих сторон.

После обследования было принято решение об имплантации транскатетерного биопротеза Medtronic CoreValve Evolut R23 на саморасширяющемся нитиноловом каркасе через трансфеморальный доступ слева.

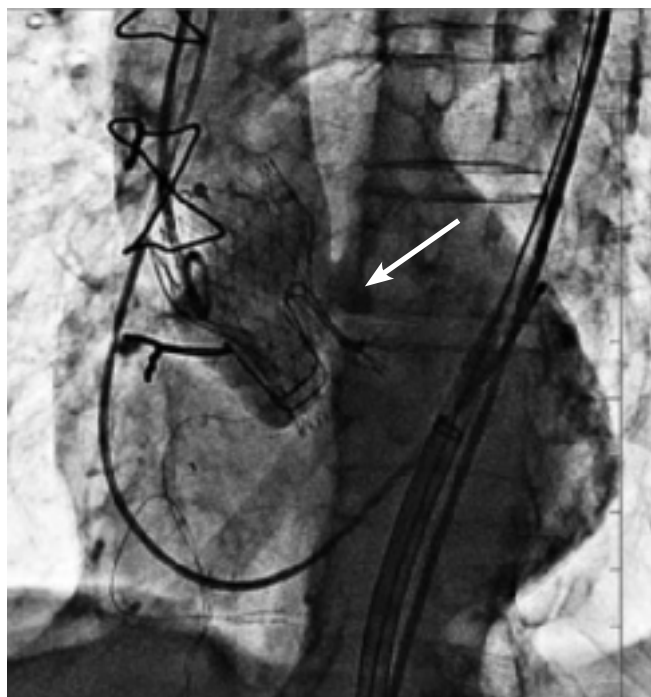


Рис. 2. Контрольная аортограмма после транскатетерной имплантации биопротеза АК по методике «клапан в клапан»; положение протеза Medtronic CoreValve Evolut R23 оптимальное (стрелка); регургитация не определяется

Fig. 2. Control aortogram after transcatheter aortic valve-in-valve bioprosthesis implantation; the position of the Medtronic CoreValve Evolut R23 prosthesis is optimal (white arrow); regurgitation is not determined

Таблица 2

МСКТ – данные диаметра аорты на разных уровнях и ее магистральных ветвей**MSCT – data on the aorta diameter at different levels and its main branches**

Элемент анализа	Диаметр (мм)
Восходящая аорта	33,9
Нисходящая аорта	23
Брюшной отдел аорты в супраренальном отделе	20
На уровне почечных артерий	13
Инфраренальный отдел	12
Общие подвздошные артерии	Справа 4,6 – 6,3 Слева 7,5 – 8,4
Наружные подвздошные артерии	Справа 4,4 – 4,7 Слева 4,0 – 4,2
Общие бедренные артерии	Справа 5,4 – 6,1 Слева 5,4 – 5,7

Эндоваскулярное репротезирование АК выполнено в декабре 2019 г. Под эндотрахеальным наркозом в бедренном треугольнике выделена и катетеризирована левая общая бедренная артерия (ОБА), установлен интродьюсер 7F. Через правую яремную вену в полость правого желудочка проведен электрод для временной электрокардиостимуляции (ЭКС).

Через пункционный доступ правой ОБА в корень аорты проведен катетер Pig tail 6F. Из левостороннего бедренного доступа диагностический катетер проведен в полость ЛЖ, и через него установлен проводник Confida 0,035". Интродьюсер 7F заменен на интродьюсер 12F. Через его просвет баллонным катетером Atlas Gold 18×40 мм при высокочастотной ЭКС до 180 в минуту выполнена предилатация ранее имплантированного протеза АК. Далее интродьюсер 12F заменен на систему доставки 18F. В аортальную позицию имплантирован протез АК Medtronic CoreValve Evolut R23 на саморасширяющемся нитиноловом каркасе.

При контрольной аортографии регургитация в полость ЛЖ отсутствует (рис. 2). Система доставки удалена. Интраоперационно выполнена кон-

Таблица 3

Показатели ЭхоКГ до и после имплантации биопротеза АК

Echo-CG indicators before and after implantation of the AV bioprosthesis

Показатель	При поступлении	При выписке
ФВ ЛЖ	65%	65%
Пиковый градиент	90 мм рт. ст.	29 мм рт. ст.
Средний градиент	42 мм рт. ст.	19 мм рт. ст.
Регургитация	0–1-й степени	0–1-й степени (межпротезная)
Митральный клапан	Регургитация 1-й ст.	Регургитация 1–2-й ст.
Трикуспидальный клапан	Регургитация 2-й ст.	Регургитация 2-й ст.
СДЛА	40 мм рт. ст.	39 мм рт. ст.

трольная трансторакальная ЭхоКГ. Новый протез расположен в каркасе ранее имплантированного, парапротезная регургитация 0–1-й степени.

Ранний послеоперационный период протекал гладко. Отмечалась заметная положительная динамика, как в объективном состоянии больной, так и по данным инструментального обследования.

По данным ЭКГ признаков ишемических изменений в миокарде не выявлено. Выполнена контрольная ЭхоКГ (табл. 3): ФВ ЛЖ – 65%, локальная сократимость не нарушена. При исследовании в режиме цветового доплеровского картирования регургитация на АК 0–1-й степени (рис. 3, а), в режиме импульсно-волновой доплерографии пиковый градиент давления на уровне протеза АК – 29 мм рт. ст., средний градиент – 19 мм рт. ст. (рис. 3, б). Регургитация на митральном клапане – 1–2-й ст., на трикуспидальном клапане – 2-й ст., систолическое давление в легочной артерии – 39 мм рт. ст.

С целью оценки структур корня аорты и положения биопротезов на 5-е сутки выполнена МСКТ сердца с ЭКГ-синхронизацией (рис. 4). В проекции АК, корня аорты, синотубулярного гребня визуализируется имплантированный протез, расположенный в каркасе ранее установленного биологического протеза. Признаков дислокации клапанов не выявлено. Положение имплантированного клапана соответствует установленным стандартам. Контрастирование стволов коронарных артерий сохранено.

Пациентка выписана на 7-е сутки после операции с рекомендациями контроля АД, ЧСС, проведения контрольной ЭКГ, ЭхоКГ, амбулаторного наблюдения терапевтом, кардиологом, пульмонологом.

ОБСУЖДЕНИЕ

При выборе вида имплантируемого протеза в аортальную позицию в настоящее время предпочтение чаще отдается биопротезам, значительным

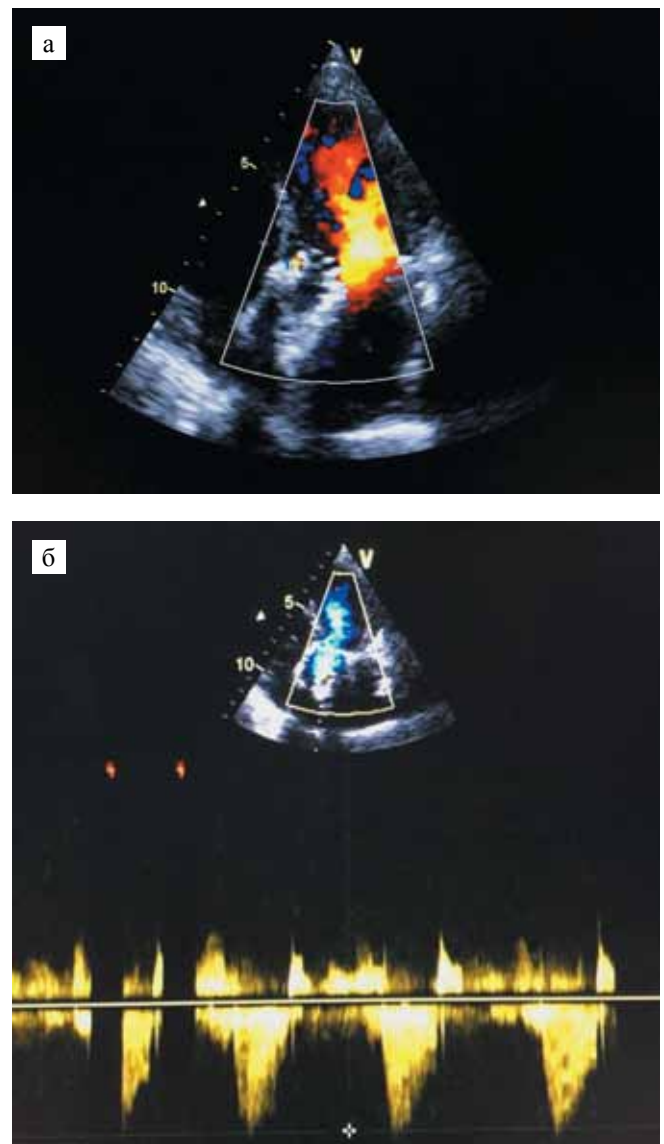


Рис. 3. Контрольная ЭхоКГ после транскатетерной имплантации биопротеза АК по методике «клапан в клапан»: а – апикальное 5-камерное сечение, режим цветового доплеровского картирования – регургитация на АК 0–1-й степени; б – режим импульсно-волновой доплерографии, пиковый градиент давления на уровне протеза АК – 29 мм рт. ст., средний градиент – 19 мм рт. ст.

Fig. 3. Control Echo-CG after transcatheter aortic valve-in-valve bioprosthesis implantation: a – apical 5-chamber view, color Doppler mapping mode-regurgitation on the AV 0–1 degree; б – pulse-wave Doppler mode, peak pressure gradient at the prosthesis level AV – 29 mm Hg, mean pressure gradient – 19 mm Hg

преимуществом которых является отсутствие необходимости в пожизненном приеме антикоагулянтов и связанного с ними риска кровотечения, постоянного лабораторного контроля свертываемости крови. Кроме того, биологические протезы обладают более высокой эффективной площадью открытия створок, что обуславливает низкий остаточный градиент давления и хороший гемодинамический эффект. В то же

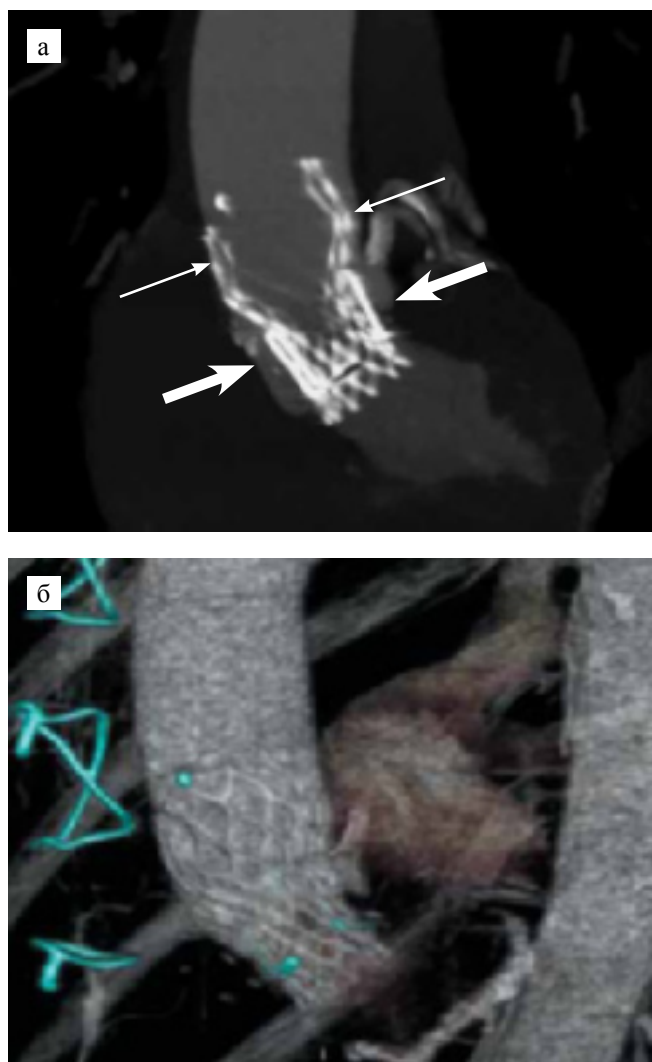


Рис. 4. МСКТ сердца после транскатетерной имплантации биопротеза АК по методике «клапан в клапан»: а – коронарная плоскость, MIP проекция, каркас биопротеза Medtronic CoreValve Evolut R23 (тонкие стрелки) внутри биопротеза Carpentier Edwards 21 (толстые стрелки); б – 3D-реконструкция корня аорты с визуализацией обоих протезов

Fig. 4. MSCT of the heart after transcatheter aortic valve-in-valve bioprosthesis implantation: a – coronary plane, MIP view, bioprosthesis frame Medtronic CoreValve Evolut R23 (thin arrows) inside the bioprosthesis Carpentier Edwards 21 (thick arrows); б – 3D volume reconstruction of the aortic root with visualization of both prostheses

время существенным недостатком биопротеза является относительно непродолжительный период его нормального функционирования [1–7]. По данным различных исследований, до 60% протезов требуют замены через 15–20 лет. При этом, по данным регистра «Global Valve-in-Valve Registry», медиана срока эксплуатации биопротезов составляет 9 лет (межквартильный размах 7–13 лет) [1, 8, 9].

Дисфункция биопротеза обусловлена дегенеративными изменениями структуры створок (кальци-

фикация и повреждение). Это со временем приводит к необходимости репротезирования [2, 5–9].

Стандартным методом коррекции рестеноза биопротеза является повторная хирургическая имплантация, как правило, аналогичного протеза, которая связана с большим риском осложнений и летальности, что в первую очередь обусловлено большой травматичностью самого вмешательства, а также преклонным возрастом больных и наличием у них сопутствующих заболеваний [1, 3–5].

В подобных сложных ситуациях новой альтернативой открытым вмешательствам на АК является проведение малоинвазивной операции – транскатетерной имплантации биопротезов АК с бесшовным способом фиксации [1, 3–7].

Представленное клиническое наблюдение пациентки с дисфункцией ранее имплантированного биопротеза АК вследствие его кальцификации и стенозирования и высоким хирургическим риском показало высокую эффективность транскатетерной имплантации протеза по методике «клапан в клапан». Использование биопротеза фирмы Medtronic CoreValve Evolut R (Medtronic Inc., США) с функцией самораскрытия и возможностью репозиционирования позволило имплантировать его точно в каркас ранее имплантированного протеза. По данным послеоперационной ЭхоКГ межпротезная регургитация составила 0–1 степень. Дислокации протезов в раннем послеоперационном периоде не выявлено.

Отличительная черта данного клинического наблюдения заключается в необходимости тщательного подбора «нового» биопротеза и доставляющего устройства соответствующих параметров с учетом размеров «старого» биопротеза и индивидуальных анатомических особенностей (малый просвет) подвздошных артерий пациентки. Сложность эндоваскулярного вмешательства состояла в выраженной кальцификации стенок аорты и ее ветвей, дефиците диаметра обеих НПА, что повышало риск возникновения опасных осложнений. Был применен биопротез, используемый, по данным литературы, помимо стандартного ТИАК при методике «клапан в клапан». Данное устройство представляет собой чрескожную доставляющую систему и клапан из свиного перикарда, размещенный на саморасширяющейся нитиноловой сетчатой конструкции. Система доставки обеспечивает контролируемое и порционное раскрытие с возможностью репозиционирования. Рентгеноконтрастный дизайн позволяет осуществить оптимальное позиционирование. Каркас спроектирован с учетом сохранения коронарной перфузии. Интрааннулярная позиция и герметичная «юбка» клапана уменьшают парапротезную регургитацию. Диаметр доставляющего катетера в 18F является наименьшим среди известных на сегодня, его использование было единственно приемлемым вариантом для проведения

инструментов через НПА у обсуждаемой пациентки и в сочетании с другими особенностями устройства определило наш выбор.

В настоящее время при имплантации «клапан в клапан» широко применяются различные модели транскатетерных биопротезов: первого поколения – Sapien, Sapien XT, Sapien 3 (Edwards LifeScience, США), CoreValve, CoreValve Evolut R, Melody (Medtronic Inc., США); второго поколения – Portico (St. Jude Medical, США), Lotus (Boston Scientific, США), Accurate TA (Symetis SA, Швейцария), Engager (Medtronic Inc., США) [1]. В нашем наблюдении был успешно использован биопротез Medtronic CoreValve Evolut R диаметром 23 мм.

Транскатетерное репротезирование клапанов сердца на сегодняшний день является единственным методом, который позволяет существенно снизить вероятность осложнений оперативного лечения у пациентов высокого хирургического риска с тяжелым стенозом ранее установленного биопротеза АК [2, 3–7].

Исходя из анализа литературных источников, возможным ограничением применения методики «клапан в клапан» являются различные виды интра- и постоперационных осложнений: формирование высокого транспротезного градиента давления, пара- и транспротезная регургитация, дислокация устройства, обструкция коронарных артерий отслоившимися кальцинатами, нарушения ритма сердца, а также осложнения, связанные с операционными особенностями самой процедуры [1, 6, 7]. Для предупреждения возникновения подобных осложнений необходимо тщательное предоперационное обследование пациента с применением ЭхоКГ, коронароангиографии, МСКТ сердца, всей аорты и артерий нижних конечностей до уровня подвздошно-бедренного сегмента. Это позволяет произвести точный подбор модели транскатетерного протеза АК с учетом анатомических особенностей артерий доступа, параметров корня аорты, конструкции и размеров «старого» биопротеза.

Рентгенэндоваскулярная методика повторной имплантации биопротеза в аортальную позицию по методике «клапан в клапан» является рациональным вариантом лечения, особенно у пожилых пациентов с высоким хирургическим риском в связи с имеющейся сопутствующей патологией [10]. Использование известных в кардиохирургии шкал хирургического риска (EuroSCORE, STS-score) [11, 12] позволило не только прогнозировать вероятность развития осложнений, но и предупредить их в послеоперационном периоде у описываемой нами пациентки высокого риска и, воздержавшись от хирургического репротезирования АК, успешно провести транскатетерное вмешательство.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленное клиническое наблюдение успешного транскатетерного репротезирования аортального клапана сердца по методике «клапан в клапан» демонстрирует безопасность и эффективность этого метода лечения. Можно утверждать, что данный способ является реальной альтернативой классическому открытому вмешательству. Данный вид оперативного вмешательства, безусловно, может рассматриваться как один из вариантов репротезирования у пациентов высокого хирургического риска, которым показана повторная операция в связи с дисфункцией ранее имплантированных биологических протезов клапанов сердца.

Авторы заявляют об отсутствии

конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Клышников КЮ, Овчаренко ЕА, Кудрявцева ЮА, Барбараш ЛС. Репротезирование клапанов сердца по методике «протез-в-протез». *Российский кардиологический журнал*. 2016; 11 (139): 73–80. Klyshnikov RYu, Ovcharenko EA, Kudryavtseva YuA, Barbarash LS. «Valve-in-valve» reprototyping of cardiac artificial valves. *Russ J Cardiol*. 2016; 11 (139): 73–80. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15829/1560-4071-2016-11-73-80.
2. Имаев ТЭ, Комлев АЕ, Коллегаев АС, Лепилин ПМ, Акчурун РС. Современное состояние проблемы транскатетерного репротезирования клапанов сердца по методике «клапан в клапан». *Consilium Medicum*. 2016; 18 (5): 89–92. Imaev TE, Komlev AE, Kolegaev AS, Lepilin PM, Akchurin RS. The current status of transcatheter heart valve replacement, using the valve-in-valve technique. *Consilium Medicum*. 2016; 18 (5): 89–92. [In Russ, English abstract].
3. Nagaraja V, Raval J, Eslick GD, Denniss AR. Approaches for transcatheter aortic valve replacement: a systematic review and meta-analysis. *Online J Health Allied Scs*. 2013; 12 (4): 3.
4. Spaziano M, Mylotte D, Thériault-Lauzier P, Ole De Backer, Sndergaard L, Bosmans J et al. Transcatheter aortic valve implantation versus redo surgery for failing surgical aortic bioprostheses: a multicentre propensity score analysis. *EuroIntervention*. 2017; 13 (10): 1149–1156.
5. Hisato Takagi, Shohei Mita, Tomo Ando. Meta-analysis of valve-in-valve transcatheter versus redo surgical aortic valve replacement. *Thorac Cardiovasc Surg*. 2019; 67: 243–250.
6. Duncan A, Moat N, Simonato M, de Weger A, Kempfert J, Eggebrecht H et al. Outcomes following transcatheter aortic valve replacement for degenerative stentless versus stented bioprostheses. *JACC Cardiovasc Interv*. 2019 Jul 8; 12 (13): 1256–1263.

7. Gurvitch R, Cheung AYeJ, Wood DA Willson AB, Toggweiler S, Binder R et al. Transcatheter valve-in-valve Implantation for failed surgical bioprosthetic valves. *J Am Coll Cardiol*. 2011; 58 (21).
8. Dvir D, Webb JG, Bleiziffer S, Pasic M, Waksman R, Kodali S et al. Transcatheter aortic valve implantation in failed bioprosthetic surgical valves. *JAMA*. 2014; 312 (2): 162–170.
9. Dvir D, Webb JG, Brecker S, Bleiziffer S, Hildick-Smith D, Colombo A et al. Transcatheter aortic valve replacement for degenerative bioprosthetic surgical valves: results from the Global Valve-in-Valve Registry. *Circulation*. 2012; 126: 2335–44.
10. Grubitzsch H, Zobel S, Christ T, Holinski S, Stangl K, Treskatsch S et al. Redo procedures for degenerated stentless aortic xenografts and the role of valve-in-valve transcatheter techniques. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. 2017; 51 (4): 653–659. doi: 10.1093/ejcts/ezw397.
11. Kofler M, Sebastian J, Stastny L, Dumfarth J, Reindl M, Wachter K et al. EuroSCORE II and the STS score are more accurate in transapical than in transfemoral transcatheter aortic valve implantation. *Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery*. 2018; 26 (3): 413–419. doi: 10.1093/icvts/ivx343.
12. Aziz M, Simonato M, Webb J, Abdel-Wahab M, McElhinney D, Duncan A et al. Mortality prediction after transcatheter treatment of failed bioprosthetic aortic valves utilizing various international scoring systems: Insights from the Valve-in-Valve International Data (VIVID). *Catheter Cardiovasc Interv*. 2018; 00: 1–8. doi: 10.1002/ccd.27714.

Статья поступила в редакцию 2.04.2020 г.
The article was submitted to the journal on 2.04.2020

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)

на 2020 год по месяцам

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

Куда _____
(почтовый индекс) (адрес)

Кому _____
(фамилия, инициалы)

ДОСТАВочная КАРТОЧКА

ПВ	место	ли-тер
----	-------	--------

на журнал

80248
(ИНДЕКС ИЗДАНИЯ)

ВЕСТНИК ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ

стои-мость	подписки		руб.		коп.		количество комплектов
	зоре-адресовки	зоре-адресовки	руб.	коп.	руб.	коп.	

на 2020 год по месяцам

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

Куда _____
(почтовый индекс) (адрес)

Кому _____
(фамилия, инициалы)

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-3-115-122

ЭНДОПРОТЕЗ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ С ОПОРНЫМИ ЗОНАМИ КАК ИСКУССТВЕННЫЙ ОРГАН

А.И. Шайхалиев, П.С. Петрук, И.М. Шпицер, А.С. Мигачев, Л.Д. Аразашвили, Т.Р. Давыдова, Г.А. Гасбанов, Р.С. Корголов

ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация

Реконструкция нижней челюсти после ее частичной или полной резекции является необходимым условием для восстановления нормальной эстетики лица, артикуляции и жевательной функции. В данной публикации представлен клинический случай реконструкции нижней челюсти у пациентки с приобретенным обширным дефектом кости на фоне приема наркотических веществ на основе первитина и дезоморфина. Приведено детальное описание этапов планирования и проведения оперативного вмешательства, изготовления индивидуального эндопротеза, а также предоперационной подготовки пациента. Проанализированы клинические и рентгенологические данные в послеоперационном периоде, дана объективная оценка эффективности методики. За счет применения индивидуального титанового эндопротеза нижней челюсти с включенными дентальными имплантатами и изготовления ортопедической конструкции достигнуто адекватное восстановление основных функций утраченного органа.

Ключевые слова: реконструкция нижней челюсти, протезы и имплантаты, искусственные органы, виртуальное планирование, компьютерное проектирование.

MANDIBULAR ENDOPROSTHESIS WITH SUPPORT ZONES AS AN ARTIFICIAL ORGAN

A.I. Shaikhaliev, P.S. Petruk, I.M. Shpitser, A.S. Migachev, L.D. Arasashvili, T.R. Davydova, G.A. Gasbanov, R.S. Korgolov

Sechenov University, Moscow, Russian Federation

Mandibular reconstruction after partial or complete resection is a prerequisite for restoring normal facial aesthetics, articulation and chewing function. We present a clinical case of lower jaw reconstruction in a female patient with acquired extensive bone defect while taking pervitin and desomorphine. Detailed descriptions of the stages of planning and performing surgery, manufacture of an individual endoprosthesis, as well as preoperative preparation of the patient are presented. Clinical and radiological data in the postoperative period were analyzed and an objective assessment of the effectiveness of the technique was given. Adequate restoration of the main functions of the lost organ was achieved thanks to the use of an individual titanium mandibular endoprosthesis with integrated dental implants and a full-arch denture.

Keywords: mandibular reconstruction, prostheses and implants, artificial organs, virtual planning, computer-assisted design.

ВВЕДЕНИЕ

Нижняя челюсть (НЧ) – единственная подвижная и наиболее массивная кость лицевого черепа, которая является опорой и местом прикрепления функционально значимых групп мышц. НЧ играет одну из основных ролей в обеспечении функций жевания,

глотания, артикуляции и в отдельных случаях – дыхания.

Обширные дефекты НЧ приводят к асимметрии нижней зоны лица, вызывают функциональные нарушения, а также сопровождаются потерей эстетического облика человека [1]. В последнее время большое количество научных работ затрагивают тему

Для корреспонденции: Петрук Павел Сергеевич. Адрес: 119991, Москва, ул. Большая Пироговская, д. 2, стр. 4. Тел. (926) 275-91-75. E-mail: petruk_pavel@yahoo.com

Corresponding author: Pavel Petruk. Address: 2, buld. 4, Bolshaya Pirogovskaya str., Moscow, 119991, Russian Federation. Phone: (926) 275-91-75. E-mail: petruk_pavel@yahoo.com

соответствия гистерезисного поведения системы эндопротеза гистерезисному поведению тканей. Многие работы посвящены преимуществам изготовления индивидуальных эндопротезов [2, 3]. Тем не менее добиться стойкого функционально и эстетически удовлетворительного результата после эндопротезирования обширных дефектов нижней челюсти при отсутствии зубного протезирования представляется маловероятным. Фиксация фрагментов челюстной кости стандартной титановой пластиной и последующее съемное протезирование следует считать относительно удовлетворительным решением. Требуется разработка и внедрение более долговечных и физиологичных конструкций. В настоящее время развитие CAD/CAM-технологий позволяет изготавливать индивидуальные имплантаты для черепно-челюстно-лицевого протезирования.

Приводим клиническое наблюдение, в котором представлены этапы планирования и проведения оперативного вмешательства, описана методика изготовления индивидуального эндопротеза нижней

челюсти, а также особенности предоперационной подготовки пациента.

ОПИСАНИЕ КЛИНИЧЕСКОГО СЛУЧАЯ

Пациентка А., 1985 г. р. В анамнезе – прием наркотических средств на основе дезоморфина и первитина. Ремиссия 6 лет. В 2004 году прооперирована в г. Ухта, проведена секвестрнекрэктомия, удаление фронтальных зубов на нижней челюсти. В 2006 году выполнена повторная секвестрнекрэктомия, удаление 43, 44. В 2009 году в г. Ухта установлена реконструктивная пластина серийного производства «Конмет». Обратилась в клинику челюстно-лицевой хирургии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова в феврале 2012 года с жалобами на оголение реконструктивной пластины в полости рта, нарушения жевания и речи, деформацию лица (рис. 1). Проведена saniрующая операция, заключающаяся в удалении несостоятельной металлоконструкции и ревизии патологического очага.

На консилиуме принято решение изготовить индивидуальный эндопротез с включением опорных зон для последующего протезирования с целью восстановления жевательной функции. Предварительно произведено удаление прорезавшейся металлоконструкции, купирование воспалительных явлений. В сентябре 2012 года проведено оперативное вмешательство в объеме эндопротезирования нижней челюсти.

Предоперационное планирование. Пациентке выполнена мультиспиральная компьютерная томография черепа с объемной реконструкцией изображения, на которой определяется субтотальный дефект нижней челюсти, а также дефект левой верхнечелюстной кости с полной адентией во втором сегменте. По данным МСКТ изготовлены стереолитографические модели. Коллективом авторов совместно с инженерами фирмы «Конмет» разработан индивидуальный титановый эндопротез с шахтами под имплантаты [4]. Имплантаты фиксировались в тело эндопротеза в заводских условиях (рис. 2, 3).

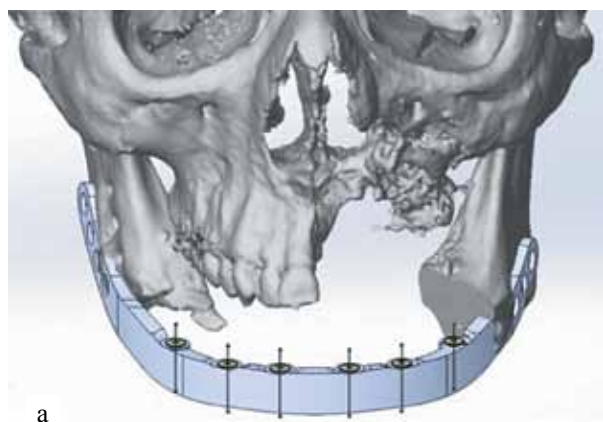
Ход операции. Произведены типичные поднижнечелюстные разрезы справа и слева, а также предушный доступ по технике Bramley-Al-Kayat [5]. В области сохраненного участка тела нижней челюсти справа и слева проведена остеотомия кортикального слоя, сформирован желобок шириной 2 мм для укладки переднего отдела фрагмента эндопротеза. Произведена установка и фиксация эндопротеза при помощи винтов в области угла и ветви нижней челюсти справа и слева.

Рана послойно ушита, оставлены латексные дренажи на 2 суток (рис. 4). Пациентке проведена комплексная антибактериальная, противовоспалительная, симптоматическая терапия. Ранний послеоперационный период протекал без особенностей.

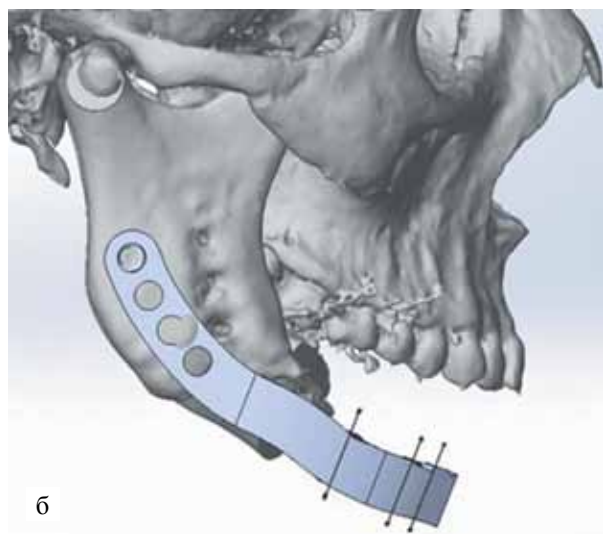


Рис. 1: а – внешний вид пациентки при обращении в клинику челюстно-лицевой хирургии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова; б – ортопантомограмма, состояние после резекции нижней челюсти и установки реконструктивной пластины серийного производства

Fig. 1: а – appearance of the patient when applying to the clinic of maxillofacial surgery of the Sechenov First MSMU; б – orthopantomogram, condition after resection of the mandible and fixation the reconstructive plate of mass production



а



б

Рис. 2. Анализ виртуальной модели костей лицевого черепа. Моделирование индивидуального эндопротеза нижней челюсти

Fig. 2. Analysis of the virtual model of the visceral cranium. Modeling an individual endoprosthesis of the mandible



а



б

Рис. 3. Планирование этапов операции. Припасовка индивидуального эндопротеза с опорными зонами для денальных имплантов на стереомодели

Fig. 3. Planning the stages of the operation. Fitting an individual endoprosthesis with supporting zones for dental implants on a stereo model



а



б

Рис. 4. Установка и фиксация эндопротеза: а – этап операции; б – послеоперационная рентгенограмма

Fig. 4. Implantation and fixation of the endoprosthesis: а – stage of the surgery; б – postoperative roentgenogram



Рис. 5. Состояние тканей в полости рта: а – установлены формирователи десневого края; б – установлены трансферы для получения рабочего оттиска нижней челюсти

Fig. 5. The condition of the tissues in the oral cavity: а – gingival formers are installed; б – transfers are established to obtain a working impression of the mandible

Заживление ран происходило первичным натяжением, без осложнений. Снятие швов на коже выполнено на 7-е сутки, швов в полости рта – через 14 дней.

Через 6 месяцев выполнена установка формирователей десневого края. Спустя 14 дней с использованием трансферов снят оттиск (рис. 5). Выполнено протезирование с изготовлением условно-съемного протеза балочной конструкции на индивидуальных абатментах (рис. 6, 7). Специалистами и самой пациенткой косметический и функциональный результат был оценен как удовлетворительный. Отмечено восстановление формы и размеров нижней челюсти, контуров лица в целом, увеличение амплитуды движений нижней челюсти. Положительный результат сохраняется на протяжении 6 лет после проведенной операции (рис. 8).

Преимуществом использованного эндопротеза является то, что после установки он оказывается полностью покрыт слизистой, а индивидуальные абатменты устанавливаются отсроченно. Этот



Рис. 6. Изготовление условно съемного протеза на балочной конструкции

Fig. 6. Production of a conditionally removable denture on a beam construction

факт уменьшает риск развития послеоперационного инфицирования, увеличивает скорость заживления.

Рекомендации. После установки эндопротеза слизистая должна быть полностью ушита, чтобы избежать инфицирования. Снятие оттисков и протезирование должны проводиться отсроченно. После окончания регенерации тканей, окружающих эндопротез, возможно протезирование с использованием индивидуальных абатментов. Промывная зона зубного протеза должна составлять 1,8–2 мм для обеспечения удовлетворительной гигиены полости рта [6].

ОБСУЖДЕНИЕ

Одной из важных анатомических особенностей челюстей является наличие зубов, выполняющих целый ряд функций, что накладывает определенную специфику не только на течение заболеваний челюстно-лицевой области, но и на подходы к их лечению и реабилитации [7, 8]. Утрата фрагмента нижней челюсти с выпадением жевательной функции на сто-



Рис. 7. Внешний вид пациентки после условно-съемного протезирования

Fig. 7. Appearance of the patient after conditionally removable prosthetics

роне поражения приводит к неравномерной работе группы жевательных мышц с развитием вторичной асимметрии лица. К тому же дополнительная травматизация слизистой оболочки при отсутствии зубного



Рис. 8. Осмотр полости рта (сентябрь 2019 г.)

Fig. 8. Oral cavity examining (September 2019)

протезирования ведет к прорезыванию эндопротеза. Кроме того, отсутствие зубов-антагонистов у зубов противоположного сегмента приводит к уменьшению их функциональной нагрузки, развитию феномена Попова-Годона [9], заболеваниям пародонта и ранней утрате сохранных зубов. Отсутствие зубов приводит к патологии височно-нижнечелюстного сустава (ВНЧС), который является одним из важных органов, участвующих в постуральном контроле тела человека [10].

Д.А. Никитин и соавт. [11] разработали клиническую классификацию дефектов костных структур нижней челюсти с учетом возможности применения метода дентальной имплантации при реконструктивно-восстановительных операциях. Авторами были выделены три группы больных. Согласно данной классификации, к 3-му классу были отнесены обширные дефекты нижней челюсти с нарушением ее непрерывности во фронтальном и боковых отделах.

В настоящее время наиболее часто реконструктивные операции у пациентов с обширными приобретенными дефектами челюстно-лицевой области (ЧЛЮ) проводятся с использованием аллотрансплантатов, ревааскуляризованных и невааскуляризованных ауто-трансплантатов, эндопротезов. На основании анализа свойств вышеуказанных групп трансплантатов (табл.) есть основание полагать, что эндопротезирование является одной из наиболее перспективных методик.

Таблица

Преимущества и недостатки различных реконструктивных материалов**Pros and cons of various reconstructive materials**

Реконструктивный материал	Преимущества	Недостатки
Аллотрансплантат	Не требует создания дополнительного операционного поля; есть возможность замещения комбинированных дефектов лица и челюстей; возможность трансплантации у пациентов с онкологическим заболеванием в ремиссии (более пяти лет) и у ВИЧ-позитивных пациентов [12]	Необходимость создания костного банка [13], технологическая сложность, различия в размерах и геометрии донорского участка и дефекта [14], нельзя исключить возможность заражения реципиента; требуется допуск со стороны этического комитета
Неваскуляризованный аутооттрансплантат	Менее технически сложная и затратная операция по сравнению с использованием васкуляризованного графта, имеется больше локализаций для забора; снижение риска отторжения трансплантата	Травма донорского участка; ограниченность доступного объема для забора [15]; резорбция [16, 17]; не всегда возможно восполнить протяженный дефект [14]; риск инфицирования [18]
Реваскуляризованный аутооттрансплантат	Возможность замещения протяженных дефектов челюстей (до 8 см); используются после лучевой терапии и в мягких тканях с рубцовыми изменениями; возможность имплантации (есть как положительные, так и отрицательные результаты) [18, 19]; предотвращение риска отторжения трансплантата	Травма донорского участка, требуется дорогостоящее оборудование и высокая квалификация хирурга, не всегда представляется возможным восполнить дефект; длительное время операции; необходимость в двух специализированных хирургических бригадах; заболеваемость; более длительное пребывание в стационаре [20–23]
Эндопротез	Не требует создания дополнительного операционного поля; возможность изготовления индивидуального эндопротеза с заранее рассчитанными оптимальными геометрическими параметрами, что позволяет значительно сократить операционное время; возможность протезирования при использовании эндопротеза с опорными зонами	Перелом фиксирующей части эндопротеза, интрузия его головки в полость средней черепной ямки при эндопротезировании сустава; прорезывание [24]; риск заражения или инфекции; толщина эндопротеза, которая не обеспечивает достаточного объема реконструкции [14]; усталость материала, что накладывает ограничения на продолжительность эксплуатации

Большинство авторов положительно оценивают опыт применения эндопротезов нижней челюсти, подчеркивая его перспективность [7, 24]. В случаях удаления ВНЧС с ветвью НЧ единым блоком не следует забывать о сохранении вышеуказанной функции в интактном суставе. Следует отметить, что применение протеза суставной ямки височной кости предотвращает рецидив анкилоза и пенетрацию суставной головки эндопротеза в полость средней черепной ямки [25].

Исторически для эндопротезирования НЧ и височно-нижнечелюстного сустава (ВНЧС) применяли сплавы, устойчивые к коррозии в жидких средах организма: нержавеющей сталь, сплав кобальта (виталлиум), хрома, молибдена и тантала [26]. Наибольшей популярностью пользовались эндопротезы ветви НЧ из виталлиума, предложенные B.S. Freeman (1948) [27]. В последующие годы происходило активное внедрение в медицинскую практику материалов из титана и его сплавов. В частности, R.W. Christensen (2004) разработал многочисленные варианты титановых протезов, описал методики оперативных вме-

шательств по протезированию суставной впадины и ветви НЧ [2].

Положительные свойства титана и его сплавов: высокая биосовместимость; биоинертность в тканях организма; коррозионная стойкость, обусловленная образованием оксидной пленки, стабильной в средах организма; модуль упругости, близкий к модулю упругости кости; немагнитность; низкая теплопроводность; малый коэффициент линейного расширения; отсутствие клинически значимой токсичности [28]. Кроме того, опытные экспериментальные исследования на животных показали, что титановые конструкции более устойчивы к усталостной нагрузке по сравнению с иными материалами [7].

Тем не менее разработка и внедрение в клиническую практику более совершенного материала [28, 29] не исключает развитие как ранних, так и поздних осложнений, что можно связать помимо других причин и с недостаточной физиологичностью замещающей конструкции.

Согласно данным специализированной литературы, в настоящее время наиболее оптимальным методом реабилитации при частичной и полной адентии

у пациентов является дентальная имплантация [30]. Тем не менее данный способ восстановления зубного ряда по понятным причинам практически неосуществим на протяжении стандартного металлического эндопротеза [31]. Исходя из анатомической, функциональной и эстетической значимости НЧ, можно сказать, что операция по имплантации предложенной металлоконструкции равносильна созданию искусственного органа, что особенно важно для поддержания приемлемого уровня жизни пациента.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, за счет предложенной методики удается решить основные задачи реконструктивной операции у пациентов с обширными дефектами нижней челюсти: восстановить функции, а также максимально близко воссоздать эстетику лица, что, в свою очередь, оказывает существенное влияние на качество жизни пациента. Данный клинический случай наглядно демонстрирует, что применение индивидуального эндопротеза нижней челюсти с интегрированными дентальными имплантатами с последующим изготовлением условно-съёмной ортопедической конструкции позволяет получить прогнозируемый стабильный результат и является достаточно перспективным в плане реабилитации пациентов.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Goiato MC, Ribeiro AB, Dreifus Marinho ML. Surgical and prosthetic rehabilitation of patients with hemimandibular defect. *J Craniofac Surg*. 2009; 20: 2163–2167. doi: 10.1097/scs.0b013e3181bf014a.
2. Christensen RW. The History of the Christensen Mandibular end TMJ Alloplastic Reconstruction. *TM Journal*. 2004; 3 (6): 1–19.
3. Мураев АА, Иванов СЮ, Ивашкевич СГ, Горшенев ВН, Телешев АТ, Кибардин АВ и др. Органотипичные костные имплантаты – перспектива развития современных остеопластических материалов. *Стоматология*. 2017; 96 (3): 36–39. Muraev AA, Ivanov SYu, Ivashkevich SG, Gorshenev VN, Teleshev AT, Kibardin AV et al. Orthotopic bone implants for bone regeneration. *Stomatologiya*. 2017; 96 (3): 36–39. [In Russ, English abstract]. doi: 10.17116/stomat201796336-39.
4. Патент RU 146000 U1, Устройство для устранения дефектов и деформаций кости нижней челюсти на основе использования модели лицевой части черепа с включенными в нее дентальными имплантатами для устранения функционального и косметического дефектов, 2014.03.05, Шайхалиев А.И. и соавт. Patent RU 146000 U1, Ustrojstvo dlya ustraneniya defektov i deformacij kosti nizhney chelyusti na osnove ispol'zovaniya modeli licevoj chasti cherepa s vkluchenny'mi v nee dental'ny'mi implantatami dlya ustraneniya funkcional'nogo i kosmeticheskogo defektov, 2014.03.05, Shaikhaliev A.I. et al. Available at: https://yandex.ru/patents/doc/RU146000U1_20140927.
5. Braimah R, Taiwo A, Ibikunle A, Oladejo T, Adeyemi M, Adejobi F, Abubakar S. Clinical experience in managing temporomandibular joint ankylosis: five-year appraisal in a Nigerian subpopulation. *Journal of the Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*. 2018; 44 (3): 112. doi: 10.5125/jkaoms.2018.44.3.112.
6. Никольский ВД, Журули ГН, Цаликова НА. Выбор конструкции протезов при протезировании на зубных имплантатах при полной адентии. *Стоматология для всех*. 2015; 4: 48–52. Nikolskiy VD, Zhuruli GN, Tsalikova NA. Vybore konstruktssii protezov pri protezirovanii na zubnykh implantatakh pri polnoy adentii. *Stomatologiya dlya vsekh*. 2015; 4: 48–52. [In Russ, English abstract].
7. Сирак СВ, Слетов АА, Елизаров АВ, Мебония ТТ, Арутюнов АВ. Реконструкция объемных дефектов нижней челюсти с помощью имплантата-эндопротеза. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2014; 9 (1): 87–91. Sirak SV, Sletov AA, Elizarov AV, Meboniya TT, Arutyunov AV. Rekonstruktsiya ob'yemnykh defektov nizhney chelyusti s pomoshchyu implantata-endoproteza. *Meditsinskiy vestnik Severnogo Kavkaza*. 2014; 9 (1): 87–91. [In Russ, English abstract]. doi: /10.14300/mnnc.2014.09024.
8. Bak M, Jacobson AS, Buchbinder D, Urken ML. Contemporary reconstruction of the mandible. *Oral Oncol*. 2010; 46: 71–76. doi: /10.1016/j.oraloncology.2009.11.006.
9. Ахмедова НА. Анализ зубочелюстных нарушений у пациентов с частичной вторичной адентией и пациентов без нарушения целостности зубных рядов. *Наука молодых – Eruditio juvenium*. 2018; 6 (3): 347–353. Akhmedova NA. Analiz zubochelestnykh narusheniy u patsiyentov s chastichnoy vtorichnoy adentiyey i patsiyentov bez narusheniya tselostnosti zubnykh ryadov. *Nauka molodykh – Eruditio juvenium*. 2018; 6 (3): 347–353. [In Russ, English abstract].
10. Carlson JE. Physiologic occlusion. MidWest Press; 2009.
11. Никитин ДА, Миргазизов МЗ, Никитин АА. Лечение и реабилитация больных после костно-реконструктивных и восстановительных операций на нижней челюсти с использованием эндопротезирования и дентальных имплантатов. *Альманах клинической медицины*. 2011; 24: 15–21. Nikitin DA, Mirgazizov MZ, Nikitin AA. Lecheniye i reabilitatsiya bolnykh posle kostno-rekonstruktivnykh i vosstanovitelnykh operatsiy na nizhney chelyusti s ispol'zovaniyem endoprotezirovaniya i dentalnykh implantatov. *Almanakh klinicheskoy meditsiny*. 2011; 24: 15–21. [In Russ, English abstract].
12. Kasiske BL, Cangro CB, Hariharan S et al. The evaluation of renal transplant candidates: clinical practice guidelines. *Am J Transplant*. 2001; 2 (Suppl 1): 5–95. doi: 10.1034/j.1600-6143.2001.0010s2001.x.
13. Rochanawutanon S, Suddhasthira S, Pairuchvej V, Vajjaradul Y. Long term follow-up of reconstruc-

- tion with allogeneic mandibular bone crib packed with autogenous particulate cancellous bone marrow. *Cell and Tissue Banking*. 2002; 3 (3): 183–197. doi: 10.1023/a:1023602717328.
14. Bayat M, Naji S, Motlagh M. Bone Allograft: An Option for Total Mandibular Reconstruction. *Craniofacial Trauma & Reconstruction*. 2017; 10 (04): 306–313. doi: 10.1055/s-0036-1593474.
 15. Rocchietta I, Simion M, Hoffmann M, Triscioglio D, Benigni M, Dahlin C. Vertical bone augmentation with an autogenous block or particles in combination with guided bone regeneration: A clinical and histological preliminary study in humans. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2016; 18: 19–29. doi: 10.1111/cid.12267.
 16. Toker H, Ozdemir H, Ozer H, Eren K. Alendronate enhances osseous healing in a rat calvarial defect model. *Arch Oral Biol*. 2012; 57: 1545–1550. doi: 10.1016/j.archoralbio.2012.06.013.
 17. Li P, Honda Y, Arima Y, Yasui K, Inami K, Nishiura A, Hashimoto Y, Matsumoto N. Interferon- γ enhances the efficacy of autogenous bone grafts by inhibiting postoperative bone resorption in rat calvarial defects. *J Prosthodont*. 2016; 60: 167–176. doi: 10.1016/j.jpor.2016.01.002.
 18. Khachatryan L, Khachatryan G, Hakobyan G. The Treatment of Lower Jaw Defects Using Vascularized Fibula Graft and Dental Implants. *J of Craniofacial Surgery*. 2018; 1. doi: 10.1097/scs.00000000000005015.
 19. Anne-Gaelle B, Samuel S, Julie B et al. Dental implant placement after mandibular reconstruction by microvascular free fibula flap: current knowledge and remaining questions. *Oral Oncol*. 2011; 47: 1099–1104. doi: 10.1016/j.oraloncology.2011.07.016.
 20. Van Germet JT, Van Es RJ, Van Cann EM, Koole R. Non-vascularized bone grafts for segmental reconstruction of the mandible – a reappraisal. *J Oral Maxillofac Surg*. 2009; 67: 1446–1452. doi: 10.1016/j.joms.2008.12.052.
 21. Van Germet JT, Van Es RJ, Rosenberg AJ, Van der Bilt A, Koole R, Van Cann EM. Free vascularized flaps for reconstruction of the mandible: complications, success, and dental rehabilitation. *J Oral Maxillofac Surg*. 2012; 70: 1692–1698. doi: 10.1016/j.joms.2011.08.024.
 22. Desai SC, Sclaroff A, Nussenbaum B. Use of recombinant human bone morphogenetic protein 2 for mandible reconstruction. *JAMA Facial Plast Surg*. 2013; 15: 204–209. doi: 10.1001/jamafacial.2013.650.
 23. Tatara AM, Kretlow JD, Spicer PP, Lu S, Lam J, Liu W et al. Autologously Generated Tissue-Engineered Bone Flaps for Reconstruction of Large Mandibular Defects in an Ovine Model. *Tissue Engineering, Part A*. 2012; 21 (9–10): 1520–1528. doi: 10.1089/ten.tea.2014.0426.
 24. Кропотов МА, Соболевский ВА, Диков ЮЮ, Яковлева ЛП, Лысов АА. Реконструкция височно-нижнечелюстного сустава при сегментарной резекции нижней челюсти с экзартикуляцией по поводу первичных и вторичных опухолей нижней челюсти. *Альманах клинической медицины*. 2017; 45 (6): 486–494. Кропотов МА, Соболевский ВА, Диков ЮЮ, Яковлева ЛП, Лысов АА. Реконструкция височно-нижнечелюстного сустава при сегментарной резекции нижней челюсти с экзартикуляцией по поводу первичных и вторичных опухолей нижней челюсти. *Альманах клинической медицины*. 2017; 45 (6): 486–494. [In Russ, English abstract].
 25. Диков ЮЮ, Яковлева ЛП, Лысов АА. Temporomandibular joint's reconstruction after segmental mandibulectomy in patients with primary and secondary tumors of the mandible. *Journal Almanac of Clinical Medicine*. 2017; 45 (6): 486–494. [In Russ, English abstract]. doi: 10.18786/2072-0505-2017-45-6-486-494.
 26. Сысолятин ПГ, Сысолятин СП, Байдик ОД, Ильенков ОВ. История развития хирургии височно-нижнечелюстного сустава. *Бюллетень сибирской медицины*. 2016; 15 (2): 98–111. Sysolyatin PG, Sysolyatin SP, Baydik OD, Ilyenok OV. Istoriya razvitiya khirurgii visochno-nizhnechelyustnogo sustava. *Byulleten sibirskoy meditsiny*. 2016; 15 (2): 98–111. [In Russ, English abstract].
 27. Freeman BS. The use of vitallium plates to maintain function following resection at the mandible. *Plastic Reconstr Surg*. 1948; 10 (1): 985. doi: 10.1016/0030-4220(48)90126-1.
 28. Трофимов ВВ, Федчишин ОВ, Клименов ВА. Титан, сплавы титана и их применение в стоматологии. *Сибирский медицинский журнал*. 2009; 90 (7): 10–12. Trofimov VV, Fedchishin OV, Klimenov VA. Titan, splavy titana i ikh primeneniye v stomatologii. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*. 2009; 90 (7): 10–12. [In Russ, English abstract].
 29. Епифанов СА, Поляков АП, Скуредин ВД. Протезирование височно-нижнечелюстного сустава. *Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова*. 2014; 9 (4): 17–22. Epifanov SA, Polyakov AP, Skuredin VD. Protezirovaniye visochno-nizhnechelyustnogo sustava. *Vestnik Natsionalnogo mediko-khirurgicheskogo tsentra im. N.I. Pirogova*. 2014; 9 (4): 17–22. [In Russ, English abstract].
 30. Алиев АМ. Обоснование применения дентальной имплантации в комплексе лечения пациентов с дефектами зубных рядов (обзор литературы). *Молодой ученый*. 2016; 26 (130): 193–196. Aliyev A.M. Obosnovaniye primeneniya dentalnoy implantatsii v komplekse lecheniya patsiyentov s defektami zubnykh ryadov (obzor literatury). *Molodoy uchenyy*. 2016; 26 (130): 193–196. [In Russ, English abstract].
 31. Hayden RE, Mullin DP, Patel AK. Reconstruction of the segmental mandibular defect: current state of the art. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 2012; 20: 231–236. doi: 10.1097/moo.0b013e328355d0f3.

Статья поступила в редакцию 15.05.2020 г.
The article was submitted to the journal on 15.05.2020

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ К СОЗДАНИЮ ТКАНЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО МАТРИКСА ДЛЯ БИОИСКУССТВЕННОЙ ПЕЧЕНИ

А.М. Григорьев¹, Ю.Б. Басок¹, А.Д. Кириллова¹, Л.А. Кирсанова¹, Н.П. Шмерко¹,
А.М. Суббот², Е.А. Немец¹, И.А. Милосердов^{1, 3}, М.Ю. Шагидулин^{1, 3}, В.И. Севастьянов¹

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

² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт глазных болезней», Москва, Российская Федерация

³ ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация

Дефицит донорских органов для трансплантации печени при лечении терминальных стадий печеночной недостаточности диктует необходимость разработки альтернативных методов, к которым относятся технологии тканевой инженерии и регенеративной медицины. **Целью работы** было исследование способности тканеспецифического матрикса из децеллюляризованных фрагментов печени человека (ДФПч) поддерживать адгезию и пролиферацию мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека (МСК ЖТч) и НерG2 в статических условиях и в проточном биореакторе. **Материалы и методы.** Для децеллюляризации фрагментов (не более 8 мм³) печени человека использовали обработку поверхностно-активными веществами (ПАВ) – додецилсульфатом натрия, Тритоном X-100 с последующей экспозицией в ДНКазе. Биохимические исследования включали определение количества ДНК в исследуемых образцах. Эффективность отмывки от ПАВ оценивали по цитотоксичности матрикса на культуре фибробластов NIH 3T3. Оценку жизнеспособности и метаболической активности клеток проводили методом прижизненного окрашивания комплексом флуоресцентных красителей LIVE/DEAD® и PrestoBlue™ (Invitrogen, США). Морфологическое исследование клеточно-инженерных конструкций печени проводили с использованием методов гистологического окрашивания и сканирующей электронной микроскопии с лантаноидным контрастированием. **Результаты.** Показано, что использованная методика децеллюляризации печени позволяет получать биосовместимый матрикс с остаточным количеством ДНК менее 1%, способный поддерживать адгезию и пролиферацию МСК ЖТч и НерG2. В биореакторе на 7-е сутки культивирования наблюдали образование единого конгломерата матрикса ДФПч с многочисленными группами жизнеспособных клеток с высоким ядерно-цитоплазматическим отношением. Содержание мочевины в культуральной среде превышает значение для образцов, полученных в статических условиях, и составляет $1,5 \pm 0,1$ ммоль/л, что свидетельствует о метаболической активности НерG2 в составе полученных культуральных систем. Показано, что постоянный поток культуральной среды перфузионного биореактора способствовал росту пролиферативной активности НерG2 и позволил обеспечить более равномерную колонизацию клетками матрикса по сравнению со статическими условиями культивирования. **Заключение.** Найдены условия равномерного заселения ДФПч в проточном биореакторе клеточными культурами. Способность матрикса поддерживать адгезию и пролиферацию МСК ЖТч и НерG2 в течение 11 суток свидетельствует о возможности его использования в тканевой инженерии печени.

Ключевые слова: печень, децеллюляризация, мезенхимальные стромальные клетки, НерG2, клеточно-инженерная конструкция, тканевая инженерия, биореактор.

Для корреспонденции: Григорьев Алексей Михайлович. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1.
Тел. (499) 193-86-62. E-mail: Bear-38@yandex.ru

Corresponding author: Alexey Grigoriev. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation.
Phone: (499) 193-86-62. E-mail: Bear-38@yandex.ru

EXPERIMENTAL APPROACHES TO CREATING A TISSUE-SPECIFIC MATRIX FOR A BIOARTIFICIAL LIVER

A.M. Grigoriev¹, Yu.B. Basok¹, A.D. Kirillova¹, L.A. Kirsanova¹, N.P. Shmerko¹,
A.M. Subbot², E.A. Nemets¹, I.A. Miloserdov^{1, 3}, M.Yu. Shagidulin^{1, 3}, V.I. Sevastyanov¹

¹ Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation

² Research Institute of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation

³ Sechenov University, Moscow, Russian Federation

Shortage of donor organs for liver transplantation in the treatment of end-stage liver disease dictates the need to develop alternative methods that include technologies on tissue engineering and regenerative medicine. **Objective:** to study the ability of a tissue-specific matrix from decellularized human liver fragments (DHLF) to maintain adhesion and proliferation of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells (hAT-MSCs) and HepG2 under static conditions and in a flow-through bioreactor. **Materials and methods.** Treatment with surfactants (SAS) – sodium dodecyl sulfate, Triton X-100 – followed by exposure to DNase was used for decellularization of human liver fragments (no more than 8 mm³). Biochemical screening included the determination of DNA quantity in the test samples. Efficiency of surfactant washing was assessed by the cytotoxicity of the matrix in the NIH 3T3 fibroblast culture. Viability and metabolic activity of cells were assessed via vital staining with a complex of fluorescent dyes LIVE/DEAD® and PrestoBlue™ (Invitrogen, USA). Morphological examination of the liver cell-engineered constructs was carried out through histological staining and scanning electron microscopy with lanthanide contrast. **Results.** It was shown that the liver decellularization method used allows to obtain a biocompatible matrix with a residual DNA quantity <1%, which is capable of maintaining adhesion and proliferation of hAT-MSCs and HepG2. On day 7 of cultivation in the bioreactor, there was formation of a single conglomerate of the DHLF matrix with numerous groups of viable cells with a high nuclear-cytoplasmic ratio. The urea content in the culture medium is 1.5 ± 0.1 mmol/L, exceeding that of samples obtained under static conditions. This indicates the metabolic activity of HepG2 in the composition of the obtained culture systems. It was shown that constant flow of the culture medium in the perfusion bioreactor increased the proliferative activity of HepG2 and allowed to provide a more uniform colonization by matrix cells in comparison with static cultivation conditions. **Conclusion.** The conditions for uniform colonization of DHLFs in a flow-through bioreactor with cell cultures were established. The ability of the matrix to maintain adhesion and proliferation of hADSCs and HepG2 for 11 days indicates that it could be used in liver tissue engineering.

Keywords: liver, decellularization, mesenchymal stem cells, HepG2, cell-engineered construct, tissue engineering, bioreactor.

ВВЕДЕНИЕ

Дефицит донорских органов для трансплантации печени при лечении терминальных стадий печеночной недостаточности диктует необходимость разработки альтернативных методов, к которым относятся технологии тканевой инженерии и регенеративной медицины [1, 2].

Децеллюляризация тканей представляет собой перспективный метод создания матриксов для регенеративной медицины благодаря удалению иммунных факторов (ДНК, галактоза-α-1,3-галактоза) и сохранению в значительной степени специфичной для органов и тканей морфологии и естественного внеклеточного матрикса (ВКМ), включающего необходимые сайты для адгезии, миграции и пролиферации клеток [3, 4].

Значительные успехи в настоящее время достигнуты при децеллюляризации целой печени путем перфузии растворами поверхностно-активных веществ (ПАВ) [5, 6]. Привлекательность подобного

способа децеллюляризации заключается в потенциальной возможности получения целых органов при заселении клетками с использованием перфузии и трансплантации полученных тканеинженерных конструкций *in vivo* путем создания анастомозов с сохраненными сосудистыми структурами [7, 8]. Однако децеллюляризация целой печени имеет ряд недостатков: низкая эффективность удаления клеток и их фрагментов и рециеллюляризации из-за нарушений микроциркуляции и сложность транспорта достаточных количеств кислорода и питательных веществ к клеткам в толще органа. В связи с этим наиболее рациональным подходом выглядит децеллюляризация не целого органа, а его фрагментов. Ранее нами был разработан способ децеллюляризации фрагментов печени человека, позволивший получить матрикс с полным отсутствием клеточного детрита и сохранной структурой ткани [9]. Отметим, что взаимодействие клеток с полученным тканеспецифическим матриксом изучено не было.

Присущие мезенхимальным стромальным клеткам (МСК) иммуномодулирующие свойства, способность к стимуляции регенерации и возможность дифференцироваться в гепатоцитоподобные клетки указывают на возможность их применения для создания клеточно-инженерных конструкций (КИК) печени для лечения различных заболеваний печени [10]. Из-за сложности экспансии и низкой жизнеспособности первичных гепатоцитов при культивировании *in vitro* для исследования взаимодействия специализированных клеток с фрагментами децеллюляризованной печени целесообразно использовать клеточные линии, способные выполнять характерные для печеночных клеток функции [11]. Заметим, что хотя метаболические функции клеток гепатоцеллюлярной карциномы HepG2 ограничены по сравнению с первичными гепатоцитами, их использование в качестве модели гепатоцитов *in vitro* обусловлено доступностью HepG2, простотой в обращении, почти неограниченной продолжительностью жизни и стабильностью фенотипа [12].

Известно, что для создания наиболее близких к естественным условиям при культивировании *in vitro* используют биореакторы, позволяющие улучшить питание клеток, транспорт к ним газов и выведение продуктов обмена веществ за счет постоянной циркуляции культуральной среды [13]. Тем не менее культивирование клеток в потоке не лишено недостатков, связанных с механическими повреждениями клеток, большого расхода культуральных сред и сложностью поддержания асептических условий при длительных экспериментах.

Целью работы было исследование способности тканеспецифического матрикса из децеллюляризованных фрагментов печени человека (ДФПч) поддерживать адгезию и пролиферацию МСК ЖТч и HepG2 в статических условиях и проточном биореакторе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использовали отмытую по традиционной методике от элементов крови раствором Custodiol (Dr. F. Koehler Chemie GmbH, Германия) донорскую человеческую печень, не пригодную для трансплантации по причине выраженного жирового гепатоза (более 40%). Отмытую печень или ее часть помещали в стерильный физиологический раствор, в случае если стеатоз был выявлен до отмытки сосудистого русла, или в консервант Custodiol, в случае если наличие выраженной жировой инфильтрации определяли после удаления из печени элементов крови.

Фрагменты печени (размер не более $2 \times 2 \times 2$ мм) получали с использованием скальпеля и ножниц. Децеллюляризацию фрагментов печени человека проводили в трех сменах фосфатно-солевого буферного раствора (PBS) (138 мМ NaCl, 2,67 мМ KCl, 1,47 мМ

KH_2PO_4 , 8,1 мМ Na_2HPO_4 , pH = 7,4), содержащего 0,1% додецилсульфата натрия (SDS) и повышающую концентрацию Triton X-100: 1%, 2% и 3% [9]. Общее время децеллюляризации составляло 72 ч – по 24 ч для каждой смены раствора ПАВ при перемешивании на магнитной мешалке.

Затем фрагменты печени человека обрабатывали в растворе ДНКазы I типа (New England Biolabs Inc., США). Образцы матрикса объемом 0,5 мл помещали в 1,0 мл 10 мМ Трис-HCl буферного раствора (pH 7,6), содержащего 2,5 мМ MgCl_2 , 0,5 мМоль CaCl_2 и 50 Е/мл ДНКазы I и инкубировали в течение 48 ч при температуре 37 °С.

Отмывка ДФПч от ПАВ включала экспозицию матрикса в PBS, содержащем антибиотик (ампициллин, 20 мкг/мл) и антимикотик (амфотерицин В, 2,0 мкг/мл) в течение 96 ч с последующей стерилизацией образцов γ -облучением (1,5 Мрад).

Остаточное содержание ДНК являлось индикатором сохранившихся в образцах ДФПч клеточных компонентов, несущих основную долю антигенов, обуславливающих реакцию отторжения ксеногенного матрикса. Для выделения ДНК из исходной и децеллюляризованной ткани использовали набор DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN, Германия) в соответствии с протоколом производителя. Образцы исходной печени человека (n = 3) и ДФПч (n = 3) массой 10 мг лизировали с использованием лизирующего буфера и протеиназы К в течение 16 часов при +56 °С. Для количественного определения ДНК в образцах был выбран флюоресцентный краситель TM Picogreen Quant-iT (Invitrogen, США).

Источником МСК ЖТч была подкожная жировая клетчатка здорового донора, взятого у него при информированном добровольном согласии. Образец подкожной жировой ткани измельчали скальпелем, подвергали двукратной промывке холодным (+4...+6 °С) раствором Хенкса, а затем инкубировали в 0,1% растворе коллагеназы I типа (Gibco, США) при 37 °С в течение 20 мин. После чего полученную суспензию последовательно пропускали через клеточные сита диаметром пор 100 и 70 мкм.

Все клетки осаждали центрифугированием, ресуспендировали в полной ростовой среде (ПРС) состава DMEM/F12 (1:1) с добавлением 10% фетальной сыворотки крупного рогатого скота, 100 ед/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина сульфата и 2 мМ L-глутамин (Gibco, США) и культивировали до формирования монослоя, меняя среду 2 раза в неделю. Перевод клеток в суспензию осуществляли путем обработки раствором Версена при 37 °С в течение 1 мин с последующим добавлением диссоциирующего агента TrypLe TM (Invitrogen, США). Для экспериментов брали клетки 3-го пассажа.

Культура клеток гепатоцеллюлярной карциномы человека HepG2 была получена из лаборатор-

ной коллекции клеточных культур отдела биомедицинских технологий и тканевой инженерии ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова».

Цитотоксичность образцов матрикса исследовали в соответствии с ГОСТ ISO 10993-5-2011 [14] методом прямого контакта образцов с культурой фибробластов мыши линии NIH 3T3, полученных из коллекции перевиваемых соматических клеток позвоночных ГУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН» (ГУ НИИВ РАМН).

Фибробласты мыши высевали в культуральные плоскодонные 6-луночные планшеты и инкубировали в течение суток при температуре 37 °C в стандартных условиях во влажной атмосфере, содержащей $(5 \pm 1)\%$ CO₂. На поверхность образовавшегося $(80 \pm 10)\%$ монослоя клеток помещали исследуемые образцы. Через сутки инкубации визуально оценивали морфологию и лизис клеток по стандартной методике с использованием биологического микроскопа Nikon Eclipse TS100 (Nikon, Япония). Отрицательным контролем была ПРС, содержащая эмбриональную телячью сыворотку, положительным контролем – стандартный раствор цинка в азотной кислоте (9,95 мг Zn в 1–2 вес.% HNO₃, разведение 1:200 раствором 0,9% NaCl для инъекций).

HerpG2 и МСК ЖТч культивировали по стандартной методике до состояния конфлюентности монослоя 70–80%, после чего смывали с пластика с использованием раствора Версена и реактива TrypLe™ (Invitrogen, США) и готовили рабочую суспензию клеток в ПРС с концентрацией 1×10^5 кл/мл. Подсчет клеток и оценку их жизнеспособности проводили на счетчике клеток TS20 (BioRad, США) согласно методике производителя.

Пеллеты матрикса (30 мг) размораживали и помещали в ПРС на сутки при комнатной температуре. Перед нанесением клеток ДФПч дополнительно дважды промывали свежей ПРС. Для заселения матрикса в каждую пробирку с ДФПч добавляли аликвоту клеточной суспензии. Пробирки помещали в штатив и встряхивали на лабораторном шейкере MultiBio 3D (Biosan, Латвия) в режиме реципрокного вращения платформы при 80 об/мин в течение 2 часов для равномерного распределения клеток по поверхности матрикса. Далее пробирки помещали в инкубатор и культивировали в стандартных условиях.

Оценку жизнеспособности и адгезии клеток проводили методом прижизненного окрашивания комплексом флуоресцентных красителей LIVE/DEAD® (Invitrogen, США). Данный комплекс включает в себя два компонента: calcein AM дает зеленую флуоресценцию живых клеток, регистрируемую при длине волны 515 нм, ethidium homodimer-1, проникая через поврежденную мембрану клеток и связываясь с ДНК, дает красную флуоресценцию при 635 нм. Микро-

скопию проводили на флуоресцентном микроскопе Nikon Ti (Nikon, Япония).

Определение метаболической активности клеток проводили с помощью теста с реактивом PrestoBlue™ (Invitrogen, США) согласно инструкции производителя. Спектрофотометрический анализ выполняли на планшетном ридере Tecan Spark10 (Tecan, Австрия). При исследовании метаболической активности на каждую пеллету ДФПч наносили 5×10^4 клеток HerpG2 или 2×10^4 МСК ЖТч. Данные измерения поглощения использовали для расчета коэффициента метаболической активности (K) по формуле:

$$K = \frac{117,216 \times Abs_{570} - 80,586 \times Abs_{600}}{155,677 \times Abs_{600} - 14,652 \times Abs_{570}} \times 100\%,$$

где Abs₅₇₀ – поглощение при длине волны 570 нм; Abs₆₀₀ – поглощение при длине волны 600 нм.

При создании КИК на 1 пеллету ДФПч наносили 1×10^5 клеток HerpG2 или 1×10^5 МСК ЖТч. Для проведения экспериментов по культивированию HerpG2 на ДФПч в условиях потока использовали модифицированный вариант перфузионного биореактора [13]. Скорость потока составляла 0,02 мл/мин. На 7-е сутки культуральную камеру с КИК извлекали из биореактора.

Были исследованы следующие типы образцов: фрагмент нативной печени человека, фрагмент децеллюляризованной печени человека, КИК – МСК ЖТч, культивированные на децеллюляризованном фрагменте печени.

Морфологию поверхности и ближайшего подповерхностного слоя образцов изучали совместно с сотрудниками лаборатории фундаментальных исследований в офтальмологии ФГБНУ «НИИ глазных болезней» методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) с использованием лантаноидного контрастирования.

Пробоподготовка водосодержащих образцов для СЭМ с напылением токопроводящего слоя требует их обезвоживания, что приводит не только к структурным изменениям таких объектов, но и плохой визуализации клеточных элементов. Метод лантаноидного контрастирования позволяет наблюдать нефиксированные биологические образцы в режиме низкого вакуума после выдержки их в насыщенном растворе редкоземельного металла. При этом сохраняется максимально нативное состояние исследуемого объекта, а изображение, полученное в режиме детекции обратного рассеянных электронов, несет расширенную информацию о клеточных структурах [15].

Протокол обработки включал первичную промывку, выдержку 45 мин в контрастирующем растворе BioREE (ООО «Глаукон», Россия) и финальную промывку дистиллированной водой. После контрастирования с поверхности образца удаляли избыток влаги воздушной кистью и размещали его на предметном

столике микроскопа EVO LS10 (Zeiss, Германия). Наблюдения проводились в режиме низкого вакуума (EP, 70 Па), при ускоряющем напряжении 20 кВ.

Для морфогистологических исследований исходные и децеллюляризованные образцы готовили по стандартной методике, окрашивали гематоксилином и эозином и по методу Массона. Анализ и фотосъемку полученных препаратов проводили, используя микроскоп Nikon eclipse (Nikon, Япония), оснащенный цифровой фотокамерой.

Концентрацию глюкозы и мочевины определяли на биохимическом анализаторе KonelabPrime 60i (Thermo Fisher Scientific, Финляндия).

Статистическую обработку данных проводили с использованием стандартного пакета программ Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее нами было показано, что децеллюляризация фрагментов печени человека с использованием ПАВ позволяет удалить клеточный детрит и сохранить структуру ткани [9]. Однако при определении количества ДНК в ДФПч было обнаружено, что процесс химической децеллюляризации привел к удалению лишь $69,5 \pm 3,6\%$ ДНК (рис. 1). Заметим, что при децеллюляризации печени рекомендуется сохранять не более 10% от количества ДНК в исходной ткани [16]. В связи с этим в протокол децеллюляризации после обработки ПАВ был введен дополнительный этап, включающий экспозицию ДФПч в растворе ДНКазы I. Как видно из рис. 6, обработка ДНКазой позволила снизить остаточное количество ДНК в децеллюляризованном образце до $3,6 \pm 0,6$ нг/мг ткани (менее 1%), что свидетельствует о хорошей децеллюляризации, и соответственно, низкой иммуногенности полученного матрикса [17].

Исследование цитотоксичности методом прямого контакта на фибробластах мыши линии NIH/3T3 не обнаружило проявлений цитотоксического эффекта печеночного матрикса на протяжении времени исследования 24 ч. Динамика роста клеток практически не отличалась в опытном и контрольном вариантах. Не наблюдали зон лизиса клеток под образцом либо в зоне контакта образца с клетками. Тест на жизнеспособность с трипановым синим, проведенный через 24 часа контакта клеток с образцами, также не выявил наличия цитотоксического эффекта. На основании полученных данных был сделан вывод об эффективности протокола отмытки матрикса от ПАВ и отсутствии цитотоксичности ДФПч.

Отсутствие цитотоксичности матрикса позволило перейти к исследованию жизнеспособности и пролиферативной активности МСК ЖТч на поверхности ДФПч. Методом прижизненной флуоресцентной микроскопии было показано, что хотя некоторая часть клеток находится в суспензионном состоянии

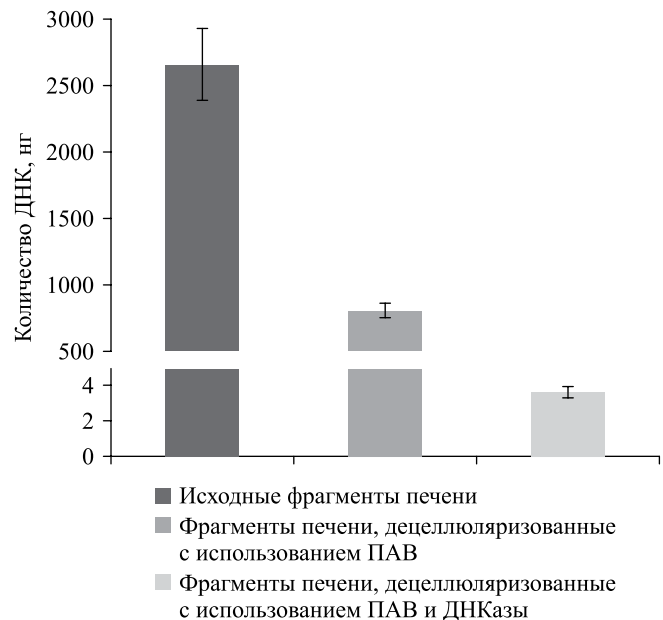


Рис. 1. Количество ДНК в исходных и децеллюляризованных фрагментах печени человека

Fig. 1. The amount of DNA in the original and decellularized fragments of the human liver

в культуральной среде, большая часть клеток успешно прикрепляется к поверхности матрикса и пролиферирует уже на 3-и сутки эксперимента (рис. 2, а). В начале эксперимента клетки распределяются по поверхности матрикса неравномерно – в первую очередь происходит активная колонизация краевых зон ДФПч. Затем клетки мигрируют в объем матрикса, формируя клеточную сеть, а потом и сплошные участки плотных клеточных слоев (рис. 2, б).

На рис. 3 представлены результаты СЭМ исследования нативной и децеллюляризованной печени человека, а также КИК, включающей МСК ЖТч, культивированные на децеллюляризованных фрагментах печени человека в течение 7 суток.

Как иллюстрируют микрофотографии (рис. 3, а, б), нативная ткань значительно отличалась по структуре поверхности от децеллюляризованной. Исходная ткань имела сплошную рельефную поверхность. После удаления клеток матрикс приобрел пористую структуру. Границы пор представляли собой переплетение многочисленных микро- и нановолокон. Размер пор был гетерогенен: присутствовали как мелкие поры размером около 1–2 мкм, так и крупные поры размером до 20 мкм. Светлые образования, определяющиеся на поверхности децеллюляризованной ткани и КИК, скорее всего, представляют собой связанные с матриксом фосфоросодержащие компоненты культуральной среды, адсорбированные на его поверхности. МСК ЖТч, прикрепившиеся к поверхности носителя, имели распластannую форму, что свидетельствует о биосовместимости ДФПч

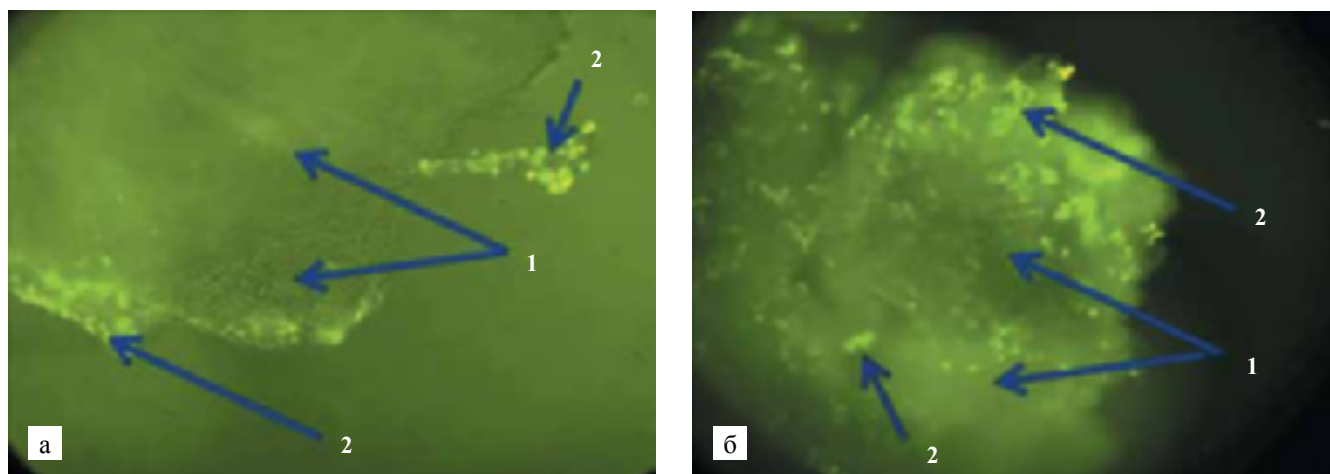


Рис. 2. Жизнеспособность МСК ЖТч на поверхности ДФПч: а – 3-и сутки культивирования; б – 7-е сутки культивирования; 1 – поверхность ДФПч; 2 – МСК ЖТч. Окрашивание флюоресцентными красителями Live/Dead. $\times 40$

Fig. 2. Viability of MSC HAT on the surface of the: а – 3 days of cultivation; б – 7 days of cultivation; 1 – the surface of the DPHL; 2 – the MSC HAT. Coloring with Live/Dead fluorescent dyes. $\times 40$

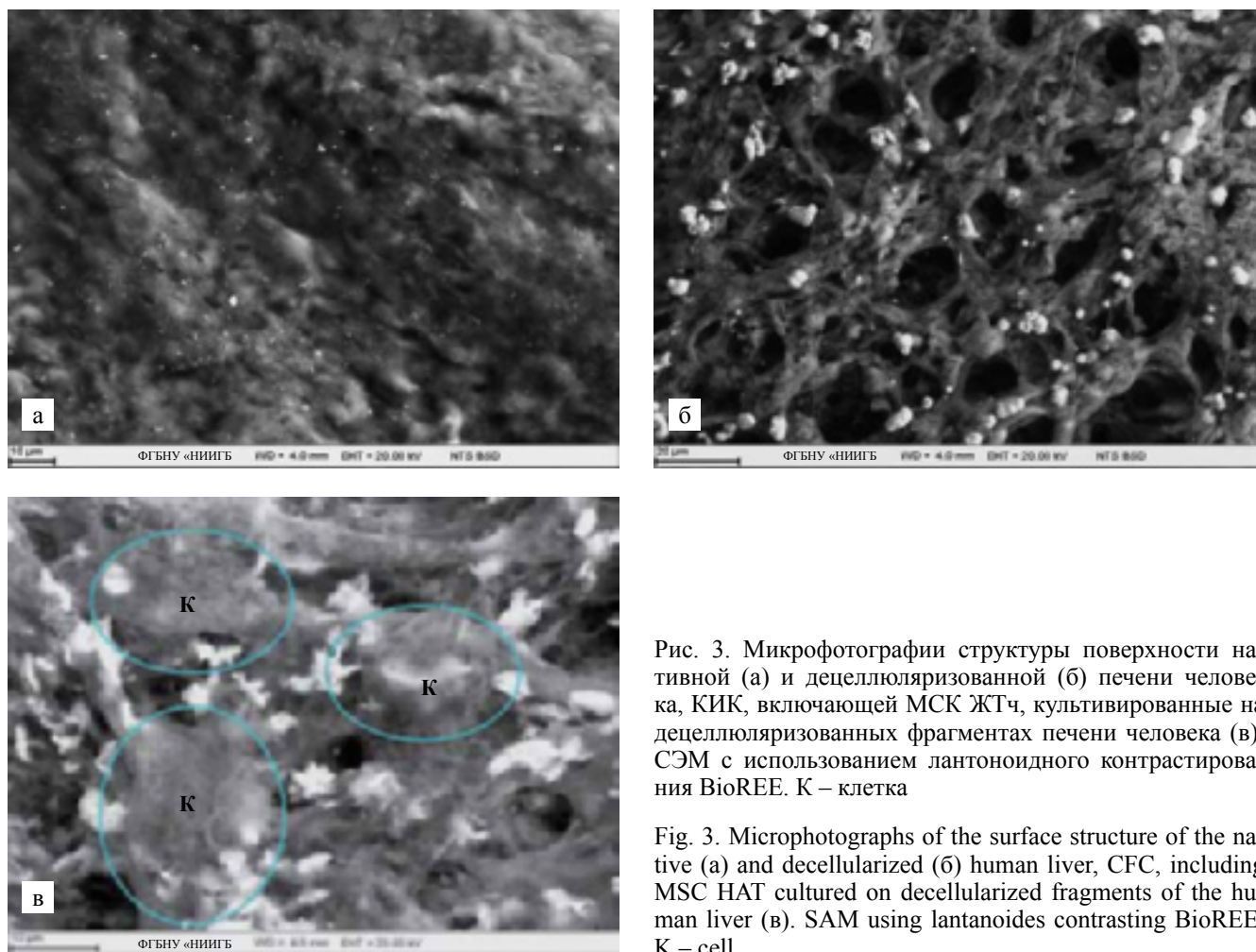


Рис. 3. Микрофотографии структуры поверхности нативной (а) и децеллюляризованной (б) печени человека, КИК, включающей МСК ЖТч, культивированные на децеллюляризованных фрагментах печени человека (в). СЭМ с использованием лантоноидного контрастирования BioREE. К – клетка

Fig. 3. Microphotographs of the surface structure of the native (а) and decellularized (б) human liver, CFC, including MSC HAT cultured on decellularized fragments of the human liver (в). SAM using lantanoide contrast BioREE. К – cell

матрикса относительно взаимодействия с клетками (рис. 3, в).

Полученные данные СЭМ были подтверждены гистологическим анализом. Как видно из рис. 4, морфология клеток распластанная фибробластоподоб-

ная, что характерно для МСК ЖТч в фазе активной пролиферации.

При этом рост фибробластоподобных клеток наблюдали на периферии всех частиц матрикса. Отметим, что одиночные клетки проникали вглубь

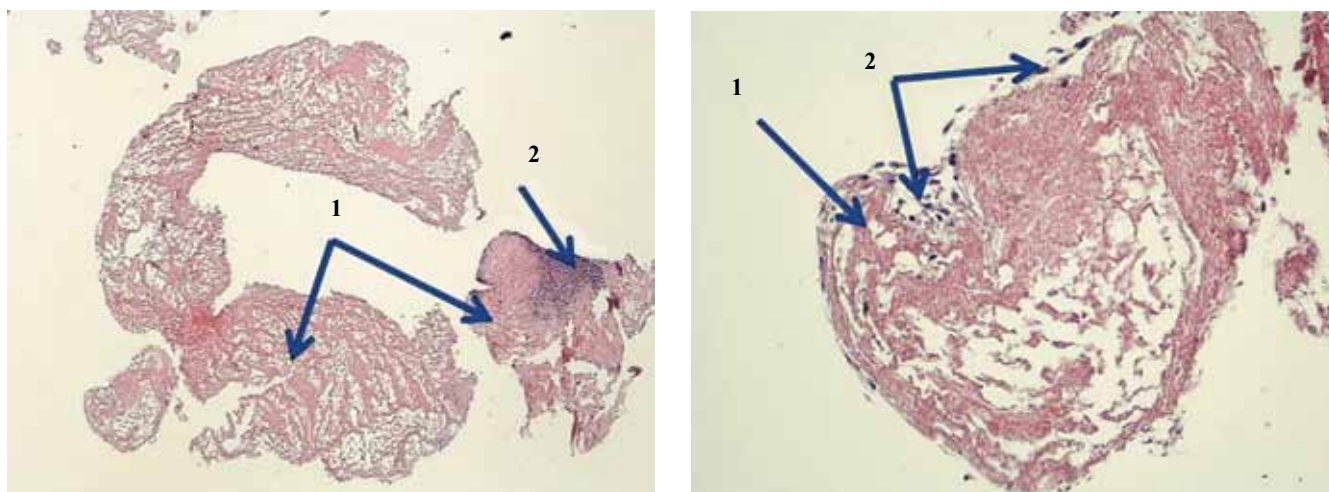


Рис. 4. Рост МСК ЖТч на тканеспецифическом матриксе из децеллюляризованной печени человека. 1 – матрикс; 2 – МСК. Окрашивание гематоксилином и эозином; а – $\times 40$, б – $\times 200$

Fig. 4. Growth of MSC HAT on the tissue-specific matrix of the decellularized human liver. 1 – the matrix; 2 – MSC HAT. Staining with hematoxylin and eosin; а – $\times 40$, б – $\times 200$

носителя, а на одном из фрагментов наблюдали выраженную пролиферацию.

Полученные положительные результаты по культивированию МСК на поверхности ДФПч позволили перейти к культуральной системе ДФПч – НерG2.

Анализ метаболической активности клеток показал, что ее рост происходит начиная с 3-х суток эксперимента и достигает максимума к 7-м суткам (рис. 5). Данные показателя метаболической активности подтверждает прижизненная флуоресцентная микроскопия (рис. 6, а, б).

При изучении заселения ДФПч клетками гепатоцеллюлярной карциномы НерG2 было обнаружено, что клетки выборочно прикрепляются к поверхности

матрикса. На микрофотографиях (рис. 6, а, б) видно, что в основном клетки адгезируются к краевым участкам матрикса с последующей их активной пролиферацией. Центральные участки поверхности фрагментов матрикса заселяются клетками крайне слабо. По данным микроскопии и оценки метаболической активности клеток, ее максимум приходится на 7-е сутки. Эта тенденция сохраняется на всем протяжении эксперимента в течение 11 суток. К 11-м суткам пролиферативная активность падает, что связано со старением культуры. На рис. 6, в, видно, что к этому сроку краевые участки матрикса местами полностью покрыты сформированными клеточными скоплениями и пластами, в то время как

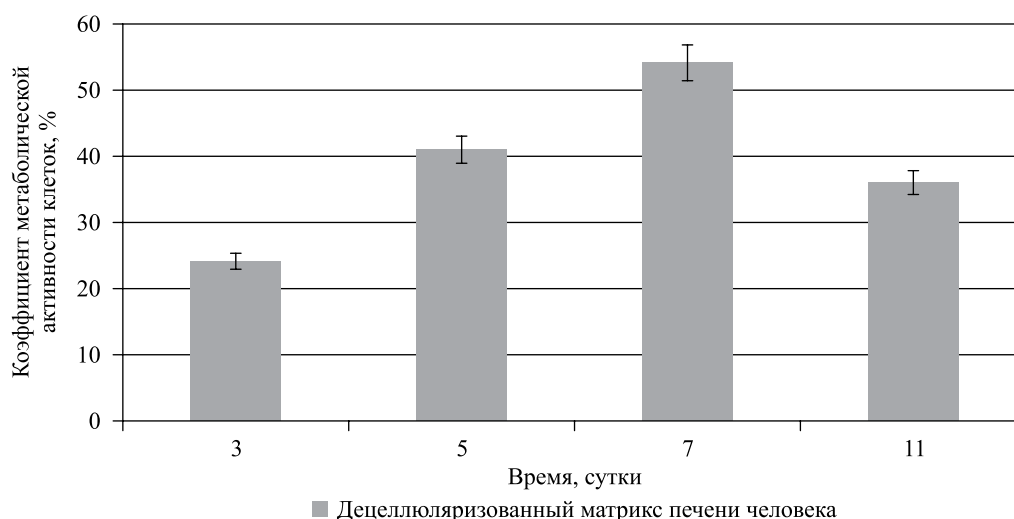


Рис. 5. Метаболическая активность клеток НерG2 на тканеспецифическом матриксе из децеллюляризованной печени человека

Fig. 5. Metabolic activity of HepG2 cells on a tissue-specific matrix from a decellularized human liver

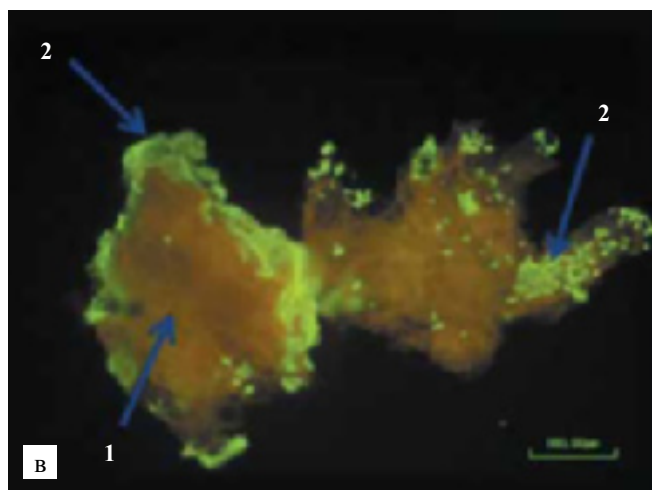
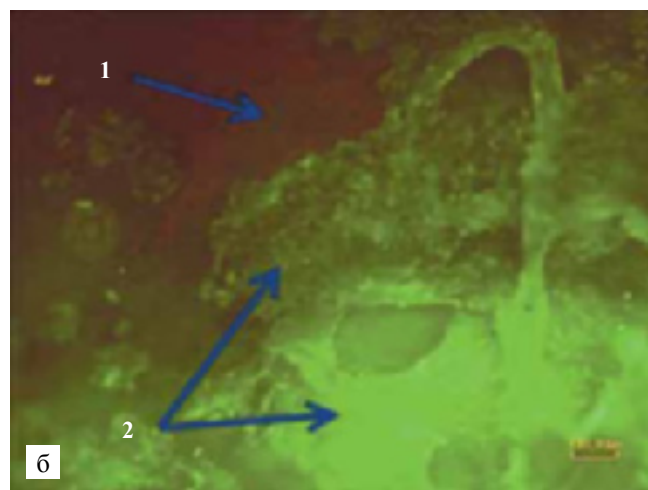
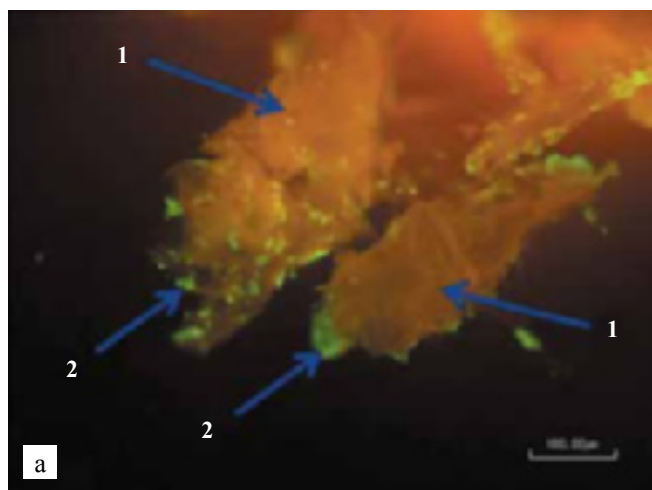


Рис. 6. Адгезия клеток HepG2 на поверхности тканеспецифического матрикса из децеллюляризованной печени человека: а – 3-и сутки культивирования; б – 7-е сутки культивирования; в – 11-е сутки культивирования; 1 – поверхность матрикса; 2 – клетки HepG2. Окрашивание флюоресцентными красителями Live/Dead. $\times 40$

Fig. 6. Adhesion of HepG2 cells on the surface of a tissue-specific matrix from a decellularized human liver: а – 3 days of cultivation; б – 7 days of cultivation; в – 11 days of cultivation; 1 – the surface of the matrix; 2 – HepG2 cells. Coloring with Live/Dead fluorescent dyes. $\times 40$

в центральных зонах заселения клетками носителя так и не произошло.

Таким образом, прижизненная микроскопия образцов демонстрирует активную пролиферацию клеток HepG2 и неравномерную адгезию ДФПч (рис. 6).

При гистологическом анализе, как видно на рис. 7, преимущественный рост эпителиоподобных клеток с высоким ядерно-цитоплазматическим отношением наблюдали на поверхности матрикса к третьим суткам культивирования. При этом клетки объединялись в многочисленные группы, а часть клеток формировала мелкие скопления в объеме матрикса. Отметим наличие коллагена в ДФПч, что говорит о сохранности основного структурного компонента ВКМ. К седьмым суткам наблюдали значительное увеличение клеточной массы, что было связано с активной клеточной пролиферацией. На поверхности носителя обнаруживались многослойные плотные клеточные пласты, а в толще матрикса наблюдалось образование более крупных, чем на предыдущем сроке, клеточных скоплений.

В клетках видна мелкозернистая цитоплазма с немногочисленными мелкими вакуолями, а также наблюдали атипичный митоз, характерный для данной клеточной линии (рис. 8).

Биохимический анализ проб культуральной среды на третьи сутки эксперимента не выявил в образцах мочевины на уровне, превышающем предел обнаружения 1,1 ммоль/л. Однако к 7-м суткам содержание мочевины в культуральной среде составило $1,2 \pm 0,1$ ммоль/л, что доказывает наличие функциональной активности клеток в составе КИК.

Было предположено, что обнаруженной неравномерной колонизации клетками матрикса и незначительного проникновения клеток в его объем при культивировании в статических условиях можно избежать при культивировании КИК ДФПч – HepG2 в проточном биореакторе [13].

Действительно, на 7-е сутки культивирования в биореакторе матрикс ДФПч с HepG2 образовывали единый конгломерат (рис. 9). Большинство многочисленных групп адгезированных эпителиоподобных клеток с высоким ядерно-цитоплазматическим отношением клеток были жизнеспособны, окрашивались в зеленый цвет. Основная масса клеток была сосредоточена на поверхности матрикса, но клетки, формирующие небольшие скопления, определяли и в объеме носителя. Морфология клеток менялась с округлой на более вытянутую, некоторые клетки находились в состоянии деструкции.

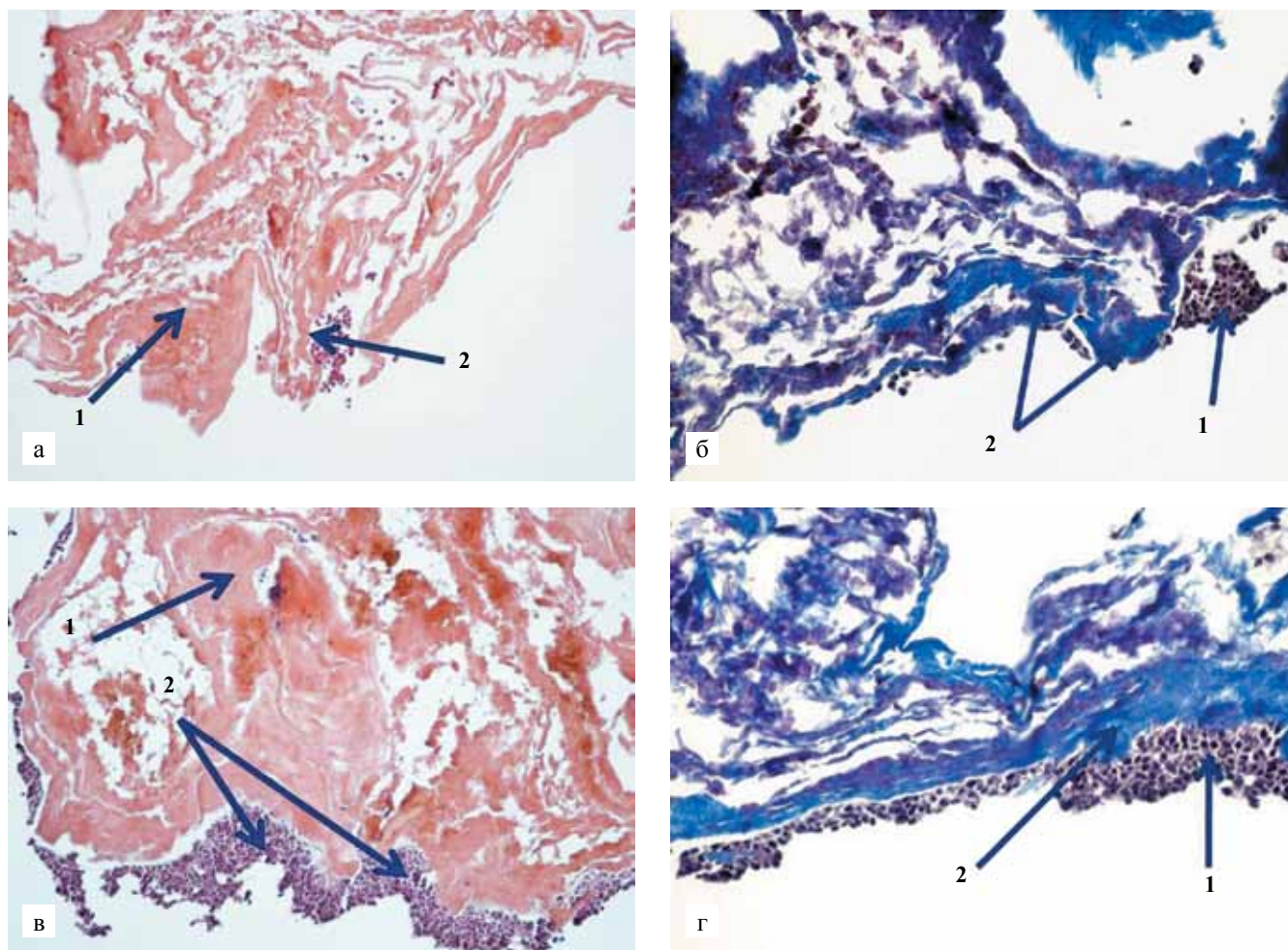


Рис. 7. Рост клеток гепатоцеллюлярной карциномы человека HepG2 на тканеспецифическом матриксе из децеллюляризованной печени человека. $\times 100$. Окрашивание гематоксилином и эозином: а – 3-и сутки культивирования; в – 7-е сутки культивирования; 1 – матрикс; 2 – клетки HepG2. Окрашивание на collagen по Массону. б – 3-и сутки культивирования; г – 7-е сутки культивирования; 1 – клетки HepG2; 2 – collagen. $\times 200$.

Fig. 7. Growth of human hepatocellular carcinoma cells HepG2 on a tissue-specific matrix from a decellularized human liver. $\times 100$. Staining with hematoxylin and eosin: а – 3 days of cultivation; в – 7 days of cultivation; 1 – matrix; 2 – HepG2 cells. Masson staining for collagen. б – 3 days of cultivation; г – 7 days of cultivation; 1 – HepG2 cells; 2 – collagen. $\times 200$

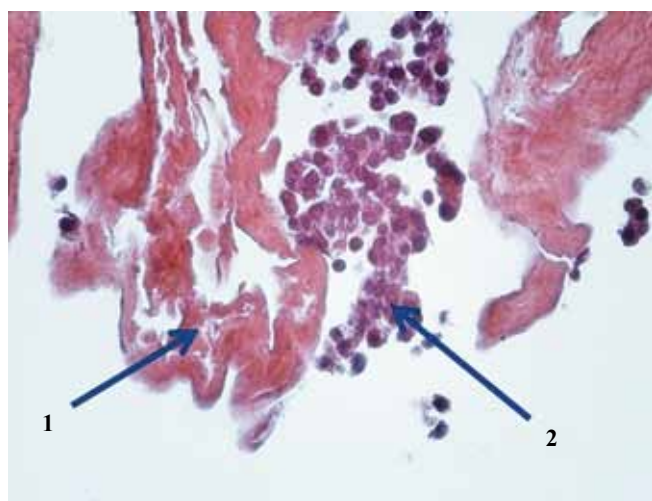


Рис. 8. Морфология клеток гепатоцеллюлярной карциномы человека HepG2 при культивировании на тканеспецифическом матриксе из децеллюляризованной печени человека, 3-и сутки культивирования, 1 – матрикс; 2 – клетки HepG2. $\times 400$. Окрашивание гематоксилином и эозином

Fig. 8. Morphology of human hepatocellular carcinoma cells HepG2 when cultured on a tissue-specific matrix from a decellularized human liver. 3 days of cultivation: 1 – matrix; 2 – HepG2 cells. $\times 400$. Staining with hematoxylin and eosin

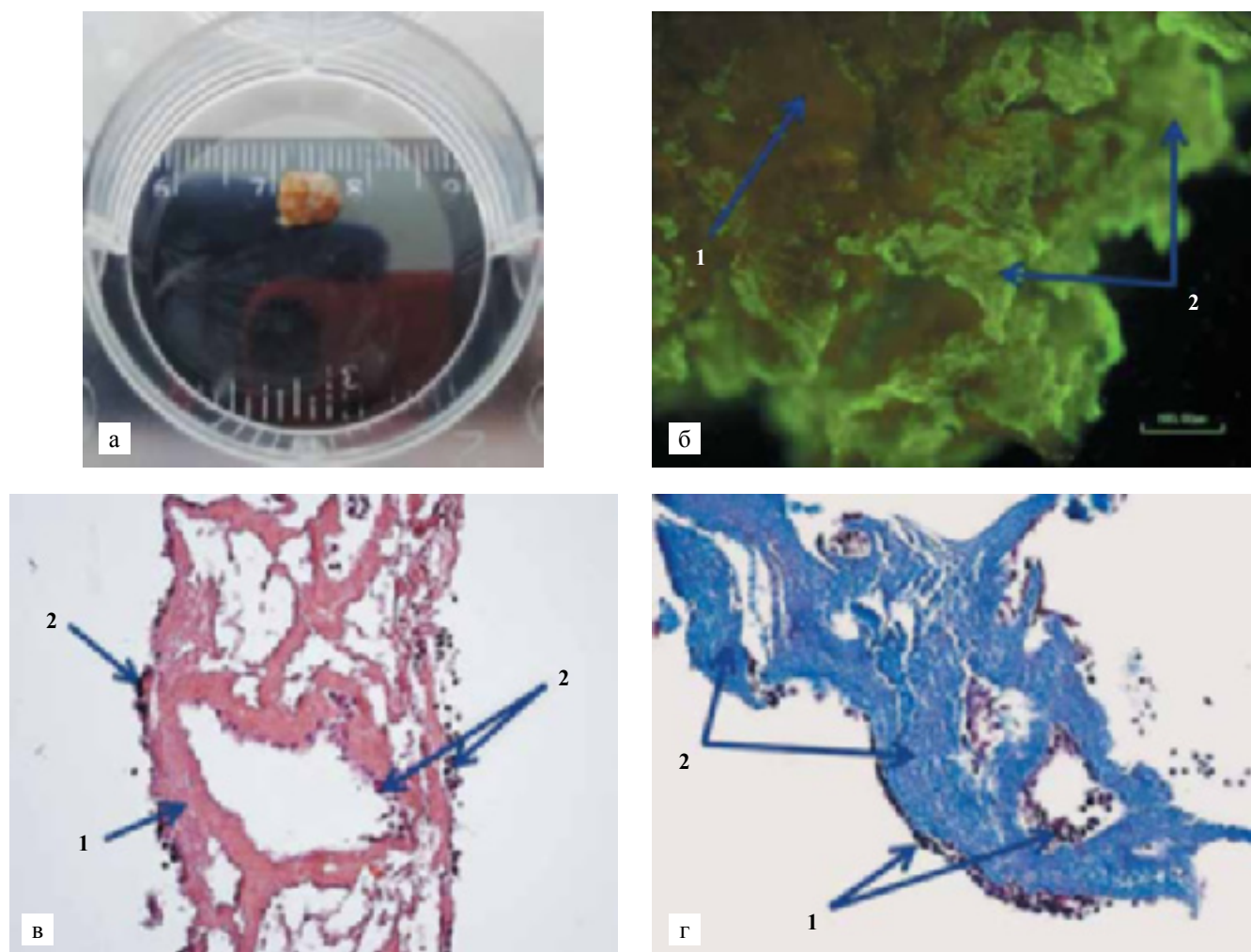


Рис. 9. Рост клеток гепатоцеллюлярной карциномы человека HepG2 на тканеспецифическом матриксе из децеллюляризованной печени человека в проточном биореакторе при скорости потока 0,02 мл/мин: а – обзорная фотография; б – окрашивание витальным красителем Live/Dead; 1 – матрикс; 2 – клетки HepG2. $\times 100$; в – окрашивание гематоксилином и эозином; 1 – матрикс; 2 – клетки HepG2. $\times 200$; г – окрашивание на collagen по Массону; 1 – клетки HepG2; 2 – collagen. $\times 200$

Fig. 9. Growth of human hepatocellular carcinoma cells HepG2 on a tissue-specific matrix from a decellularized human liver in a flow bioreactor at a flow rate of 0.02 ml/min: а – overview photo; б – Live/Dead vital dye staining; 1 – matrix; 2 – HepG2 cells. $\times 100$; в – staining with hematoxylin and eosin; 1 – matrix; 2 – HepG2 cells. $\times 200$; г – Masson staining for collagen; 1 – HepG2 cells; 2 – collagen. $\times 200$

Метаболическая активность клеток при культивировании в биореакторе была также выше, чем в статике. В клетках активно проходили реакции энергетического обмена: содержание глюкозы в культуральной среде к седьмым суткам эксперимента значительно снизилось – с $7,69 \pm 0,38$ до $4,69 \pm 0,23$ ммоль/л. Содержание мочевины в культуральной среде ($1,5 \pm 0,1$ ммоль/л) превысило значение для образцов, полученных в статических условиях ($1,2 \pm 0,1$ ммоль/л).

Таким образом, показано, что культивирование тканеспецифического матрикса ДФПч с печеночными клетками HepG2 в биореакторе позволяет достичь более равномерной рецеллюляризации объема матрикса, повысить метаболическую активность и

обеспечить благоприятные условия для пролиферации клеток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложен протокол децеллюляризации фрагментов донорской печени, позволяющей получить тканеспецифический матрикс, свободный от клеток и детрита, с низким содержанием ДНК и сохранением структуры ВКМ. Отсутствие цитотоксичности ДФПч и их способность поддерживать адгезию и пролиферацию МСК ЖТч и тканеспецифических клеток HepG2 свидетельствует о возможности использования матрикса в тканевой инженерии печени. Показано преимущество рецеллюляризации матрикса

са ДФПч в проточном биореакторе по сравнению с культивированием ДФПч с HepG2.

Работа выполнена частично при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 18-29-06012).

Авторы выражают благодарность И.А. Новикову (лаборатория фундаментальных исследований в офтальмологии, ФГБНУ «НИИ глазных болезней») за помощь в проведении СЭМ.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Croce S, Peloso A, Zoro T, Avanzini MA, Cobiainchi L. A hepatic scaffold from decellularized liver tissue: food for thought. *Biomolecules*. 2019; 9 (12): 813. doi: 10.3390/biom9120813. PMID: 31810291.
2. Yang W, Xia R, Zhang Y, Zhang H, Bai L. Decellularized liver scaffold for liver regeneration. *Methods Mol Biol*. 2018; 1577: 11–23. doi: 10.1007/978-1-4939-2074-7_5. PMID: 28856614.
3. Bilodeau C, Goltsis O, Rogers IM, Post M. Limitations of recellularized biological scaffolds for human transplantation. *J Tissue Eng Regen Med*. 2020; 14 (3): 521–538. doi: 10.1002/term.3004. PMID: 31826325.
4. Porzionato A, Stocco E, Barbon S, Grandi F, Macchi V, De Caro R. Tissue-engineered grafts from human decellularized extracellular matrices: a systematic review and future perspectives. *Int J Mol Sci*. 2018; 19 (12): 4117. doi: 10.3390/ijms19124117. PMID: 30567407.
5. Ahmed E, Saleh T, Yu L, Kwak HH, Kim BM, Park KM et al. Micro and ultrastructural changes monitoring during decellularization for the generation of a biocompatible liver. *J Biosci Bioeng*. 2019; 128 (2): 218–225. doi: 10.1016/j.jbiosc.2019.02.007. PMID: 3090445.
6. Willemse J, Versteegen MMA, Vermeulen A, Schurink IJ, Roest HP, van der Laan LJW et al. Fast, robust and effective decellularization of whole human livers using mild detergents and pressure controlled perfusion. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2020; 108: 110200. doi: 10.1016/j.msec.2019.110200. PMID: 31923991.
7. Butter A, Aliyev K, Hillebrandt KH, Raschzok N, Kluge M, Seiffert N et al. Evolution of graft morphology and function after recellularization of decellularized rat livers. *J Tissue Eng Regen Med*. 2018; 12 (2): e807–e816. doi: 10.1002/term.2383. PMID: 27957815.
8. Naeem EM, Sajad D, Talaei-Khozani T, Khajeh S, Azarpira N, Alaei S et al. Decellularized liver transplant could be recellularized in rat partial hepatectomy model. *J Biomed Mater Res A*. 2019; 107 (11): 2576–2588. doi: 10.1002/jbm.a.36763. PMID: 31361939.
9. Готье СВ, Севастьянов ВИ, Шагидулин МЮ, Немец ЕА, Басок ЮБ. Тканеспецифический матрикс для тканевой инженерии паренхиматозного органа и способ его получения. Патент на изобретение RU 2693432 C2, 02.07.2019. *Gautier SV, Sevastyanov VI, Shagidulin MYu, Nemets EA, Basok YuB*. Tkane-spetsificheskiy matriks dlya tkanevoy inzhenerii parenkhimatoznogo organa i sposob ego polucheniya. Patent na izobretenie RU 2693432 C2, 02.07.2019.
10. Elchaninov A, Fatkhudinov T, Usman N, Arutyunyan I, Makarov A, Lokhonina A et al. Multipotent stromal cells stimulate liver regeneration by influencing the macrophage polarization in rat. *World J Hepatol*. 2018 Feb 27; 10 (2): 287–296.; Zhou Q, Li L, Li J. Stem cells with decellularized liver scaffolds in liver regeneration and their potential clinical applications. *Liver Int*. 2015 Mar; 35 (3): 687–694. doi: 10.1111/liv.12581.
11. Shimoda H, Yagi H, Higashi H, Tajima K, Kuroda K, Abe Y et al. Decellularized liver scaffolds promote liver regeneration after partial hepatectomy. *Sci Rep*. 2019; 9 (1): 12543. doi: 10.1038/s41598-019-48948-x. PMID: 31467359.
12. Donato MT, Tolosa L, Gómez-Lechón MJ. Culture and Functional Characterization of Human Hepatoma HepG2 Cells. *Methods Mol Biol*. 2015; 1250: 77–93. doi: 10.1007/978-1-4939-2074-7_5.
13. Sevastyanov VI, Basok YB, Grigoryev AM, Kirsanova LA, Vasilets VN. A perfusion bioreactor for making tissue-engineered constructs. *Biomedical Engineering*. 2017; 51 (3): 162–165.
14. ГОСТ ISO 10993-1-2011 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 5. Исследование на цитотоксичность: методы *in vitro*». М.: Стандартиформ, 2014. GOST ISO 10993-1-2011 «Izdeliya meditsinskikh izdeliy. Chast' 5. Issledovanie na tsitotoksichnost': metody *in vitro*». М.: Standartinform, 2014.
15. Novikov I, Subbot A, Turenok A, Mayanskiy N, Chebotar I. A rapid method of whole cell sample preparation for scanning electron microscopy using neodymium chloride. *Micron*. 2019; 124: 102687. doi: 10.1016/j.micron.2019.102687. PMID: 31302532.
16. Zhang L, Guan Z, Ye J-S, Yin Y-F, Stoltz J-F, de Isla N. Research progress in liver tissue engineering. *Biomed Mater Eng*. 2017; 29 (s1): S113–S119.
17. Crapo PM, Gilbert TW, Badylak SF. An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomaterials*. 2011; 32 (12): 3233–3243. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.01.057.
18. Nibourg GA, Hoekstra R, van der Hoeven TV, Ackermans MT, Hakvoort TB, van Gulik TM, Chamuleau RA. Increased hepatic functionality of the human hepatoma cell line HepaRG cultured in the AMC bioreactor. *Int J Biochem Cell Biol*. 2013 Aug; 45 (8): 1860–1868.

Статья поступила в редакцию 6.07.2020 г.
The article was submitted to the journal on 6.07.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-3-134-142

К МЕХАНИЗМУ АКТИВАЦИИ ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В ПЕЧЕНИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ОБЩЕЙ РНК КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА

Н.А. Онищенко¹, Е.В. Фоменко¹, А.О. Никольская¹, З.З. Гоникова¹, М.Ю. Шагидулин^{1, 2}, М.В. Балясин², А.В. Ельчанинов³, В.И. Севастьянов¹

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

² ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация

³ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека», Москва, Российская Федерация

Цель – на модели обширной резекции печени (ОРП) изучить клеточные механизмы активации восстановительных процессов в печени при использовании общей РНК (оРНК) клеток костного мозга (ККМ).

Материалы и методы. Крыс-самцов породы Вистар (n = 80) с моделью ОРП (70%) разделили на 2 группы: группа 1 – контроль с однократным введением физиологического раствора и группа 2 – опытная с однократным введением оРНК в дозе 30 мкг/100 г веса животного. Контролировали в динамике биохимические показатели функции и массу печени, а также микроструктурные изменения гепатоцитов через 48 часов после ОРП, исследуя митотическую активность, экспрессию каспазы 9 и морфометрические показатели.

Результаты. Установлено, что в группе 2 по сравнению с группой 1 имеет место: более быстрая нормализация биохимических показателей (к 10–14-м суткам), более высокий митотический индекс гепатоцитов (23,45% против 5,37%), первоначально более резкое снижение, а затем более быстрое восстановление массы печени (к 10–12-м суткам против 18–20-х суток). В группах 1 и 2 выявлена практически тотальная экспрессия каспазы 9, в том числе в митотически делящихся гепатоцитах. В группе 1 выявлено уменьшение значений морфометрических показателей одно- и двухъядерных клеток, уменьшение количества двухъядерных гепатоцитов и увеличение общей плотности гепатоцитов по сравнению с интактной печенью. Внутривенное введение оРНК приводило к увеличению значений морфометрических показателей одноядерных гепатоцитов, не влияло на их количество, но увеличивало площадь ядер двухъядерных гепатоцитов по сравнению с контролем. **Заключение.** Доказанное свойство оРНК из ККМ одновременно поддерживать в клетках печени после ОРП процессы апоптоза и индуцировать митотическую активность свидетельствует о том, что оРНК способна на ранней фазе регенерационного процесса переключать активировавшийся апоптоз на пролиферацию клеток. Обнаруженный эффект может быть обусловлен наличием в составе оРНК регуляторных молекул РНК, в том числе многочисленных белок-некодирующих РНК.

Ключевые слова: клетки костного мозга, общая РНК, печень, экспериментальная модель, резекция, регенерация.

Для корреспонденции: Гоникова Залина Залимгериевна. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (966) 188-33-33. E-mail: zalina3392@gmail.com

Corresponding author: Zalina Gonikova. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (966) 188-33-33. E-mail: zalina3393@gmail.com

ACTIVATION OF REGENERATIVE PROCESSES IN THE LIVER WHEN USING CELL-BONE MARROW TOTAL RNA

N.A. Onishchenko¹, E.V. Fomenko¹, A.O. Nikolskaya¹, Z.Z. Gonikova¹, M.Yu. Shagidulin^{1, 2}, M.V. Balyasin², A.V. Elchaninov³, V.I. Sevastyanov¹

¹ Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation

² Sechenov University, Moscow, Russian Federation

³ Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russian Federation

Objective: to study the cellular mechanisms of activation of regenerative processes in the liver when using total RNA (tRNA) of bone marrow cells (BMCs) based on an extended liver resection (ELR) model. **Materials and methods.** Male Wistar rats (n = 80) with ELR model (70%) were divided into 2 groups: group 1 (control group) had a single saline injection, while group 2 (experimental group) received a single tRNA injection at a 30 µg/100 g dose of animal weight. The biochemical parameters of liver function and weight were monitored over time. Also monitored were microstructural changes in hepatocytes 48 hours after ELR by examining mitotic activity, caspase-9 expression and morphometric parameters. **Results.** It was found that in group 2, in comparison to group 1, there was faster normalization of biochemical parameters (by 10–14 days), a higher mitotic index of hepatocytes (23.45% versus 5.37%), and initially sharper decrease and then faster recovery of liver mass (by 10–12 days versus 18–20 days). Both groups showed almost total expression of caspase-9, including in mitotically splitting hepatocytes. Group 1 demonstrated decreased values of morphometric parameters of single and binuclear cells, decreased number of binucleated hepatocytes and increased total density of hepatocytes as compared to the intact liver. Intraperitoneal administration of tRNA increased morphometric parameters of mononuclear hepatocytes, did not affect their number, but increased the area of the nuclei of binuclear hepatocytes as compared to the control group. **Conclusion.** The proven capability of cell-bone marrow total RNA to simultaneously support apoptosis in liver cells after ELR and induce mitotic activity indicates that tRNA can switch activated apoptosis to cell proliferation at the early phase of the regenerative process. This effect may be due to the presence of regulatory RNA molecules in tRNA, including numerous non-coding RNAs.

Keywords: bone marrow cells, total RNA, liver, experimental model, resection, regeneration.

ВВЕДЕНИЕ

Из публикаций последних лет известно, что общая РНК (оРНК), выделенная из клеток костного мозга (ККМ), оказывает индукционное воздействие на процессы восстановительной регенерации органов [1], однако механизмы запуска ее регуляторного эффекта на клеточном уровне остаются не изученными. Между тем выбор стратегии и совершенствование тактики применения клеточных продуктов не может проводиться без учета механизмов, вовлекаемых ими в процесс регенерации.

По утвердившимся представлениям, регенерация органов протекает в рамках активации эволюционно выработанного неспецифического адаптационного синдрома клеточных систем (НАС), который уже на ранних этапах развития стимулирует в клетках комплекс стереотипных приспособительных изменений, направленных на выживание за счет мобилизации собственных сохранившихся резервов и на последующее формирование устойчивой адаптации за счет включения регенерационных механизмов [2, 3]. При моделировании 70% гепатэктомии, ставшей классической моделью для изучения регенерационных процессов в печени, было показано, что от степе-

ни активации в клетках оставшихся частей печени самых ранних проявлений адаптационного синдрома, таких как аутофагия и апоптоз, в значительной степени зависит способность клеточной системы обеспечивать коррекцию своего существования, быть чувствительной к различным корригирующим факторам и запускать эффективный регенераторный процесс [4–7].

Цель настоящей работы: на экспериментальной модели обширной резекции печени крыс изучить динамику формирования в поврежденной печени восстановительных процессов после однократного внутрибрюшинного введения оРНК ККМ, контролируя количественные изменения специфических показателей функции печени и неспецифических субстанционных (микроструктурных) изменений в клетках, являющихся характеристиками фаз развития в них НАС.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Все исследования с использованием лабораторных животных проводили с соблюдением биоэтических принципов, утвержденных Европейской конвенцией о защите позвоночных животных (2005).

Работа выполнена на 130 крысах-самцах породы Вистар весом 250–300 г, у 80 из которых воспроизвели модель ОРП [8], остальные крысы были использованы для получения несортированных моноклеарных ККМ и выделения из них оРНК. Перед моделированием ОРП оперируемых крыс наркотизировали ингаляционно диэтиловым эфиром, затем с соблюдением правил асептики и антисептики вскрывали брюшную полость, выводили печень в рану и последовательно накладывали лигатуры на основания срединной, левой боковой и правой верхней долей печени, после чего их удаляли (всего 70–75% общей массы печени). Операцию всегда проводили в утренние часы (в период с 10 до 12 часов), когда суточный ритм митотической активности клеток печени минимален. В раннем послеоперационном периоде у оперированных животных всегда развивалась клиническая картина острой печеночной недостаточности.

Все животные после ОРП были разделены на две группы; группа 1 – контрольная ($n = 40$), в которой крысам однократно внутрибрюшинно вводили по 1,0–1,5 мл физиологического раствора; группа 2 – опытная ($n = 40$), в которой через 3–5 часов после ОРП однократно внутрибрюшинно вводили общую РНК (оРНК), выделенную из несортированной моноклеарной фракции ККМ здоровых крыс-доноров в дозе 30 мкг/100 г веса, растворенной в 1,0–1,5 мл физиологического раствора.

Общую РНК из моноклеарной фракции ККМ выделяли с помощью реактива ExtractRNA («Евроген» (Россия) согласно инструкции производителя, которая позволяла получать из каждых $30\text{--}35 \times 10^6$ клеток около $148,5 \pm 22,3$ мкг РНК.

Динамику спонтанного восстановления печеночного гомеостаза в организме после ОРП и влияние оРНК на этот процесс исследовали путем измерения в сыворотке крови в раннем послеоперационном периоде (в течение 14 суток) содержания общего белка и общего билирубина, а также активности печеночных ферментов цитолиза: аланиновой аминотрансферазы (АлАТ), аспарагиновой аминотрансферазы (АсАТ) и щелочной фосфатазы (ЩФ) – стандартными методами на биохимическом анализаторе «Arik-test», Германия. Также исследовали темп преодоления критической массы остатка печени и восстановления его до исходных значений после ОРП в течение 28 суток. Для этого у каждого оперированного животного сразу после ОРП взвешивали резецированную часть печени, которую принимали за 70% от общей массы печени, затем на основании этих измерений рассчитывали исходную массу печени для каждого животного. Далее на каждом исследуемом сроке эксплантировали оставшуюся печень, путем взвешивания определяли ее массу и полученные значения

сравнивали с рассчитанной исходной массой печени для данного животного.

О характере индукционного воздействия на восстановительные процессы в печени критической травмы при создании модели ОРП (группа 1) и о результатах применения оРНК на фоне ОРП (группа 2) судили путем количественной оценки изменения показателей микроструктурного состояния клеток печени. Для этого прежде всего исследовали митотическую активность гепатоцитов в остатке печени через 24, 36, 48 и 72 часа, а также на 5, 7 и 10-е сутки после ОРП в группах 1 и 2. В указанные сроки иссекали печень и готовили из нее гистологические препараты; проводили окраску тканевых срезов гематоксилином и эозином и определяли в 30 полях зрения количество митотически делящихся гепатоцитов в промилле (‰), а также рассчитывали митотический индекс (МИ).

Морфометрическую оценку состояния гепатоцитов также проводили на срезах печени, окрашенных гематоксилином и эозином. При помощи микроскопа Nikon Eclipse 50i, оснащенного цифровой камерой (Япония), были получены микрофотографии срезов печени при увеличении $\times 400$, на которых при помощи пакета программ ImageJ проводили измерение площадей гепатоцитов и их ядер с последующим расчетом площадей цитоплазмы, а также подсчет числа одно- и двухъядерных гепатоцитов с последующим расчетом их процентного соотношения и количества клеток на единицу площади среза.

Поскольку известно, что ОРП относится к критической травме и ранний этап регенерационного процесса всегда сопровождается появлением признаков клеточной аутофагии [4, 5] и обратимой клеточной смерти – обратимого апоптоза [6], срезы печени толщиной 3 мкм окрашивали кроличьими антителами к белку протеолитической системы клеток – Caspase 9 (Abcam) в разведении 1:100 в PBS с добавлением 0,1% Tween 20 и 5% BSA для иммуногистохимического выявления признаков обратимого апоптоза гепатоцитов в раннюю фазу регенерационного процесса через 48 часов. Образцы отмывали и наносили вторичные антитела против IgG кролика, конъюгированные с HRP (Agilent Dako) в растворе PBS-T с 5% BSA. Затем проводили окраску с DAB (Abcam); ядра прокрашивали гематоксилином Майера (Био-Витрум). Микроскопию образцов проводили на оптическом микроскопе Nikon Eclipse TE2000.

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли в программной среде вычислений R, характер распределения признаков определяли с помощью критерия Шапиро–Уилка. Достоверность различий изучаемых показателей в двух сравниваемых группах оценивали по t-критериям Уилкоксона и Стьюдента, с учетом поправки Холма–Бонферрони.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Из 80 крыс, у которых моделировали ОРП с развитием острой печеночной недостаточности, погибло 6 животных в течение первых 5 суток после резекции печени, и общая летальность составила 7,5%. Все животные, погибшие после ОРП, относились к контрольной группе 1 (без специальной терапии, $n = 40$), и внутри этой группы летальность составила 15%. В опытной группе 2 ($n = 40$) летальность отсутствовала в течение всего срока наблюдения.

Отсутствие летальности в опытной группе 2 сопровождалось ускоренным темпом восстановления печеночного гомеостаза в организме, что выражалось в более ранней нормализации биохимических показателей функции печени: уровня общего белка,

общего билирубина и активности цитолитических ферментов в сыворотке крови.

В табл. 1 и 2 представлены результаты динамического изучения активностей АсАТ, АлАТ, ЩФ, уровня общего билирубина и общего белка в сыворотке крови крыс после моделирования ОРП в контрольной группе (табл. 1) и опытной группе с введением оРНК (табл. 2). В контрольной группе показатели цитолиза у выживших животных были резко повышены в течение первых 5 суток после ОРП, затем стабилизировались, и только начиная с 7–10-х суток появилась отчетливая тенденция к их нормализации. Показатели общего белка в течение 2-х и 3-х суток были резко снижены по сравнению с исходным уровнем, и начиная с 5–7-х суток уровень белка в сыворотке крови постепенно увеличивался, но не

Таблица 1

Динамика изменения уровня общего белка, общего билирубина и активности ферментов цитолиза (АлАТ, АсАТ и ЩФ) в сыворотке крови после ОРП и введения физиологического раствора (ФР) (контрольная группа, $n = 40$)

Dynamics of changes in the levels of total protein, total bilirubin, and the activity of cytolysis enzymes (AlAT, AsAT, and ALP) in blood serum after ELR and infusion of physiological saline (PS) (control group, $n = 40$)

Сроки наблюдения (сутки)	Группа 1 (контроль, ФР), $n = 40$				
	АсАТ, Ед/Л	АлАТ, Ед/Л	ЩФ, Ед/Л	Билирубин общий, мкМ/л	Белок общий, г/л
Исходные значения	$58 \pm 8,0$	$40 \pm 6,0$	240 ± 24	$2,2 \pm 0,7$	98 ± 20
2	$570 \pm 29^*$	$310 \pm 10^*$	$1102 \pm 21^*$	$10,2 \pm 2,0^*$	$21 \pm 16^*$
3	$490 \pm 20^*$	$320 \pm 21^*$	$1009 \pm 29^*$	$12,3 \pm 1,5^*$	$24 \pm 11^*$
5	$420 \pm 27^*$	$290 \pm 18^*$	$982 \pm 22^*$	$10,8 \pm 1,3^*$	$36 \pm 13^*$
7	$360 \pm 24^*$	$282 \pm 15^*$	$893 \pm 24^*$	$9,0 \pm 1,9^*$	$41 \pm 9,0^*$
10	$199 \pm 22^*$	$169 \pm 18^*$	$560 \pm 24^*$	$7,3 \pm 2,0^*$	$55 \pm 6,0^*$
14	$100 \pm 14^*$	$121 \pm 13^*$	$340 \pm 20^*$	$3,5 \pm 1,0$	$61 \pm 7,0$

Примечание. * – $p < 0,05$ по сравнению с исходным уровнем.

Note. * – $p < 0,05$ compared to baseline.

Таблица 2

Динамика изменения содержания общего белка, общего билирубина и активности ферментов цитолиза (АлАТ, АсАТ и ЩФ) в сыворотке крови после ОРП и введения оРНК в дозе 30 мкг/100 г веса животного ($n = 40$)

Dynamics of changes in the content of total protein, total bilirubin and the activity of cytolysis enzymes (AlAT, AsAT, and ALP) in the blood serum after ELR and infusion of tRNA at a dose of 30 μ g/100 g of animal weight ($n = 40$)

Сроки наблюдения (сутки)	Группа 2 (опытная, оРНК), $n = 40$				
	АсАТ, Ед/Л	АлАТ, Ед/Л	ЩФ, Ед/Л	Билирубин общий, мкМ/л	Белок общий, г/л
Исходные значения	$58 \pm 8,0$	$40 \pm 6,0$	240 ± 24	$2,2 \pm 0,7$	98 ± 20
2	$423 \pm 20^*$	$276 \pm 17^*$	$987 \pm 30^*$	$7,9 \pm 1,3^*$	$48 \pm 10^*$
3	$383 \pm 28^*$	$108 \pm 18^*$	$632 \pm 28^*$	$6,5 \pm 1,2^*$	$52 \pm 9,0^*$
5	$238 \pm 19^{* \#}$	$78 \pm 10^{* \#}$	$460 \pm 32^{* \#}$	$5,1 \pm 1,1^{* \#}$	$54 \pm 6,0^*$
7	$115 \pm 11^{* \#}$	$69 \pm 6,2^{* \#}$	$346 \pm 26^{* \#}$	$3,1 \pm 1,0^{\#}$	$60 \pm 7,0$
10	$82 \pm 12^{\#}$	$58 \pm 12^{\#}$	$257 \pm 15^{\#}$	$2,7 \pm 0,9$	$68 \pm 8,0$
14	$66 \pm 7^{\#}$	$44 \pm 6^{\#}$	$230 \pm 14^{\#}$	$1,9 \pm 0,8$	84 ± 12

Примечание. * – $p < 0,05$ по сравнению с исходным уровнем; $\#$ – $p < 0,05$ по сравнению с контролем на том же сроке.

Note. * – $p < 0,05$ compared to baseline; $\#$ – $p < 0,05$ compared to control at the same time.

достигал исходных значений нормы до конца наблюдений (14-е сутки). В опытной группе, где после ОРП вводили оРНК (табл. 2), показатели цитолиза после ОРП оставались стабильно высокими только в течение 1–3 суток, но уже к 5-м суткам наступало отчетливое снижение активности всех исследованных печеночных ферментов в сыворотке крови крыс по сравнению с контролем ($p < 0,05$) на тех же сроках. В результате в опытной группе с введением оРНК значения исследуемых показателей в сыворотке крови приближалась к норме уже на 10-е сутки и не отличались от исходных значений к 14-м суткам наблюдения, тогда как в контрольной группе нормализация всех исследованных показателей не наступала даже к 14-м суткам. Более высокий темп восстановления показателей печеночного гомеостаза в организме сопровождался в опытной группе достоверным повышением активности пролиферативных процессов в резецированной печени после ОРП по сравнению с контролем.

Исследование митотической активности гепатоцитов в резецированной печени позволило установить ее резкую активацию через 48 часов после моделирования ОРП как в 1-й, так и во 2-й группе по сравнению с исходным уровнем: исходный уровень митотической активности, оцениваемый до резекции печени по митотическому индексу (МИ), составил 0,2–0,3‰ (1–2 митоза на 30 полей зрения). Однако через 48 часов после ОРП выраженность активации МИ в исследуемых группах становилась разной: в

1-й, контрольной группе МИ составил 5,378‰ (на 6693 клетки определялось 36 митозов), тогда как во 2-й, опытной группе МИ составил 23,45‰ (на 9678 клеток определялась 227 митозов, т. е. был в 5 раз выше, чем в контрольной группе).

На 3-и сутки после моделирования ОРП МИ в исследуемых группах оставался на более высоком уровне по сравнению с исходным, но изменился по сравнению с 48 часами: в 1-й, контрольной группе МИ снизился и составил 3,7‰, во 2-й, опытной группе МИ также снизился и составил 6,36‰. К 5-м суткам значения МИ в 1-й и 2-й группах приближались к исходному уровню и не различались между собой (рис. 1).

Из полученных результатов сравнительного изучения митотической активности гепатоцитов в двух исследуемых группах следует, что ОРП сама по себе индуцирует пролиферативную активность гепатоцитов, а введение оРНК из ККМ уже на ранних сроках существенно усиливает пролиферативную активность клеток.

Более высокая митотическая активность гепатоцитов в группе 2 (введение оРНК) сопровождалась достоверно более ускоренным темпом восстановления массы печени. На рис. 2 представлена динамика восстановления массы печени после ОРП в контрольной и опытной группах.

Из представленного графика следует, что более высокий темп восстановления массы печени был отмечен в опытной группе, в которой через 3–5 часов после ОРП и внутрибрюшинного введения оРНК восстановление массы печени происходило к 10–12-м суткам.

В контрольной группе с внутрибрюшинным введением физиологического раствора восстановление массы печени происходило только на 18–20-е сутки после ОРП. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что введение оРНК в дозе 30 мкг/100 г веса животного индуцирует более выраженную активацию регенерационных процессов в печени после ОРП. Это можно объяснить тем, что оРНК ККМ представляет собой готовый комплекс сигнальных молекул РНК различных классов, который способен беспрепятственно и быстро проникать в различные клетки, а также адресно транспортироваться ими (и их экзосомами), особенно с помощью мононуклеарных клеток (лимфоцитов) крови [9]. Важно отметить также, что при изучении динамики восстановления массы печени после ОРП в опытах с применением оРНК масса резецированной печени на ранних сроках (ко 2-м суткам) оказывалась достоверно меньше, чем масса печени контрольной группы (рис. 2).

Если учесть известные факты о том, что процесс регенерации печени после ОРП на раннем этапе сопровождается явлениями клеточной аутофагии [4, 5]

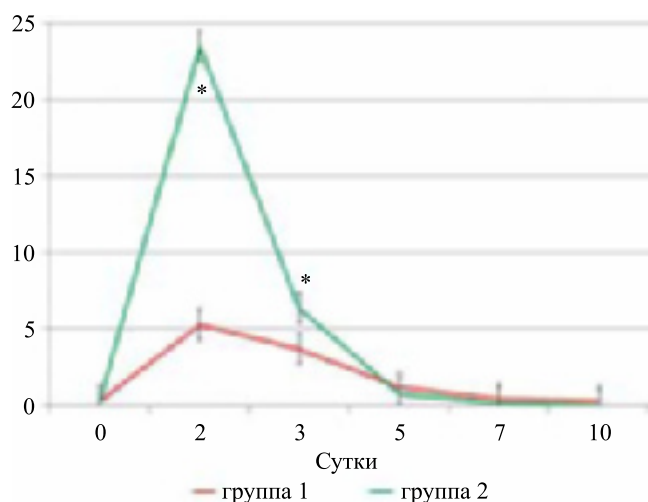


Рис. 1. Динамика изменения митотического индекса гепатоцитов в печени крыс после ОРП в контрольной (группа 1 с введением ФР) и опытной (группа 2 с введением оРНК) группах. * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем на том же сроке

Fig. 1. Dynamics of changes in the mitotic index of hepatocytes in rat livers after ELR in the control (group 1 with the introduction of PS) and experimental (group 2 with the introduction of tRNA) groups. * – $p < 0,05$ compared to control at the same time

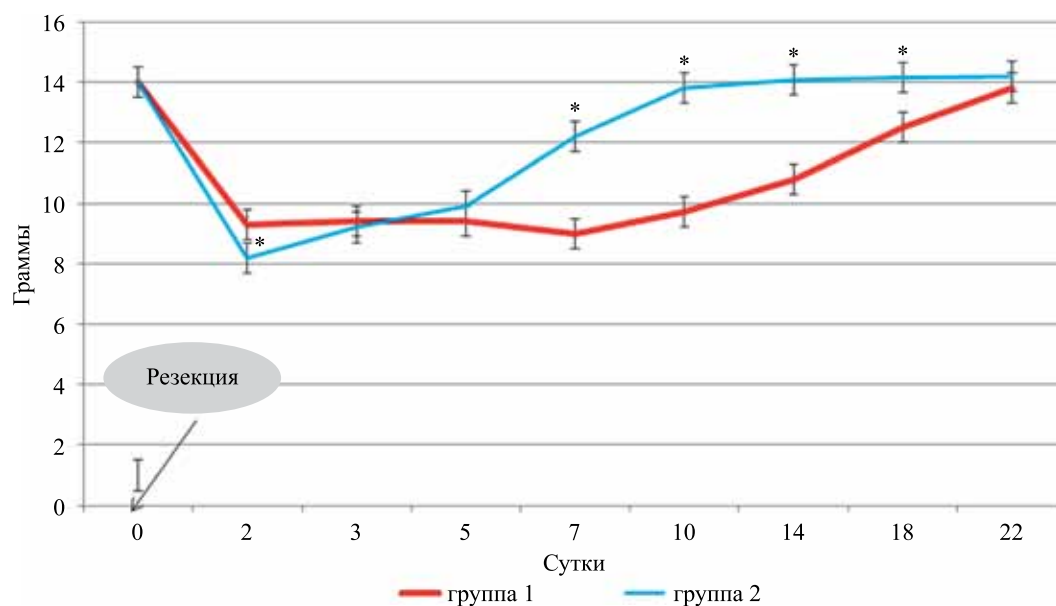


Рис. 2. Динамика восстановления исходной массы печени крыс после ОРП в контрольной (группа 1 с введением ФР) и опытной (группа 2 с введением оРНК) группах. * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем на том же сроке

Fig. 2. Dynamics of the initial mass restoration of rat livers after ELR in the control (group 1 with the introduction of PS) and experimental (group 2 with the introduction of tRNA) groups. * – $p < 0,05$ compared to control at the same time

и усилением признаков обратимого и даже необратимого апоптоза гепатоцитов [6], то полученные результаты позволяют предположить, что оРНК ускоряет процесс восстановительной регенерации печени по сравнению с контролем за счет более резкого и раннего (по-видимому, уже в течение 1-х суток) и более длительного (в течение 2-х суток) усиления проявлений мобилизации и расходования собственных клеточных резервов (усиление аутофагии и апоптоза)

при развитии НАС и восстановительного процесса как результата сочетанного воздействия на клетки печени двух факторов: ОРП и оРНК.

Действительно, сравнительное иммуногистохимическое исследование активности Caspase-9 – показателя обратимого апоптоза в клетках печени контрольной и опытной групп через 48 ч после ОРП, т. е. на высоте активации митотической активности гепатоцитов, показало (рис. 3, а и б), что как в

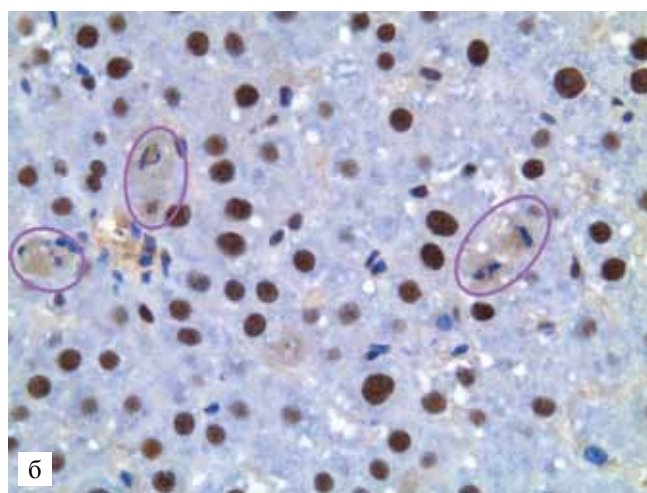
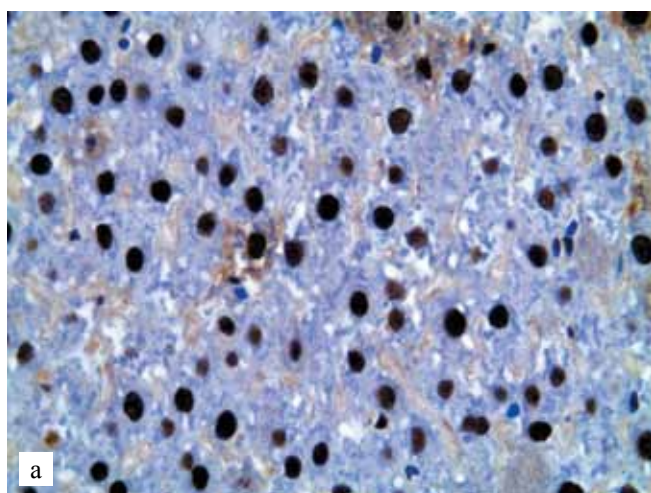


Рис. 3. Иммуногистохимическое исследование активности Caspase-9 в гепатоцитах через 48 ч после ОРП в контрольной группе с введением физиологического раствора (а) и в опытной группе с введением оРНК из ККМ (б). $\times 40$. Клетки в фазе митоза указаны кружками

Fig. 3. Immunohistochemical investigation of Caspase-9 activity in hepatocytes in 48 hours after ELR in the control group with infusion of physiological saline (a) and in the experimental group with infusion of tRNA of BMCs (б). $\times 40$. Cells in the mitosis phase are indicated by circles

контрольной, так и в опытной группе процесс обратимого апоптоза был индуцирован более чем у 90% гепатоцитов. Изучение экспрессии Caspase-9 в клетках печени интактных животных не выявило в них наличия данного маркера. Полученные данные указывают на практически тотальную активацию в клетках печени после ОРП адаптивно-зависимого апоптоза в двух исследуемых группах. Однако в отличие от контрольной группы в опытной группе введение оРНК приводило к отчетливому усилению митотической активности гепатоцитов. Этот эффект наблюдали и для гепатоцитов, которые выходили из состояния обратимого апоптоза, т. е. в митотически делящихся гепатоцитах окрашенный хромогеном субстрат вымывался из делящегося ядра и переходил в цитоплазму (рис. 3, б). Полученные результаты свидетельствуют о том, что оРНК, введенная в организм на фоне ОРП, по-видимому, действует в рамках неспецифического адаптационного синдрома клеточных систем как адекватный адаптоген, который включает и оптимизирует резервы выживания клеток, переключая в них эволюционно запрограммированные регуляторные механизмы с апоптоза на пролиферацию клеток. Последнее оказывается возможным, если на ранних сроках после ОРП сигналы апоптоза и пролиферации в клетках печени оказываются в ко-активированном состоянии. По мнению И.М. Газизова и соавторов [6], точкой пересечения этих сигналов могут быть факторы STAT-3 и NFK- β , при значительном увеличении уровней и активностей которых клетки подавляют апоптоз путем экспрессии антиапоптотических белков Bcl-2, Bcl-x1, HSP-70, выходят из G0-фазы и вступают в пролиферацию. Возможность перехода клеток из состояния апоптоза в фазу пролиферации показана также в работе [10].

Известно, что развитие апоптоза характеризуется возникновением определенных изменений в морфологии клеток (ядро и цитоплазма уменьшаются в размерах, конденсируются без нарушения структурной целостности клеточных мембран и развития воспаления). Для доказательства развития адаптивно-зависимого апоптоза клеток печени на ранних сроках после ОРП и активного переключения клеток с проапоптотического пути на путь пролиферации и восстановительной регенерации при использовании оРНК была проведена сравнительная морфометрия гепатоцитов в печени крыс контрольной и опытной групп через 48 часов после ОРП, т. е. на сроке максимальной митотической активности гепатоцитов. Результаты морфометрического исследования гепатоцитов в контрольной и опытной группах – без и с введением оРНК по сравнению с интактными животными (без ОРП) – представлены в табл. 3 и 4. В печени крыс контрольной группы наблюдаются достоверные изменения цитометрических показателей одноядерных и двухъядерных гепатоцитов. Так, пострезекционные изменения через 48 часов характеризовались уменьшением площадей одноядерных гепатоцитов, их ядер и цитоплазмы на 30,2; 34,0; 29,9% соответственно и снижением этих показателей для двухъядерных гепатоцитов на 20,5; 35,0; 23,4% по сравнению с гепатоцитами в печени интактной группы крыс. Также было выявлено статистически значимое уменьшение числа двухъядерных гепатоцитов на 5,27% на фоне роста общего числа клеток на единицу площади на 27,3% (табл. 4).

Для печени опытной группы внутрибрюшинное введение оРНК приводило к изменению всех исследованных цитометрических показателей одноядерных гепатоцитов, и в меньшей степени влияло на

Таблица 3

Изменения цитометрических показателей одноядерных и двухъядерных гепатоцитов через 48 часов после ОРП без и с введением оРНК из ККМ (Me(Q₁; Q₂)) (медиана (25-й; 75-й перцентили)

Changes in the cytometric indices of single- and double-nuclear hepatocytes in 48 hours after ELR without and with infusion of tRNA of BMCs (Me (Q₁; Q₂)) (median (25th, 75th percentiles))

Показатель \ Группа	Интактные	Контрольная группа, ФР	Опытная группа, оРНК
Показатели одноядерных гепатоцитов			
Пл. клетки, мкм ²	318,7 (268,5; 378,4)	222,4 (174,1; 281,2) ¹	272,7 (219,4; 336,2)*
Пл. ядра, мкм ²	55,8 (50,0; 75,7)	36,8 (30,4; 41,9) ¹	45,6 (38,2; 52,2)*
Пл. цитоплазмы, мкм ²	262,6 (213,5; 309,4)	184,1 (141,6; 239,5) ¹	228,9 (179,7; 287,8)*
Показатели двухъядерных гепатоцитов			
Пл. клетки, мкм ²	420,1 (376,0; 489,2)	333,9 (279,0; 376,2) ¹	355,6 (293,0; 439,5)
Пл. ядра, мкм ²	100,1 (90,6; 108,9)	65,0 (53,5; 74,9) ¹	75,4 (60,2; 90,0)*
Пл. цитоплазмы, мкм ²	321,0 (286,0; 382,1)	261,1 (226,6; 307,5) ¹	276,8 (231,2; 341,8)

Примечание. ¹ – различия достоверны ($p \leq 0,01$) по сравнению с интактной группой; * – различия достоверны ($p \leq 0,01$) по сравнению с контрольной группой крыс, подвергавшихся ОРП; Пл. – средняя площадь.

Note. ¹ – the differences are significant ($p \leq 0,01$) compared with the intact group; * – the differences are significant ($p \leq 0,01$) compared to the control group of rats with ELR; Пл. – average area.

Таблица 4

Изменение общего числа гепатоцитов на единицу площади и доли одно- и двухъядерных клеток через 48 часов после ОРП без и с введением оРНК ($M \pm m$)

Change in the total number of hepatocytes per unit area and the percent of single- and double-nuclear cells in 48 hours after ELR without and with infusion of tRNA ($M \pm m$)

Показатель \ Группа	Интактные	Контрольная группа, ФР	Опытная группа, оРНК
Общее число клеток на 50 000 мкм ²	78,4 ± 4,9	100,8 ± 9,2 ¹	95,2 ± 5,7
Доля одноядерных клеток, %	87,43 ± 0,95	92,70 ± 0,75 ¹	91,81 ± 0,40
Доля двухъядерных клеток, %	12,57 ± 0,95	7,30 ± 0,75 ¹	8,19 ± 0,40

Примечание. ¹ – различия достоверны ($p \leq 0,01$) по сравнению с интактной группой.

Note. ¹ – differences are significant ($p \leq 0,01$) compared with an intact group.

показатели двухъядерных гепатоцитов. Так, при введении оРНК наблюдался рост площадей одноядерных гепатоцитов, их ядер и цитоплазмы на 22,6; 23,9 и 24,3% соответственно по сравнению с контрольной группой. При этом не было обнаружено изменений в количестве двухъядерных клеток (табл. 4), но наблюдали увеличение площади ядер двухъядерных гепатоцитов на 15,5% по сравнению с контрольной группой (табл. 3).

Результаты морфоцитометрии гепатоцитов через 48 часов после ОРП в контрольной группе позволяют предположить, что в условиях практически тотальной активации Caspase-9 (более чем 90% гепатоцитов) и не резко выраженного увеличения пролиферативной активности гепатоцитов (митотический индекс – 5,37%) увеличение клеточной плотности, а также общее уменьшение площадей гепатоцитов, их ядер, цитоплазмы свидетельствует прежде всего о преимущественном усилении в клетках печени процессов аутофагии и обратимого апоптоза на ранних сроках после ОРП. Наблюдаемое снижение количества двухъядерных клеток в печени контрольной группы крыс может быть связано с их делением и образованием одноядерных клеток [11].

Введение оРНК ККМ на сроке 48 часов после ОРП сохраняет неизменным высокий уровень активности Caspase-9 в гепатоцитах. Наблюдается более резкое снижение массы резецированной печени на этом сроке по сравнению с контрольной группой в результате стрессорного воздействия ОРП и оРНК. При этом в печени резко возрастает митотическая активность гепатоцитов (МИ = 23,45%) и начинается достоверное восстановление морфометрических показателей (увеличение площадей ядер, клеток, и цитоплазмы по сравнению с контрольной группой) преимущественно одноядерных гепатоцитов, которые, по-видимому, способны более активно, чем двухъядерные гепатоциты, пролиферировать и гипертрофироваться в критических ситуациях. В то же время сохраняющаяся более высокая плотность клеток на единицу площади на фоне применения оРНК

также свидетельствует о продолжающемся апоптозе клеток на исследуемом сроке.

Доказанное на экспериментальной модели ОРП свойство оРНК одновременно поддерживать в клетках печени процессы апоптоза и индуцировать в них митотическую активность свидетельствует о том, что оРНК способна переключать на ранней фазе регенерационного процесса активировавшийся апоптоз на пролиферацию клеток. Обнаруженный эффект с большой вероятностью обусловлен наличием регуляторных молекул РНК, в том числе многочисленных белок-некодирующих РНК [12–14], активно участвующих в регенерационных процессах и входящих в состав оРНК ККМ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты позволяют прийти к заключению, что оРНК, используемая для индукции восстановительных процессов в печени, способствует на клеточном уровне активации ранних проявлений эволюционно выработанного неспецифического адаптационного механизма выживания клеток, одновременно поддерживая в них сигнальные пути, и апоптоза, и пролиферации в ко-активированном состоянии, а также индуцирует переход клеток от адаптивно-зависимого апоптоза к пролиферации путем экспрессии анти-апоптотических белков, гены которых являются мишенями многочисленных регуляторных молекул РНК, входящих в состав оРНК ККМ.

Авторы статьи выражают глубокую благодарность к. м. н. Люндуну Алексею Валерьевичу за содействие в организации иммуногистохимических исследований печени и участие в обсуждении полученных материалов.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Бабаева АГ, Тишевская НВ, Геворкян НМ. О морфогенетических свойствах РНК лимфоидных и стволовых клеток при восстановительных процессах. Российская академия наук. Научно-исследовательский институт морфологии человека. – М., 2016. 272. *Babaeva AG, Tishevskaya NV, Gevorkyan NM. About morphogenetic properties of RNA of lymphoid and stem cells at regenerative processes. RAN. Research Institute of human morphology. M., 2016. 272.*
2. Браун АД, Мозженок ГП. Неспецифический адаптационный синдром клеточной системы. Л.: Наука, 1987. 232. *Braun AD, Mozhenok GP. Nonspecific adaptive syndrome of cellular system. L.: Nauka, 1987. 232. (In Russ.).*
3. Онищенко НА. Цитогенетическая рекапитуляция, индуцированная медикаментозными препаратами, как универсальный этап формирования срочной защиты органов от повреждения при трансплантации. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2016; 60 (4): 148–153. *Onishchenko NA. Cytogenetic recapitulation, induced by medical preparations, as the universal stage of formation of urgent protection against damage at organ transplantation. Pathological Physiology and Experimental Therapy. (Russian Journal). 2016; 60 (4): 148–153. (In Russ).*
4. Lin CW, Chen YS, Lin CC, Chen YJ, Lee PH, Kuo PL et al. Amiodarone as an autophagy promoter reduces liver injury and enhances liver regeneration and survival in mice after partial hepatectomy. *Sci Rep.* 2015 Oct 30; 5: 15807. doi: 10.1038/srep15807.
5. Cheng Y, Wang B, Zhou H, Dang S, Jin M, Shi Y et al. Autophagy is required for maintenance of liver progenitor cell functionality. *Cell Physiol Biochem.* 2015; 36 (3): 1163–1174.
6. Газизов ИМ, Гумерова АА, Киясов АП. Апоптоз в регенерационном гистогенезе печени после частичной гепатэктомии у крыс. Гены и клетки. 2015; 10 (3): 22–26. *Gazizov IM, Gumerova AA, Kiyasov AP. Apoptosis in regenerative histogenesis of the liver after partial hepatectomy in rats. Genes and cells. 2015; 10 (3): 22–26.*
7. Монголов ХП, Плеханов АН. Взаимосвязь апоптоза и регенерации печени при печеночной недостаточности после частичной гепатэктомии в эксперименте. *Acta Biomedica Scientifica.* 2009; 3: 203–206. *Mongolov KhP, Plekhanov AN. Interrelation of apoptosis and liver regeneration in hepatic insufficiency after partial hepatectomy in an experiment. Acta Biomedica Scientifica.* 2009; 3: 203–206.
8. Патент на изобретение 2701792 РФ, МПК А61К35/28 (2019.08) «Способ лечения острой печеночной недостаточности» / Н.А. Онищенко, З.З. Гоникова, А.О. Никольская, Л.А. Кирсанова, М.Ю. Шагидулин, В.И. Севастьянов, С.В. Готье. – 2018138281; заявл. 30.10.2018; опубл. 01.10.2019, Бюл. 28. *Patent na izobretenie 2701792 RF, MPK A61K35/28 (2019.08) «Sposob lecheniya ostroy pechenochnoy nedostatochnosti» / N.A. Onishchenko, Z.Z. Gonikova, A.O. Nikol'skaya, L.A. Kirsanova, M.Yu. Shagidulin, V.I. Sevastyanov, S.V. Gautier. – 2018138281; zayavl. 30.10.2018; opubl. 01.10.2019, Byul. 28.*
9. Тишевская НВ, Бабаева АГ, Геворкян НМ. Роль лимфоцитарных РНК в межклеточном информационном обмене и регуляции регенеративных процессов. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2016; 102 (11): 1280–1301. *Tishevskaya NV, Babayeva AG, Gevorkyan NM. Role of lymphocytic RNAs in intercellular information exchange and regulation of regenerative processes. I.M. Sechenov Russian journal of physiology.* 2016; 102 (11): 1280–1301.
10. Budd RC. Death receptors couple to both cell proliferations and apoptosis. *J Clin Invest.* 2002 Feb 15; 109 (4): 437–442.
11. Miyaoka Y, Ebato K, Kato H, Arakawa S, Shimizu S, Miyajima A. Hypertrophy and unconventional cell division of hepatocytes underlie liver regeneration. *Curr Bio.* 2012; 22 (13): 1166–1175.
12. Yan IK, Wang X, Asmann YW, Haga H, Patel T. Circulating Extracellular RNA Markers of Liver Regeneration. *PLoS One.* 2016; 11 (7). doi: 10.1371/journal.pone.0155888.
13. Li J, Jin W, Qin Y, Zhao W, Chang C, Xu C. Expression Profile and Function Analysis of LncRNAs during Priming Phase of Rat Liver Regeneration. *PLoS One.* 2016 Jun 21; 11 (6). doi: 10.1371/journal.pone.0156128.
14. Mottaghitalab F, Rastegari A, Farokhi M, Dinarvand R, Hosseinkhani H et al. Prospects of siRNA applications in regenerative medicine. *International Journal of Pharmaceutics.* 2017 May 30; 524 (1–2): 312–329.

Статья поступила в редакцию 30.06.2020 г.
The article was submitted to the journal on 30.06.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-3-143-148

ТРЕХМЕРНЫЙ АНАЛИЗ МИКРО- И НАНОСТРУКТУРЫ ТКАНИ ЛЕГКОГО МЕТОДОМ СКАНИРУЮЩЕЙ ЗОНДОВОЙ НАНОТОМОГРАФИИ

А.Е. Ефимов, О.И. Агапова, Л.А. Сафонова, М.М. Боброва, И.И. Агапов

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

Цель. Провести анализ трехмерной микро- и наноструктуры и количественных морфологических параметров ткани легкого крысы. **Материалы и методы.** Для исследования, были получены образцы ткани легкого крысы породы Wistar. Изучение трехмерной структуры ткани легкого было выполнено методом сканирующей зондовой нанотомографии при помощи экспериментальной установки, объединяющей ультрамикротом и сканирующий зондовый микроскоп. **Результаты.** Получены наномасштабные изображения и трехмерные нанотомографические реконструкции участков межальвеолярных перегородок легкого крысы. Определены морфологические параметры поверхности межальвеолярной перегородки: средняя шероховатость, удельная эффективная площадь. Установлено, что средняя шероховатость реконструированной поверхности перегородки составляет $345,4 \pm 24,5$ нм, а удельная эффективная площадь $2,7 \pm 0,2$ ед. **Выводы.** Полученные в результате исследования данные демонстрируют, что технология сканирующей зондовой нанотомографии позволяет определять количественные характеристики морфологии ткани легкого. Использование метода сканирующей зондовой нанотомографии для трехмерного анализа структуры и характеристик ткани легкого позволит повысить эффективность разработок по созданию новых критериев диагностики патологических состояний.

Ключевые слова: легкие, альвеолы, межальвеолярная перегородка, сканирующая зондовая микроскопия, нанотомография.

3D ANALYSIS OF THE MICRO- AND NANOSTRUCTURE OF LUNG TISSUE BY SCANNING PROBE NANOTOMOGRAPHY

A.E. Efimov, O.I. Agapova, L.A. Safonova, M.M. Bobrova, I.I. Agapov

Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation

Objective: to analyze the 3D micro- and nanostructure and quantitative morphological parameters of rat lung tissue. **Materials and methods.** Wistar rat lung tissue samples were obtained for the study. The 3D structure of the lung tissue was studied via scanning probe nanotomography using an experimental setup combining an ultramicrotome and a scanning probe microscope. **Results.** Nanoscale images and 3D nanotomographic reconstructions of the interalveolar septal sections of the rat lung were obtained. Morphological parameters (average roughness and specific effective area) of the interalveolar septal surface were determined. It was found that the average roughness of the reconstructed septal surface was 345.4 ± 24.5 nm, and the specific effective area was 2.7 ± 0.2 units. **Conclusions.** Results obtained demonstrate that scanning probe nanotomography allows to quantify lung morphology. The use of scanning probe nanotomography for 3D analysis of the structure and characteristics of lung tissue will increase the efficiency of future developments on creation of new criteria for diagnosing pathological conditions.

Keywords: lung, alveolus, interalveolar septum, scanning probe microscopy, nanotomography.

Для корреспонденции: Агапов Игорь Иванович. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1.
Тел. (499) 190-66-19. E-mail: igor_agapov@mail.ru

Corresponding author: Igor Agapov. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation.
Phone: (499) 190-66-19. E-mail: igor_agapov@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Развитие методов микроскопических исследований трехмерной наноструктуры клеток и тканей чрезвычайно важно для понимания структурных и молекулярных механизмов, отвечающих за их функциональность и своевременного детектирования патологических изменений. Таким образом, большое значение приобретают современные методы исследования трехмерной микро- и наноструктуры биологических объектов, в частности, такие методы микроскопии высокого разрешения, как сканирующая зондовая микроскопия (СЗМ) и сканирующая электронная микроскопия с фокусированным ионным пучком (СЭМ/ФИП) [1, 2].

Исследования с использованием СЭМ/ФИП позволили реконструировать трехмерную организацию альвеол в ткани легких мыши [3] и миофибрилл, Т-трубочек, саркоплазматического ретикулума и митохондрий в миоцитах [4, 5]. Недавнее открытие взаимосвязанных сетей митохондрий в мышечных клетках [6] убедительно доказывает, что методы нанотомографии позволяют эффективно исследовать трехмерные взаимосвязи между клеточными органеллами, компартментами и системами. Эти структуры практически невозможно охарактеризовать полностью, используя обычные методы микроскопии, позволяющие получать только двухмерные изображения и проекции клеточных структур. Однако СЭМ/ФИП нельзя назвать оптимальным методом для анализа биологических объектов, так как используемые электронные и ионные пучки могут вызывать нежелательные повреждения структуры поверхности, а контраст и разрешение на СЭМ-изображениях образцов после воздействия ионного пучка могут быть снижены [1, 2, 7, 8].

Физические принципы получения изображений при помощи СЗМ принципиально отличаются от принципов как оптической, так и электронной микроскопии [9–11]. В случае СЗМ растровые изображения топографии и распределений физических свойств поверхности образца строятся за счет анализа особенностей физического взаимодействия сверхострого зонда (кантилевера) со сканируемой поверхностью. Интеграция техники получения сверхтонких срезов образца (ультрамикротомии) с методами СЗМ в рамках единого приборного комплекса позволяет реализовать технологию сканирующей зондовой нанотомографии (СЗНТ) [2]. Компьютерная обработка серий последовательных СЗМ-изображений поверхности образца, полученных непосредственно после сверхтонких срезов, дает возможность при помощи специализированного программного обеспечения выполнять трехмерную реконструкцию микро- и наноструктуры исследуемых образцов, что позволяет применять любые методики СЗМ для задач

трехмерного анализа. Таким образом, анализ трехмерных структур тканей различных органов методом СЗНТ дает возможность получать уникальную информацию об их наномасштабной организации, недоступную для других методов. Немаловажно также, что анализ трехмерных СЗНТ-реконструкций биологических объектов и материалов позволяет количественно оценивать такие важные параметры их наноморфологии, как микро- и нанопористость [12], эффективная площадь и шероховатость поверхности, отношение площади поверхности к объему [13].

Развитие технологии СЗНТ в применении к исследованиям органов и тканей может позволить разработать новые методы и критерии диагностики состояния органов доноров и пациентов для задач современной трансплантологии. В данной работе представлены исследования трехмерных структур ткани легкого крысы с использованием методов СЗНТ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Подготовка образцов ткани легкого крысы для исследований методами сканирующей зондовой нанотомографии

В экспериментах использовали самцов крыс породы Wistar (вес особи 250–350 г). Операцию с животными осуществляли под ингаляционным эфирным наркозом. Крысу помещали брюхом вверх на операционный стол и расправляли лапы. Пинцетом оттягивали кожу на брюхе, и ножницами выполняли продольный разрез кожи на средней линии брюшной стороны тела от полового отверстия до грудины. Кожу отворачивали и закрепляли. Далее вскрывали грудную полость, производили забор легких, отсекая трахею и артерии. После забора легкие помещали в раствор натрий-фосфатного буфера ($\text{pH} = 7,4$) и отмывали от крови.

Для изготовления препарата для СЗНТ при помощи скальпеля вырезали фрагменты ткани легкого размером 3×3 мм. Далее для фиксации полученных образцов фрагменты помещали в 2,5% раствор глутарового альдегида в натрий-фосфатном буфере ($\text{pH} = 7,4$) и инкубировали в течение 2 часов в темноте при $+4^\circ\text{C}$. Затем производили три отмывки образцов в натрий-фосфатном буфере по 10 минут. После этого производили дегидратацию образцов проводкой по спиртам с увеличивающейся концентрацией по схеме:

- а) р-р этанола 30% – 10 мин;
- б) р-р этанола 50% – 10 мин;
- в) р-р этанола 70% – 10 мин;
- г) р-р этанола 80% – 10 мин;
- д) р-р этанола 96% – 10 мин.

Далее производили три отмывки образцов в пропиленоксиде по 10 минут, а затем инкубировали в

смеси пропиленоксида и эпоксидной смолы в соотношении 1:1 в течение 30 минут, после чего образцы переносили в смесь пропиленоксида и эпоксидной смолы в соотношении 1:2 и инкубировали в течение 30 минут. Затем образцы заключали в эпоксидную смолу, инкубировали в термостате при 45 °С в течение 24 часов, после чего продолжали инкубацию в течение 48 часов при температуре 60 °С.

Для заливки образцов использовалась эпоксидная среда (Epoxy Embedding Medium, Sigma-Aldrich, кат. № 45345), смешиваемая с равным по массе количеством отвердителя заливочной среды (додеценилэтантный ангидрид, Sigma-Aldrich, США, кат. № 45346) и 4% по массе DMP-30 (Sigma-Aldrich, США, кат. № 45348).

Сканирующая зондовая нанотомография образцов ткани легкого крысы

Для исследований образцов ткани легкого крысы методами СЗНТ использовалась экспериментальная установка Ntegra Томо. Данный комплекс позволяет производить последовательные СЗМ-измерения поверхности образцов непосредственно после выполнения среза ультрамикротомом. Последовательные срезы образца толщиной 60 нм выполнялись с использованием алмазного ножа Diatome Ultra AFM 35 (Diatome AG, Швейцария) с шириной режущей кромки 2,0 мм.

СЗМ-измерения проводились в полуконтактном режиме при скорости сканирования 1,0 Гц с использованием кремниевых зондов-кантилеверов NSG10 (NT-MDT, Москва) с резонансной частотой 240 кГц и радиусом кривизны острия <10 нм. Первичная обработка изображений проводилась в программе Nova ImageAnalysis 1.0.26.1443 (NT-MDT, Москва), трехмерные томографические реконструкции структуры легкого были получены в программе ImagePro Plus 6.0 (Media Cybernetics, Inc, США).

Вычисление морфологических параметров трехмерных поверхностей

Анализ реконструированных методом СЗНТ поверхностей при помощи программного обеспечения ImagePro Plus 6.0 (Media Cybernetics, Inc, США) позволяет определить и проанализировать наномасштабные параметры этих поверхностей, такие как средняя шероховатость R_a и эффективная площадь поверхности σ .

Для вычисления данных параметров реконструированная поверхность рассматривается как двумерный массив данных (значений высот Z) размера $N \times M$, где N и M – число столбцов и строк. Перед вычислениями из поверхности вычитают поверхность первого порядка (плоскость), что соответствует устранению наклона.

Средняя шероховатость поверхности R_a рассчитывается как среднее значение модуля отклонения значения высоты точек массива от среднего значения высоты:

$$R_a = \frac{1}{N} \frac{1}{M} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^M |Z_{ij} - \langle Z \rangle|, \quad (1)$$

где $Z_{i,j}$ – значение высоты в точке массива (i, j) , $\langle Z \rangle$ – среднее значение высоты Z , усредненное по всему массиву:

$$\langle Z \rangle = \frac{1}{N} \frac{1}{M} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^M Z_{ij}. \quad (2)$$

Эффективная площадь поверхности σ вычисляется как отношение площади поверхности к площади ее двумерной проекции на плоскость. Этот параметр определяет степень развитости поверхности [14]. Реконструированная площадь поверхности S вычисляется с использованием метода триангуляции как сумма по массиву элементарных площадей $s_{i,j}$ поверхности элементарных ячеек между 4 соседними точками массива (i, j) , $(i + 1, j)$, $(i, j + 1)$, $(i + 1, j + 1)$. При использовании метода триангуляции для вычисления элементарной площади вводится также средняя точка с высотой $\langle Z_{i,j} \rangle = (Z_{i,j} + Z_{i+1,j} + Z_{i,j+1} + Z_{i+1,j+1})/4$ и эффективными координатами $(i + 1/2, j + 1/2)$, и элементарная площадь вычисляется как площадь четырех треугольников, каждый из которых образован соседними вершинами элементарной ячейки и средней точкой. Так, например, площадь треугольника, образованного точками (i, j) , $(i + 1, j)$ и средней точкой задается выражением:

$$\frac{d_x d_y}{4} \sqrt{1 + \left(\frac{Z_{i,j} - Z_{i,j+1}}{d_x} \right)^2 + \left(\frac{2\langle Z_{i,j} \rangle - Z_{i,j} - Z_{i,j+1}}{d_y} \right)^2}, \quad (3)$$

где d_x и d_y – физические размеры пикселей по соответствующим осям. Так как мы используем поверхность, реконструированную методом СЗНТ, то в нашем случае d_x будет определяться пиксельным разрешением СЗМ-измерения, а d_y – толщиной среза между последовательными СЗМ-измерениями. Соответственно, эффективная площадь поверхности будет задаваться как

$$\sigma = \frac{1}{N d_x} \frac{1}{M d_y} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^M s_{i,j}. \quad (4)$$

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1, а, приведен пример полученного СЗМ-изображения (65×65 мкм) среза участка респираторного отдела легкого. На данном изображении можно выделить области пузырьков с размерами порядка 20–30 мкм и наноструктурированных межальвеолярных перегородок шириной 10–20 мкм. На рис. 2

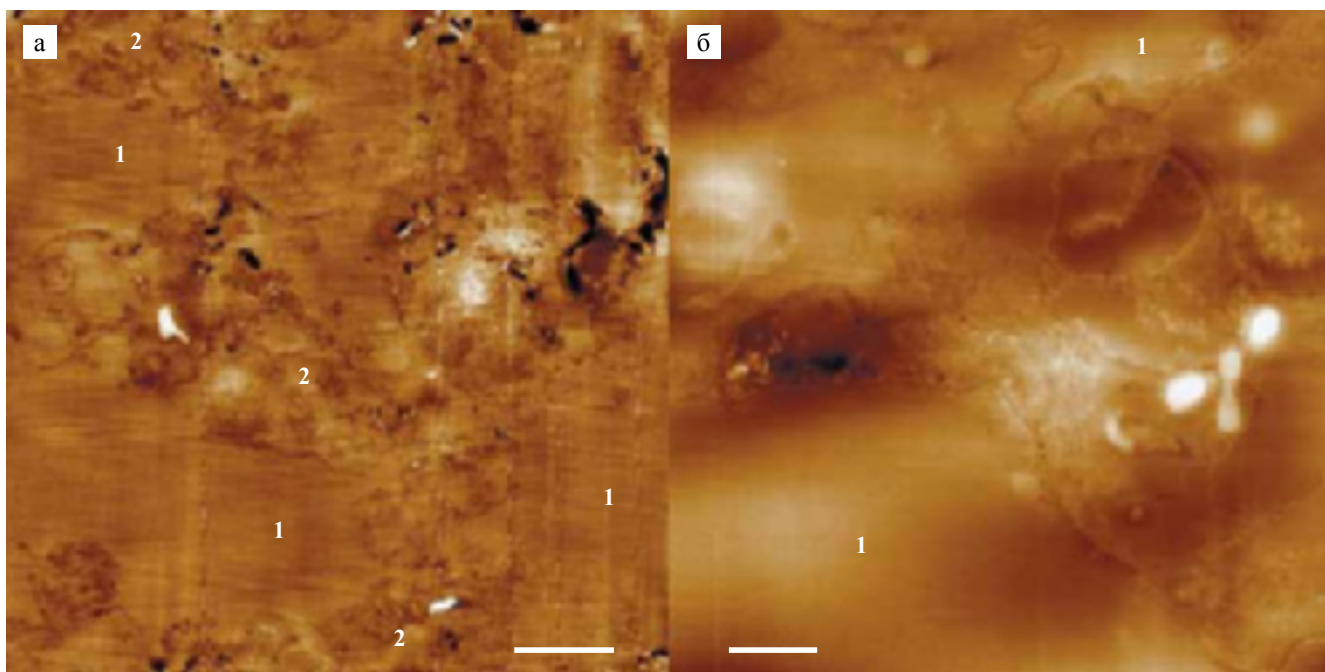


Рис. 1. СЗМ-изображение топографии поверхности участков ткани легкого крысы после среза ультрамикротомом: а – СЗМ-изображение участка респираторного отдела легкого, размер скана 65×65 мкм, диапазон вариации высоты 18 нм, размерный отрезок 10 мкм; б – СЗМ-изображение межальвеолярной перегородки, размер скана 15×15 мкм, диапазон вариации высоты 48 нм, размерный отрезок 2 мкм; 1 – области пузырьков; 2 – альвеолярные перегородки

Fig. 1. SPM topography image of surface areas of rat lung tissue after ultramicrotome section: а – SPM image of region of respiratory lung area, scan size 65×65 μm , height variation 18 nm, scale bar 10 μm ; б – SPM image of region of alveolar septum, scan size 15×15 μm , height variation 48 nm, scale bar 2 μm ; 1 – areas of alveolus; 2 – areas of alveolar septum

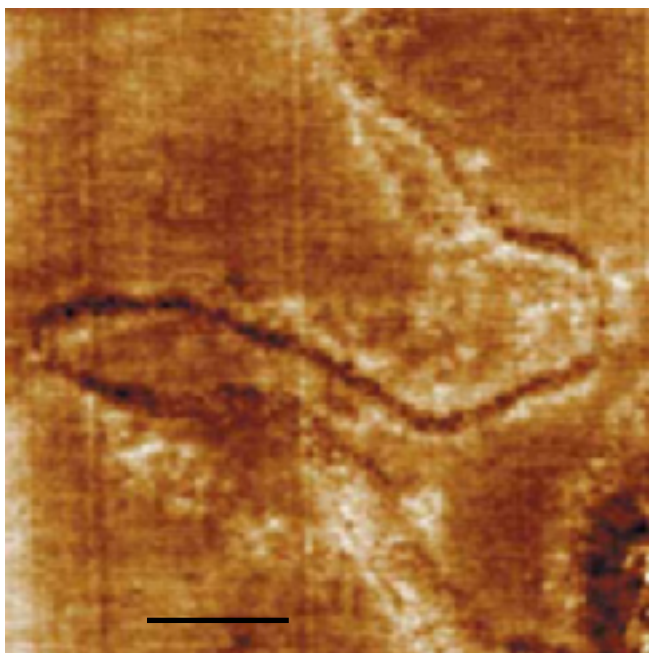


Рис. 2. СЗМ-изображение топографии поверхности среза складки межальвеолярной перегородки; размер скана $2,5 \times 2,5$ мкм, диапазон вариации высоты 13 нм, размерный отрезок 500 нм

Fig. 2. SPM topography image of surface of alveolar septum surface folding; scan size 2.5×2.5 μm , height variation 13 nm, scale bar 500 nm

представлено СЗМ-изображение (15×15 мкм) участка межальвеолярной перегородки между двумя областями пузырьков. На данном изображении видно, что межальвеолярная перегородка имеет сложную наномасштабную морфологию и выраженную наноструктуру. Топология и морфологические параметры перегородок имеют важнейшее значение для функциональности альвеол и эффективности процессов газообмена [15, 16].

Используемая технология СЗНТ позволяет изучать наноразмерные особенности поверхности межальвеолярной перегородки с высоким разрешением. На рис. 2 представлено увеличенное изображение ($2,5 \times 2,5$ мкм) среза складки поверхности межальвеолярной перегородки, характеризующейся сложной формой и наноструктурой и окруженной пленкой сурфактанта.

Также важнейшим преимуществом метода СЗНТ является возможность трехмерной реконструкции тканевых структур, в частности, поверхности перегородки. На рис. 3 показано СЗМ-изображение фрагмента области границы межальвеолярной перегородки с пузырьком (16×16 мкм), имеющей сложную морфологию. Для оценки трехмерной морфологии межальвеолярной перегородки была выполнена трехмерная реконструкция данного участка при помощи

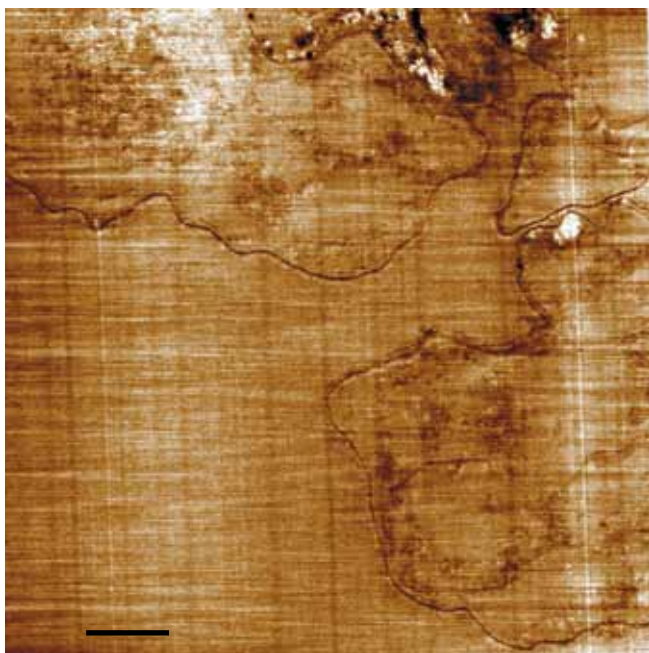


Рис. 3. АСМ-изображение топографии поверхности области границы межалвеолярной перегородки с пузырьком после среза ультрамикротомом; размер скана 16×16 мкм, диапазон вариации высоты 24 нм, размерный отрезок 2 мкм

Fig. 3. SPM topography image of the surface of a region of alveolar septum border with a alveolus; scan size 16×16 μm , height variation 24 nm, scale bar 2 μm

метода СЗНТ. Для этого выполнено 10 последовательных срезов образца толщиной 120 нм и получено 10 последовательных СЗМ-изображений участка поверхности размером 16×16 мкм. Полученная визуализация трехмерной поверхности показана на рис. 4.

Необходимо отметить, что сложная морфология поверхности межалвеолярной перегородки характеризуется значительным увеличением эффективной площади. Специализированное программное обеспечение, используемое для визуализации трехмерных реконструкций, позволяет определить как шероховатость поверхности перегородки R_a , так и удельную эффективную площадь ее поверхности σ , вычисляемую как отношение площади трехмерной поверхности к площади ее проекции на плоскость. Для полученной нами трехмерной реконструкции величина параметра удельной эффективной площади σ составляет $2,7 \pm 0,2$, что свидетельствует о высокой степени развитости поверхности. Нанощероховатость реконструированной трехмерной поверхности R_q составляет $345,4 \pm 24,5$ нм.

Интересно, что поверхность межалвеолярной перегородки часто образует изгибы и складки, приводящие к образованию внутренних пузырьков или мешочков размером в несколько микрон с узкой входной щелью. Пример изображения подобной

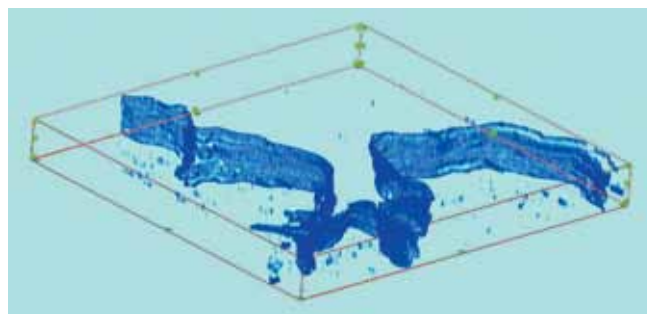


Рис. 4. Трехмерная реконструкция фрагмента поверхности межалвеолярной перегородки методом СЗНТ: $16 \times 16 \times 1,2$ мкм, толщина среза 120 нм

Fig. 4. SPNT three-dimensional reconstruction of a fragment of surface of the alveolar septum: reconstructed volume $16 \times 16 \times 1.2$ μm , section thickness 120 nm

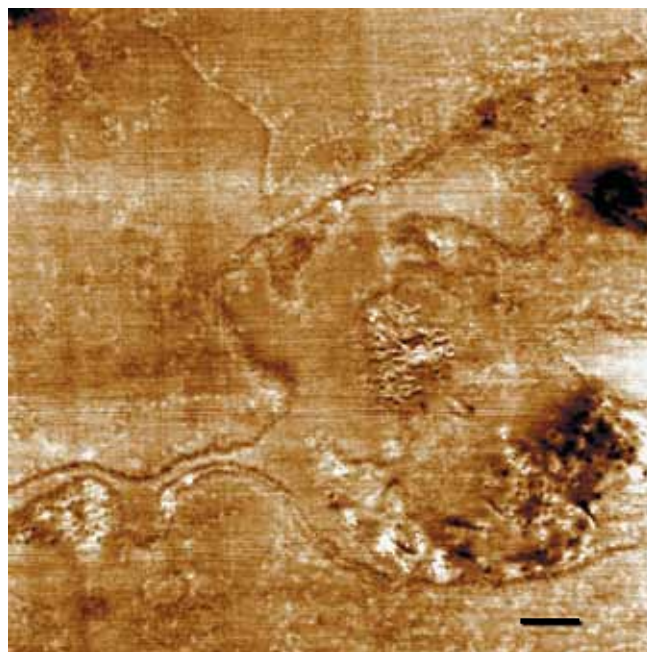


Рис. 5. СЗМ-изображение топографии поверхности фрагмента внутреннего пузырька альвеолы после среза ультрамикротомом; размер скана $5,5 \times 5,5$ мкм, диапазон вариации высоты 17 нм, размерный отрезок 500 нм

Fig. 5. SPM topography image of the surface area of an inner alveolus; scan size 5.5×5.5 μm , height variation 17 nm, scale bar 500 nm

структуры приведен на рис. 5. Заметим, что ширина воздушного «горлышка» данного внутреннего пузырька составляет около 120 нм, а поверхность перегородки во внутренней области утолщается и имеет гетерогенную структуру. Данные структуры связаны с протекающими в альвеолах процессами газообмена.

Отработанная нами методика исследования наномасштабных структур альвеол при помощи сканирующей зондовой нанотомографии применима для

решения ряда задач структурной биологии, например, актуальной проблемы исследования трехмерной организации межальвеолярных перегородок и определения их количественных морфологических параметров на наноуровне.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В представленной работе выполнены исследования наноструктурных особенностей ткани легкого крысы с использованием метода СЗНТ. Получена трехмерная реконструкция поверхности межальвеолярной перегородки в ткани легкого крысы. Показано, что сложная трехмерная морфология ее поверхности характеризуется значительным увеличением эффективной площади поверхности перегородки. Удельная эффективная площадь поверхности σ реконструированного участка межальвеолярной перегородки составляет $2,7 \pm 0,2$, что свидетельствует о высокой степени развитости поверхности.

Технология СЗНТ позволяет получать уникальную информацию о взаимосвязи наномасштабных особенностей структуры и функциональной активности клеток и тканей.

Работа выполнена частично при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки ведущих научных школ Российской Федерации НШ-2598.2020.7.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Zankel A, Wagner J, Poelt P. Serial sectioning methods for 3D investigations in materials science. *Micron*. 2014; 62: 66–78. doi: 10.1016/j.micron.2014.03.002.
2. Alekseev A, Efimov A, Loos J, Matsko N, Syurik J. Three-dimensional imaging of polymer materials by Scanning Probe Tomography. *Eur Polym J*. 2014; 52: 154–165. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2014.01.003.
3. Kremer A, Lippens S, Bartunkova S, Asselbergh B, Blanpain C, Fendrych M et al. Developing 3D SEM in a broad biological context. *J Microsc*. 2015; 259 (2): 80–96. doi: 10.1111/jmi.12211.
4. Sulkin MS, Yang F, Holzem KM, Van Leer B, Bugge C, Laughner JJ et al. Nanoscale three-dimensional imaging of the human myocyte. *J Struct Biol*. 2014; 188 (1): 55–60. doi: 10.1016/j.jsb.2014.08.005.
5. Dahl R, Larsen S, Dohlmann TL, Qvortrup K, Helge JW, Dela F, Prats C. Three-dimensional reconstruction of the human skeletal muscle mitochondrial network as a tool to assess mitochondrial content and structural organiza-

- tion. *Acta Physiol*. 2015; 213: 145–155. doi: 10.1111/apha.12289.
6. Glancy B, Hartnell LM, Malide D, Yu Z-X, Combs CA, Connelly PS et al. Mitochondrial reticulum for cellular energy distribution in muscle. *Nature*. 2015; 523: 617–620. doi: 10.1038/nature14614.
7. Bailey RJ, Geurts R, Stokes DJ, de Jong F, Barber AH. Evaluating focused ion beam induced damage in soft materials. *Micron*. 2013; 50: 51–56. doi: 10.1016/j.micron.2013.04.005.
8. Linkov P, Artemyev M, Efimov AE, Nabiev I. Comparative advantages and limitations of the basic metrology methods applied to the characterization of nanomaterials *Nanoscale*. 2013; 5: 8781–8798. doi: 10.1039/c3nr02372a.
9. Binnig G, Quate CF, Gerber C. Atomic force microscope. *Phys Rev Lett*. 1986; 56 (9): 930–933. doi: 10.1103/PhysRevLett.56.930.
10. Magonov SN, Reneker DH. Characterization of polymer surfaces with atomic force microscopy. *Annu Rev Mater Sci*. 1997; 27 (1): 175–222. doi: 10.1146/annurev.matsci.27.1.175.
11. Gallyamov MO. Scanning Force Microscopy as Applied to Conformational Studies in Macromolecular Research. *Macromol Rapid Commun*. 2011; 32 (16): 1210–1246. doi: 10.1002/marc.201100150.
12. Efimov AE, Moisenovich MM, Bogush VG, Agapov II. 3D nanostructural analysis of silk fibroin and recombinant spidroin 1 scaffolds by scanning probe nanotomography. *RSC Adv*. 2014; 4: 60943–60947. doi: 10.1039/c4ra08341e.
13. Efimov AE, Agapova OI, Safonova LA, Bobrova MM, Parfenov VA, Koudan EV et al. 3D scanning probe nanotomography of tissue spheroid fibroblasts interacting with electrospun polyurethane scaffold. *Express Polymer Letters*. 2019; 13 (7): 632–641. doi: 10.3144/expresspolymlett.2019.53.
14. Gómez-Pozos H, González-Vidal JL, Torres GA, de la Luz Olvera M, Castañeda L. Physical Characterization and Effect of Effective Surface Area on the Sensing Properties of Tin Dioxide Thin Solid Films in a Propane Atmosphere. *Sensors*. 2014; 14: 403–415. doi: 10.3390/s140100403.
15. Hsia CCW, Hyde DM, Ochs M, Weibel ER. How to Measure Lung Structure – What For? On the «Standards for the Quantitative Assessment of Lung Structure». *Respir Physiol Neurobiol*. 2010; 171 (2): 72–74. doi: 10.1016/j.resp.2010.02.016.
16. Yang L, Feuchtinger A, Möller W, Ding Y, Kutschke D, Möller G et al. Three-Dimensional Quantitative Co-Mapping of Pulmonary Morphology and Nanoparticle Distribution with Cellular Resolution in Nondissected Murine Lungs. *ACS Nano*. 2019; 13 (2): 1029–1041. doi: 10.1021/acsnano.8b07524.

*Статья поступила в редакцию 22.06.2020 г.
The article was submitted to the journal on 22.06.2020*

ВЛИЯНИЕ КОМПОНЕНТОВ МИКРОЭМУЛЬСИОННОЙ СИСТЕМЫ НА ТРАНСДЕРМАЛЬНЫЙ ПЕРЕНОС ИММУНОМОДУЛЯТОРА ГЛЮКОЗАМИНИЛМУРАМИЛДИПЕПТИДА

Е.Г. Кузнецова¹, О.М. Курылева¹, Л.А. Саломатина¹, С.В. Курсаков², С.В. Гурьянова^{3, 4}, В.И. Севастьянов^{1, 2}

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

² Автономная некоммерческая организация «Институт медико-биологических исследований и технологий», Москва, Российская Федерация

³ ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Медицинский институт, Москва, Российская Федерация

⁴ ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук», Москва, Российская Федерация

Введение. В данной статье продемонстрирован химический способ усиления трансдермального переноса на примере иммуномодулятора глюкозаминилмурамилдипептида (ГМДП). **Целью** работы является исследование *in vitro* влияния различных компонентов микроэмульсионной композиции на диффузию ГМДП через кожу из трансдермальной терапевтической системы (ТТС). **Материалы и методы.** Лекарственная субстанция – глюкозаминилмурамилдипептид (АО «Пептек», Россия). Вспомогательные вещества и сырье: хлорид натрия, вода очищенная, додецилсульфат натрия, докучат натрия, кора дуба, масло ядер абрикосовых косточек, альфа-токоферола ацетат и эмульгатор Decaglyn PR-20. Оборудование: механический диспергатор Heidolph DIAH900 (Германия) и ультразвуковой гомогенизатор Heilscher UIS250V (Германия). Исследование диффузии ГМДП из ТТС через неконсервированную кожу кролика проводили на анализаторе диффузии Corley (Великобритания). Определение ГМДП в водных растворах выполняли методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на хроматографе Agilent 1200 (Agilent Technologies, США). **Результаты.** Разработан состав микроэмульсионной композиции, содержащий 20% докучата натрия в масляной фазе и отвар коры дуба в качестве водной фазы, который позволил увеличить трансдермальный перенос ГМДП на ~ 70% по сравнению с базовым составом. **Заключение.** Определены характеристические параметры состава микроэмульсионной композиции для ТТС ГМДП, влияющие на диффузию иммуномодулятора через неконсервированную кожу кролика *in vitro*. Для корректной оценки результатов разных серий экспериментов *in vitro* с биологическими объектами целесообразно введение относительных показателей.

Ключевые слова: трансдермальная терапевтическая система, микроэмульсия, иммуномодулятор, диффузия лекарственного вещества.

Для корреспонденции: Кузнецова Евгения Геннадьевна. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (499) 196-26-61. E-mail: kuzeugenia@gmail.com

Corresponding author: Evgeniya Kuznetsova. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (499) 196-26-61. E-mail: kuzeugenia@gmail.com

INFLUENCE OF MICROEMULSION COMPONENTS ON TRANSDERMAL DELIVERY OF IMMUNOMODULATOR GLUCOSAMINYLMURAMYL DIPEPTIDE

E.G. Kuznetsova¹, O.M. Kuryleva¹, L.A. Salomatina¹, S.V. Kursakov², S.V. Guryanova^{3, 4}, V.I. Sevastyanov^{1, 2}

¹ Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation

² Institute for Biomedical Research and Technology, Moscow, Russian Federation

³ Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

⁴ Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Moscow, Russian Federation

This paper demonstrates a chemical way of enhancing transdermal delivery using immunomodulator glucosaminylmuramyl dipeptide (GMDP) as an example. **Objective:** to study *in vitro* the effect of various components of the microemulsion composition on GMDP diffusion through the skin from a transdermal therapeutic system (TTS). **Materials and methods.** Medicinal substance – glucosaminylmuramyl dipeptide (Peptek, Russia). Excipients and raw materials: sodium chloride, purified water, sodium dodecyl sulfate, docusate sodium, oak bark, apricot kernel oil, alpha-tocopheryl acetate and Decaglyn PR-20 emulsifier. Equipment: Heidolph DIAX 900 mechanical disperser (Germany) and Hielscher UIS250V ultrasonic homogenizer (Germany). GMDP diffusion from TTS through unpreserved rabbit skin was studied on diffusion tester Copley (UK). GMDP in aqueous solutions was determined by reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC) on an Agilent 1200 chromatography system (Agilent Technologies, USA). **Results.** A microemulsion system composed of 20% docusate sodium in an oil phase and an oak bark decoction as an aqueous phase was developed. This made it possible to increase GMDP transdermal delivery by ~70% in comparison with the basic composition. **Conclusion.** The characteristic parameters of microemulsion components of GMDP contained in TTS, influencing GMDP diffusion through unpreserved rabbit skin *in vitro*, were determined. Introducing relative indicators would be advisable in order to correctly evaluate the results of different series of *in vitro* experiments with biological objects.

Keywords: transdermal therapeutic system, microemulsion, immunomodulator, drug diffusion.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время 74% всех лекарственных средств применяются перорально, однако такая лекарственная форма часто не обладает достаточной эффективностью из-за низкой биодоступности. Для ее повышения в качестве пути введения можно использовать неповрежденную кожу, что требует создания соответствующей лекарственной формы, а именно трансдермальной терапевтической системы (ТТС) [1].

Основной проблемой при разработке трансдермальных систем доставки является преодоление лекарственным веществом (ЛВ) кожного барьера, и главным образом рогового слоя. Исследователи используют различные химические, физические или комбинированные подходы к увеличению кожной абсорбции и чрескожной диффузии, выбор которых определяется характеристическими свойствами ЛВ [1, 2].

Физические методы всегда подразумевают использование какого-либо прибора, что делает данный способ усиления проницаемости кожи дорогим и не всегда удобным в использовании для пациента [2].

Суть химического способа заключается либо в модифицировании молекул ЛВ, либо во введении в ТТС активаторов переноса, которые могут непосредственно оказывать свое влияние на структуру кожи. Их часто вводят в составе сложных рецептур, например микро- и наноэмульсий, бифазных везикул, сфероидных частиц или липосом [3].

На наш взгляд, к наиболее эффективным из вышеперечисленных химических способов усиления чрескожной доставки ЛВ относятся нано- и микроэмульсии благодаря возможности широкого выбора активаторов переноса для конкретной лекарственной субстанции, простоте изготовления и небольшой стоимости. Кроме того, субмикронные размеры дисперсной фазы и высокая сорбционная емкость микроэмульсий позволяют добиться заметного увеличения диффузии некоторых ЛВ через кожу. При введении ЛВ в эмульсии в ряде случаев становится возможным избежать гидролиза, разложения и окисления внесенных субстанций [4]. Также при их использовании удастся предотвратить раздражение кожи, которое иногда наблюдается при контакте с активным веществом [4–7]. Перспективность применения микроэмульсионных композиций была нами доказана при создании ТТС с такими лекарственными

ми субстанциями, как инсулин, бромокаин, кофеин и другие [8–10]. Выбор компонентов и их соотношения в микроэмульсионной композиции зависит от природы лекарственной субстанции [5, 6, 11].

Спектр лекарственных препаратов, которые могут применяться в форме ТТС с использованием микроэмульсий, достаточно широк. Наибольший интерес в последнее время представляют препараты из фармакологической группы иммуномодулирующих средств. Доставка иммуномодулятора (ИМ) в виде ТТС при необходимости поддержания в крови его постоянной концентрации может быть актуальна для целого ряда пациентов: детей, людей с затрудненными функциями разжевывания и проглатывания, лежащих больных, в том числе в тяжелом состоянии при инфекционных заболеваниях.

Глюкозаминилмурамилдипептид (ГМДП) – синтетический аналог структурного фрагмента оболочки (пептидогликана) бактериальных клеток – является активатором врожденного и приобретенного иммунитета, усиливает защиту организма от вирусных, бактериальных и грибковых инфекций, оказывает адъювантный эффект в развитии иммунологических реакций [12].

В России препарат с ГМДП выпускается только в форме таблеток под торговым наименованием «Ликопид®» (регистрационное удостоверение № ЛС-001438) [13]. Высокая эффективность и безопасность применения ГМДП, подтвержденные результатами клинических испытаний [14], определяют перспективность разработки его новых лекарственных форм, в том числе и трансдермальной терапевтической системы.

При разработке состава многокомпонентных микроэмульсий необходимым этапом является сравнительный анализ вклада основных компонентов эмульсионной композиции в чрескожный перенос конкретного ЛВ.

Целью работы является исследование *in vitro* влияния различных компонентов микроэмульсионной композиции на диффузию ГМДП через кожу из трансдермальной терапевтической системы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При разработке различных составов эмульсионных композиций для ТТС использовали вспомогательные вещества, разрешенные к медицинскому применению и отвечающие требованиям действующей нормативной документации.

В качестве лекарственной субстанции был взят глюкозаминилмурамилдипептид ($C_{25}H_{43}N_5O_{15}$) производства АО «Пептек», Россия.

Для изготовления микроэмульсии применяли: воду очищенную (ФС 42-2620-97, дистиллятор ДЭ-10 и фильтр «MILLIPORE SIMPAKOR 1»); 0,9% раствор натрия хлорида (раствор для инфузий ОАО

НПК ЭСКОМ); додецилсульфат натрия (CAS 151-21-3, Appli Chem Panreac, Испания); кору дуба (АО «Красногорсклексредства», Россия); масло ядер абрикосовых косточек (CAS 72869-69-3, Desert Whale Jojoba Company Ltd., США); докузат натрия (ДНС) (D4422-50G, Sigma, США); альфа-токоферола ацетат (Customer Product #4904352421, BASF SE, Германия); эмульгатор NIKKOL Decaglyn PR-20 (CAS 29894-35-7, Nikko Chemicals Co., Ltd, Япония).

В качестве депо микроэмульсионной композиции в трансдермальной терапевтической системе служил сорбирующий слой повязки (ПАЛВ-01, ООО «Группа Компаний Пальма», Россия), а водонепроницаемой защитной основой – пленка Scotchpak (97303M, США).

Для определения ГМДП методом ВЭЖХ применяли следующие реактивы: ацетонитрил (for UHPLC, AppliChem GmbH – AnITWCompany, Германия); калия гидрофосфат (extra pure, Scharlab S.L., Испания); калия дигидрофосфат (extra pure, Scharlab S.L., Испания).

Оборудование, использованное в работе: весы аналитические (GH-200 AND, Япония); мешалка магнитная с нагревом (IKA, Германия); механический погружной диспергатор (T18 basic Ultra-Turrax IKA-WERKE GmbH & Co. Kg, Германия); ультразвуковой гомогенизатор (UIS 250V Heilscher, Германия); анализатор диффузии препаратов (HDT 1000 Copley Scientific Ltd., Великобритания); анализатор дисперсий (LUMi Sizer, Германия); спектрофотометр (UV-2600 Shimadzu, Япония); анализатор влажности (MX-50 AND, Япония); хроматографическая система (1200 Agilent Technologies, США).

Изготовление лабораторных образцов ТТС ГМДП

Изготовление лабораторных образцов микроэмульсионных ТТС ГМДП проводили согласно разработанной ранее методике [8]. Каждая ТТС размером 1 см² содержала 0,1 г микроэмульсионной композиции.

Приготовление отвара коры дуба

Навеску коры дуба 5 г помещали в коническую колбу объемом 200 мл и заливали 100 мл воды очищенной, затем нагревали до 90 °С на водяной бане в течение 30 минут. После этого охлаждали до комнатной температуры в течение 1 часа. Затем отвар переливали в мерную колбу объемом 100 мл через фильтровальную бумагу и доводили объем водой очищенной до метки. В мерную колбу объемом 100 мл помещали 10 мл отвара коры дуба и доводили объем водой очищенной до метки.

Определение влажности лекарственного растительного сырья коры дуба

Определение влажности коры дуба проводили в соответствии с требованиями ОФС 1.5.3.0007.15 «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» с использованием анализатора влажности. Влажность W сырья в процентах вычисляли по формуле:

$$W = \frac{(m - m_1) \times 100}{m},$$

где m – масса до высушивания, г; m_1 – масса после высушивания, г.

Влажность сырья составила $(8,2 \pm 0,8)\%$, $n = 5$.

Определение содержания дубильных веществ в отваре коры дуба

Количество дубильных веществ в растительном сырье определяли методом спектрофотометрии при длине волны 277 нм (Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище. Руководство. Р 4.1.1672-03, 2004 г.). Аликвоту отвара коры дуба, равную 1 мл, помещали в мерную колбу объемом 50 мл и доводили водой очищенной до метки. В качестве раствора сравнения использовали воду очищенную. Суммарное содержание дубильных веществ в коре дуба X , % в пересчете на галловую кислоту рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{D_1 \times V_1 \times V_2 \times 100\%}{D_2 \times V_3 \times m \times (100\% - W) \times 1000},$$

где D_1 – оптическая плотность исследуемого раствора; D_2 – оптическая плотность раствора галловой кислоты с концентрацией 1 мг/мл (0,508); m – масса навески сырья, г; V_1 – общий объем водного извлечения, 100 мл; V_2 – объем колбы при разведении, 50 мл; V_3 – объем аликвотной пробы, 1 мл; W – влажность сырья, %.

Методы исследования эмульсионных композиций

Определение размеров частиц микроэмульсионной композиции с ГМДП по времени ее расслоения проводили на анализаторе дисперсий в инфракрасном свете (865 нм) при 40 °С. Профили прохождения света записывали каждые 600 секунд при скорости вращения ротора 4000 об/мин, световой фактор был выбран равным 3.

Лабораторные животные

В экспериментах *in vitro* по изучению диффузии иммуномодулятора из ТТС была использована кожа кроликов-самцов породы Новозеландский белый массой 2–2,5 кг, полученные из питомника лабораторных

животных ООО «КролИнфо». 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).

Исследование диффузии лекарственного вещества через кожу *in vitro*

После эвтаназии животного проводили забор лоскута кожи в области живота с предварительно удаленным волосным покровом.

Динамику выхода ГМДП из ТТС изучали в стеклянных диффузионных ячейках Франца по стандартной методике [9]. Продолжительность экспериментов составила 24 часа. Пробы водных растворов ГМДП, отобранные в ходе эксперимента из приемных камер диффузионных ячеек, исследовали методом ВЭЖХ.

Количество ЛВ, прошедшего через неконсервированную кожу кролика с контактной площадью ТТС (ω), вычисляли следующим образом:

$$\omega = \frac{C \times V}{M} \times 100\%,$$

где C – концентрация ГМДП в приемной камере диффузионной ячейки Франца, мг/мл; V – объем приемной камеры диффузионной ячейки, мл; M – содержание ГМДП в ТТС на контактной площади, мг.

Скорость трансдермальной диффузии ЛВ может сильно отличаться у лабораторных животных даже одного помета из-за разной толщины и плотности кожного лоскута. В связи с этим сравнительный анализ действия различных составов микроэмульсионной композиции для ТТС на чрескожный перенос ЛВ целесообразно проводить в относительных единицах. Относительное количество $\omega_{\text{отн}(i,j)}$ рассчитывали по следующей формуле:

$$\omega_{\text{отн}(i,j)} = \frac{\omega_j}{\omega_i},$$

где i, j – номера микроэмульсионных композиций (табл. 2).

Метод ВЭЖХ исследования водных растворов ГМДП

Ранее авторами была разработана методика количественного определения глюкозаминилмурамилдипептида в водных растворах методом обращенно-фазовой ВЭЖХ [12].

Хроматографическое разделение проводили в изократическом режиме на колонке MediterraneaSea18 15×0,4 см, 5 мкм (Teknokroma Analitica SA, Испания), с предколонкой размером 8×4 мм, заполненной тем же сорбентом. Температура термостата колонки –25 °С. Объем вводимой пробы – 10 мкл. Подвиж-

ная фаза – смесь ацетонитрил: 25 мМ фосфатный буферный раствор (3 : 97), pH 7,3. Фосфатный буферный раствор готовили смешением 25 мМ раствора K_2HPO_4 с 25 мМ раствором KH_2PO_4 в соотношении 80 : 20. Элюент предварительно фильтровали и дегазировали на устройстве для фильтрования под вакуумом. Скорость потока подвижной фазы – 0,7 мл/мин. Детектирование проводили при длине волны 200 нм, соответствующей максимуму поглощения ГМДП. Время хроматографирования – 10 мин, время удерживания аномеров ГМДП – около 3,3 и 4,9 мин.

Регистрация и обработка хроматографических данных выполнены с помощью программного обеспечения ChemStation (Agilent Technologies, США). Статистическую обработку результатов проводили в соответствии с ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» с помощью программного обеспечения Microsoft Office Excel 2010.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В качестве микроэмульсионной композиции для ТТС ГМДП был выбран базовый состав (табл. 1), разработанный нами ранее для переноса через кожу лекарственных веществ различных фармакологических групп и молекулярной массы, таких как инсулин [10], анилокаин [9], аминодигидрофалазиндион натрия [8].

При выборе растительных масел для аппликационных лекарственных форм особое значение имеет жирнокислотный состав [15, 16]. Основой масляной фазы микроэмульсионной композиции служило масло ядер абрикосовых косточек (кислотное число 0,04), которое содержит большое количество олеиновой кислоты (от 55 до 70%), за счет чего хорошо впитывается в глубокие слои кожи и усиливает проникновение в роговой слой активных компонентов. Кроме того, масло косточек абрикоса имеет малую вязкость, что позволяет использовать его в качестве растворителя липофильных активаторов переноса

лекарственных веществ, в нашем случае – витамина Е и докузата натрия.

Выбранная микроэмульсионная композиция, содержащая ГМДП, имела размер частиц от 1 до 15 мкм и очень высокую стабильность: она расслоилась лишь частично при центрифугировании и нагревании до 40 °С в течение 12 часов. Такую стабильность микроэмульсии можно объяснить тем, что лекарственные вещества белковой природы могут выступать в качестве стабилизатора. Подобный эффект авторы наблюдали при разработке эмульсионной ТТС инсулина [10].

Исследуемое лекарственное вещество глюкозаминилмурамилдипептид обладает не столь большой, с точки зрения чрескожного переноса, молекулярной массой (695,67 г/моль) в сравнении, например, с инсулином (5500 г/моль). Тем не менее количество ГМДП (ω), продиффундировавшее из ТТС с контактной площади через неконсервированную кожу *in vitro* за 24 часа, составило лишь $(14,4 \pm 3,0) \%$ ($n = 10$) от содержавшегося в образце.

Для выяснения роли того или иного компонента микроэмульсионной композиции в трансдермальной диффузии ЛВ (при его постоянной концентрации в ТТС 46 мг/г) было изготовлено 5 микроэмульсионных композиций (табл. 2), отличающихся от предварительно выбранной (базовой) композиции № 1 по следующим показателям: изменение количества масляной фазы; увеличение концентрации активатора переноса докузата натрия в масляной фазе; введение гидрофильных активаторов чрескожного переноса додецил сульфата натрия или хлорида натрия; использование в качестве водной фазы микроэмульсии отвара коры дуба, хорошо известного источника биологически-активных веществ, применяемого в медицинской практике при лечении заболеваний кожи [17].

В табл. 3 приведены результаты чрескожной диффузии ГМДП из ТТС с разными составами микро-

Таблица 1

Базовый состав № 1 микроэмульсионной композиции
The base composition № 1 of the microemulsion composition

	Наименование вещества	Назначение в ТТС	Характеристика
Водная фаза	Вода очищенная	Основа водной фазы	ФС 42-2620-97
	ГМДП	Лекарственная субстанция	Гидрофильный порошок белого цвета
Масляная фаза	Масло ядер абрикосовых косточек	Основа масляной фазы	Содержит линолевую (30–45%) и олеиновую (55–70%) кислоты
	α -токоферола ацетат	Разрыхлитель кожи и антиоксидант	Липофильная жидкость
	Докузат натрия	Переносчик ЛВ	Амфифильный анионный детергент
	Decaglyn PR-20	Эмульгатор	Липофильное поверхностно-активное вещество с гидрофильно-липофильным балансом 3,2

Таблица 2

Изменения в составах микроэмульсионной композиции с ГМДП по сравнению с базовым составом
Changes in microemulsion compositions with GMDP compared with the base composition

Номер состава	Водная фаза	Масляная фаза
2	Уменьшение объема очищенной воды в 1,9 раза	Увеличение объема 1,7 раза
3	Раствор 0,5% додецилсульфата натрия	Аналогично базовому составу
4	Раствор 0,9% натрия хлорида	Аналогично базовому составу
5	Аналогично базовому составу	Увеличение содержания докузата натрия с 15 до 20%
6	Отвар коры дуба (концентрация галловой кислоты $2,60 \pm 0,18\%$, $n = 5$)	Увеличение содержания докузата натрия с 15 до 20%

Таблица 3

Относительное количество ГМДП (%), прошедшее через неконсервированную кожу кролика, для ТТС различного состава

Relative amount of GMDP (%), passed through unreserved rabbit skin, for TTS of various composition

Номер микроэмульсионной композиции	Относительное количество $\omega_{\text{отн}(i,j)}$
2	$\omega_{\text{отн}(1,2)} = 0,62 \pm 0,24$
3	$\omega_{\text{отн}(1,3)} = 0,85 \pm 0,14$
4	$\omega_{\text{отн}(1,4)} = 0,68 \pm 0,05$
5	$\omega_{\text{отн}(1,5)} = 1,44 \pm 0,30$
6	$\omega_{\text{отн}(5,6)} = 1,16 \pm 0,19$
	$\omega_{\text{отн}(1,6)} = 1,67 \pm 0,26$

эмульсионной композиции за 24 часа *in vitro* в относительных величинах.

Изменения базовой микроэмульсионной композиции в случае составов № 2, 3 и 4 не привели к увеличению выхода ГМДП из ТТС через неконсервированную кожу кролика.

Для ТТС с микроэмульсионной композицией № 5, в которой концентрация переносчика докузата натрия в масляной фазе составила 20%, наблюдали увеличение трансдермального переноса ГМДП на 44% по сравнению с базовым составом № 1, содержащим 15% того же переносчика. Использование в качестве дисперсной фазы микроэмульсии водного извлечения коры дуба (состав № 6) позволило дополнительно увеличить чрескожную диффузию ГМДП по сравнению с составом № 5 еще на 16%.

Таким образом, одновременное повышение содержания докузата натрия в масляной фазе до 20% и использование водного извлечения коры дуба (состав № 6) привело к увеличению чрескожного переноса ГМДП на 67% по сравнению с базовым составом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследовано влияние изменения состава и соотношения фаз микроэмульсионных композиций на

диффузию ГМДП из ТТС через неконсервированную кожу кролика *in vitro*.

Разработанный состав микроэмульсионной композиции, содержащий 20% докузата натрия в масляной фазе и отвар коры дуба в качестве водной фазы, позволил увеличить трансдермальный перенос ГМДП примерно на 70% по сравнению с базовым составом, использованным нами при разработке ряда ТТС [8–10].

Для корректной оценки результатов разных серий экспериментов *in vitro* с биологическими объектами целесообразно введение относительных показателей.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Marwah H, Garg T, Goyal AK, Rath G. Permeation enhancer strategies in transdermal drug delivery. *Journal Drug Delivery*. 2016; 23: 564–578. doi: 10.3109/10717544.2014.935532.
2. Huzill JT, Sivaloganathan S, Kohandel M, Foldvari M. Drug delivery through the skin: molecular simulations of barrier lipids to design more effective noninvasive dermal and transdermal delivery systems for small molecules, biologics, and cosmetics. www.wiley.com/wires/nanomed.
3. Otto A, du Plessis J, Wiechers JW. Formulation effects of topical emulsions on transdermal and dermal delivery. *International Journal Cosmetic Science*. 2009; 31 (1): 1–19. doi: 10.1111/j.1468-2494.2008.00467.x.
4. Kogan A, Garti N. Microemulsions as transdermal drug delivery vehicles. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2006; 123–126: 369–385. doi: 10.1016/j.cis.2006.05.014.
5. Azeem A, Khan ZI, Aqil M, Ahmad FJ, Khar RK, Talegaonkar S. Microemulsions as a surrogate carrier for dermal drug delivery. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2009; 35 (5): 525–547. doi: 10.1080/03639040802448646.
6. Lopes LB. Overcoming the cutaneous barrier with microemulsions. *Pharmaceutics*. 2014; 6 (1): 52–77. doi: 10.3390/pharmaceutics6010052.

7. Heuschkel S, Goebel A, Neubert RH. Microemulsions – modern colloidal carrier for dermal and transdermal drug delivery. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2008; 97 (2): 603–631. doi.org/10.1002/jps.20995.
8. Кузнецова ЕГ, Курьева ОМ, Саломатина ЛА, Севастьянов ВИ. Экспериментальное исследование диффузии иммуномодулятора Галавит® в модельной системе. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2020; 9 (1): 92–97. Kuznetsova EG, Kuryleva OM, Salomatina LA, Sevastyanov VI. Eksperimental'noe issledovanie diffuzii immunomodulyatora Galavit® v model'noj sisteme. *Razrabotka i registraciya lekarstvennyh sredstv*. 2020; 9 (1): 92–97. doi: 10.33380/2305-2066-2020-9-1-92-97. (in Russ., English abstract).
9. Ryzhikova VA, Tikhobayeva AA, Salomatina LA, Kursakov SV, Kuznetsova EG, Kuryleva OM, Sevastyanov VI. Effect of the transfer activator on functional properties of the bromocain matrix transdermal therapeutic systems. *Inorganic Materials: applied research*. 2014; 5 (5): 498–503. doi: 10.1134/s2075113314050177.
10. Кузнецова ЕГ, Рыжикова ВА, Саломатина ЛА, Севастьянов ВИ. Исследование характеристических параметров микроэмульсионной композиции для трансдермальной доставки инсулина. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2017; 2 (19): 34–40. Kuznetsova EG, Ryzhikova VA, Salomatina LA, Sevastyanov VI. Issledovanie harakteristicheskikh parametrov mikroemul'sionnoj kompozicii dlya transdermal'noj dostavki insulina. *Razrabotka i registraciya lekarstvennyh sredstv*. 2017; 2: 66–72. (In Russ., English abstract).
11. Date AA, Patravale VB. Microemulsions: applications in transdermal and dermal delivery. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*. 2007; 24 (6): 547–596. doi: 10.1615/critrevtherdrugcarriersyst.v24.i6.20
12. Курсаков СВ, Кузнецова ЕГ, Курьева ОМ, Саломатина ЛА, Гурьянова СВ, Борисова ОЮ и др. Разработка и валидация методики определения глюкозаминилмурамилдипептида в водных растворах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. *Иммунология*. 2020, 41 (1): 74–82. Kursakov SV, Kuznetsova EG, Kuryleva OM, Salomatina LA, Gurjanova SV, Borisova OJu I dr. Razrabotka i validaciya metodiki opredeleniya glyukozaminilmuramildipeptida v vodnyh rastvorah metodom vysokoeffektivnoj zhidkostnoj hromatografii. *Immunologiya*. 2020, 41 (1): 74–82. (In Russ., English abstract).
13. Государственный реестр лекарственных средств 2020 г. Gosudarstvennyj reestr lekarstvennyh sredstv 2020 g. (In Russ.).
14. Хаитов РМ, Пинегин БВ, Андропова ТМ. Отечественные иммуностропные лекарственные средства последнего поколения и стратегия их применения. *Лечащий врач*. 1998; 4: 46–51. Haitov RM, Pinegin BV, Andronova TM. Otechestvennye immunotropnye lekarstvennye sredstva poslednego pokoleniya i strategiya ih primeneniya. *Lechashhij vrach*. 1998; 4: 46–51. (In Russ.).
15. Шепель ВС. О составлении смесей растительных масел для косметических композиций [Электронный ресурс] – http://www.tusheflora.ru/review/publications/2010/o_sostavlenii_smesej_rastitelnih_masel_dlya_kosmeticheskikh_kompozitsij/, свободный. Shepel' VS. O sostavlenii smesej rastitel'nyh masel dlya kosmeticheskikh kompozitsij [Elektronnyy resurs] – http://www.tusheflora.ru/review/publications/2010/o_sostavlenii_smesej_rastitelnih_masel_dlya_kosmeticheskikh_kompozitsij/, svobodnyy. (In Russ.).
16. Быкова СФ, Давиденко ЕК, Ефименко СГ. Перспективы развития сырьевой базы производства новых типов пищевых растительных масел. *Масла и жиры*. 2014; 1: 20–25. Bykova SF, Davidenko EK, Efimenko SG. Perspektivy razvitiya syr'evoy bazy proizvodstva novyh tipov pishchevyh rastitel'nyh masel. *Masla i zhiry*. 2014; 1: 20–25. (In Russ.).
17. Хохленкова НВ. Разработка промышленной технологии салфеток с густым экстрактом коры дуба и натрия альгинатом. *Вестник фармации*. 2013; 2 (60): 40–47. Hohlenkova NV. Razrabotka promyshlennoj tekhnologii salfetok s gustym ekstraktom kory duba i natriya al'ginatom *Vestnik farmacii*. 2013; 2 (60): 40–47 (In Russ.).

Статья поступила в редакцию 30.06.2020 г.
The article was submitted to the journal on 30.06.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-3-156-166

ЭФФЕКТ ИНТРАМИОКАРДИАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ АЛЛОГЕННОГО БИОМАТЕРИАЛА НА УРОВЕНЬ АНГИОГЕНЕЗА И РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ ПОСТИШЕМИЧЕСКОГО РУБЦА У КРЫС

А.И. Лебедева¹, С.А. Муслимов¹, Л.А. Мусина¹, Е.М. Гареев¹, Р.З. Кадыров¹,
Д.С. Кондратьева², С.А. Афанасьев², С.В. Попов²

¹ ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии» Минздрава России, Уфа, Российская Федерация

² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт кардиологии Томского национального исследовательского медицинского центра», Томск, Российская Федерация

Проблемы нивелирования рубца, стимуляция ангиогенеза и кардиомиогенеза при инфаркте миокарда не теряют своей актуальности, несмотря на многообразие существующих методов. Одним из способов их коррекции предлагается интрамиокардиальная имплантация суспензии децеллюляризованного биоматериала (ДЦБМ), изготовленного из волокнистых соединительно-тканых образований аллогенного происхождения. ДЦБМ служит ингибитором фибронеогенеза в различных тканях с хроническими воспалительными процессами. В отношении острого инфаркта миокарда исследования не проводились. **Цель.** Оценка динамики численности bFGF-1 позитивных клеток, макрофагов CD 68, степени ангиогенеза в условиях применения ДЦБМ при формировании постинфарктного рубца в эксперименте. **Материалы и методы.** Экспериментальные исследования были проведены на 100 крысах-самцах породы Вистар массой 0,18–0,25 кг. Всем животным проведено лигирование коронарной артерии. В опытной группе интрамиокардиально вводили суспензию ДЦБМ (12 мг). В работе использовали гистологические, электронно-микроскопические, иммуногистохимические (CD 68, bFGF-1), морфометрические и статистические методы исследования. Забор сердец проводили через 3, 7, 14, 30, 45 суток. **Результаты.** Использование аллогенного биоматериала сразу после стенозирования коронарной артерии позволяет более чем в 2 раза уменьшить площадь рубцового перерождения миокарда за счет ускорения течения воспалительного ответа и наступления ранней пролиферативной фазы. В реактивной зоне после имплантации ДЦБМ значительно снижалась инфильтрация миокарда макрофагами по сравнению с контрольной группой. Использование ДЦБМ обеспечивало значительное преобладание bFGF-1⁺-клеток в начальный период воспаления (3–14 суток). В последующем (14–45 суток) экспрессия фиброкина становилась в разы меньше, что соответствовало биодеградации и резорбции биоматериала. В контрольной же группе в период острой фазы воспаления (3–14 суток) уровень bFGF-1⁺-клеток был низким, а в последующем (14–45 суток) экспрессия цитокина значительно увеличивалась, что вызывало стремительное накопление коллагеновых волокон и рубцевание. В процессе формирования постинфарктного регенерата в эксперименте ДЦБМ стимулировал ангиогенез, уровень которого превышал показатели контрольной группы в три раза. Отмечено, что биоматериал служил регулятором баланса неофибриллогенеза-фиброклазии в ткани. **Заключение.** Одним из направлений стратегии терапевтической коррекции при ишемических повреждениях миокарда следует указать ингибирование миграции макрофагов и подавление их провоспалительной направленности. В качестве такой альтернативы может являться аллогенный децеллюляризованный биоматериал, изготовленный из экстраклеточного матрикса, примененный в острой фазе воспаления миокарда.

Ключевые слова: миокард, аллогенный биоматериал, регенерация, bFGF, макрофаги.

Для корреспонденции: Лебедева Анна Ивановна. Адрес: 450075, Уфа, ул. Р. Зорге, 67/1.
Тел. (347) 293-42-35. E-mail: Jeol02@mail.ru

Corresponding author: Anna Lebedeva. Address: 67/1, R. Zorge str., Ufa, 450075, Russian Federation.
Phone: (347) 293-42-35. E-mail: Jeol02@mail.ru

EFFECT OF INTRAMYOCARDIAL ALLOGENIC BIOMATERIAL INJECTION ON ANGIOGENESIS AND POSTISCHEMIC SCAR REMODELING IN RATS

A.I. Lebedeva¹, S.A. Muslimov¹, L.A. Musina¹, E.M. Gareev¹, R.Z. Kadyrov¹,
D.S. Condratyeva², S.A. Afanasiev², S.V. Popov²

¹ All-Russian Center for Eye and Plastic Surgery, Ufa, Russian Federation

² Research Institute of Cardiology, Tomsk National Research Medical Center, Tomsk, Russian Federation

Scar smoothing out, angiogenesis stimulation and cardiomyogenesis in myocardial infarction still remain pressing issues despite the variety of existing methods. One of the ways to correct them is intramyocardial implantation of an alloplant biomaterial (ABM) suspension. ABM serves as an inhibitor of fibronogenesis in various tissues with chronic inflammatory processes. No studies have been carried out with regards to acute myocardial infarction. **Objective:** to assess the dynamics of the number of bFGF-1⁺ cells and CD68 macrophages, the degree of angiogenesis amidst the use of ABM in the formation of postinfarction scar in the experiment. **Materials and methods.** Experimental studies were performed on 100 male Wistar rats weighing 0.18–0.25 kg. Coronary artery ligation was performed on all animals. In the experimental group, the ABM suspension (12 mg) was injected intramyocardially. We used histological, electron microscopic, immunohistochemical (CD68, bFGF-1), morphometric and statistical research methods. Hearts were procured at day 3, 7, 14, 30, and 45. **Results.** The use of an allogeneic biomaterial immediately after coronary artery stenosis could reduce the area of cicatricial myocardial degeneration by two fold by accelerating inflammatory response and the onset of early proliferative phase. In the reactive zone after ABM implantation, macrophage myocardial infiltration significantly decreased in comparison to the control group. The use of ABM ensures significant predominance of bFGF-1⁺ cells in the initial period of inflammation (3–14 days). Subsequently (14–45 days), inflammatory cytokine expression became several times less, which corresponded to biodegradation and resorption of the biomaterial. In the control group, during the acute phase of inflammation (3–14 days), bFGF-1⁺ cells were low in number. Subsequently (14–45 days), cytokine expression increased significantly, causing rapid accumulation of collagen fibers and scarring. In myocardial regeneration after a heart attack in the experiment, ABM stimulated angiogenesis, whose level was three times higher than in the control group. It was noted that ABM serves as a regulator of the neofibrillogenesis-fibroclasia balance in tissue. **Conclusion.** Macrophage migration inhibition and suppression of pro-inflammatory orientation of macrophages should be indicated as one of the directions of therapeutic correction strategy for ischemic myocardial injuries. Alloplant biomaterial used in the acute phase of myocardial inflammation can serve as such alternative.

Keywords: myocardium, allogeneic biomaterial, regeneration, bFGF, macrophages.

Проблема нивелирования рубца, стимуляция ангиогенеза и кардиомиогенеза при инфаркте миокарда остается актуальной по сей день. Такие методы регенеративной медицины, как генные, клеточные технологии, наряду с неоспоримыми достоинствами имеют и определенные недостатки. Введение генных конструкций в миокард приводит к ангиогенезу и ограничению рубца. Однако внедрение плазмидного вектора не достигает адекватной степени трансфекции кардиомиоцитов (не более 10%). Частое развитие иммунных реакций на вирусные белки, недолговечность в тканях ограничивают их широкое применение [1].

Использование клеточных продуктов также не имеет достаточно высокой эффективности, они сложны в изготовлении, несут опасность инфицирования, тератогенности и т. д. Даже при выполнении всех требований биологической безопасности клеточные продукты не интегрируются в ткани реципиента, а

оказывают только паракринный эффект [2]. Также уделяется большое внимание использованию различного рода биоматериалов для регенерации поврежденных тканей и органов. Все рассматриваемые методы сталкиваются с одной проблемой. В настоящее время не существует доступных и результативных методов борьбы с избыточным фиброзированием при ремоделировании постишемического миокарда. Известно, что биоматериалы серии Аллоплант® служат ингибитором фибронегенеза [3]. Они разработаны в ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии» МЗ РФ г. Уфы и изготавливаются согласно ТУ 42-2-537-87. Продукты биodeградации биоматериала являются хемоаттрактантами М1 макрофагов в зоне имплантации. Тем самым макрофаги становятся непосредственными участниками фагоцитоза биоматериала, раневого детрита, иммунных комплексов и избыточного коллагена. Помимо этого, макрофаги оказывают паракринный эффект, высво-

бождая провоспалительные факторы: TNF α , IL1 и т. д. Монокины, в свою очередь, ингибируют экспрессию профиброгенных факторов (bFGF-1, TGF- β 1) и регулируют активацию фибробластических клеток [4]. Данные результаты исследования были получены при нанесении дефектов в скелетной мышце, стенке матки, при коррекции таких дегенеративно-воспалительных заболеваний хронического течения, как цирроз печени, пародонтит, язва желудка, ожоги кожи, дегенерация сетчатки и зрительного нерва. Установлено, что аллогенные биоматериалы в процессе замещения способствуют неангиогенезу формирующегося регенерата [5, 6]. Однако в отношении острого инфаркта миокарда исследования не проводились.

Известно, что основными ангиогенными факторами являются VEGF, TGF β , bFGF и т. д. [7]. Причем, по некоторым данным, bFGF стимулирует неоваскуляризацию в большей степени, чем VEGF [8].

Целью работы явилась оценка роли макрофагов и bFGF на постинфарктное remodelирование и васкуляризацию миокарда в эксперименте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для регенерации сердечной мышечной ткани применялся децеллюляризованный биоматериал (ДЦБМ), изготовленный из волокнистых соединительно-тканых образований и обработанный по технологии ТУ 42-2-537-87. Необходимым условием его применения является аллогенность, поэтому для настоящего исследования биоматериал был изготовлен из сухожилий крыс.

Экспериментальные исследования были проведены на 100 крысах-самцах породы Вистар массой 0,18–0,25 кг. Все животные были разделены на 2 группы. В контрольной группе ($n = 50$) моделирование инфаркта миокарда осуществляли следующим образом: под внутримышечным наркозом (раствор зоветила) выполняли левостороннюю торакотомию с последующим наложением лигатуры на *r. interventricularis paraconalis a. coronarii sin.* левого желудочка. После вмешательства рану послойно ушивали.

В опытной группе ($n = 50$) лигирование артерии сопровождали введением суспензии ДЦБМ в бассейн стенозированной артерии в суммарном количестве 12 мг. Доза была выбрана произвольно. Перед применением в условиях стерильности готовили суспензию биоматериала в физиологическом растворе (100 мг биоматериала суспендировали в 5 мл физиологического раствора). По периметру левого желудочка делали 5–6 интрамиокардиальных инъекций суспензии, по 100 мкл каждая. Суммарный объем введенной суспензии составил 600 мкл. Размер частиц биоматериала составлял 50–80 мкм для свободного прохождения через инъекционную иглу. В контрольной группе спустя 5 суток вводили 0,9% физиологический рас-

твор в адекватном объеме. Животных содержали в стандартных условиях вивария.

Животных выводили из опыта путем инсуляции летальной дозы паров эфира через 3, 7, 14, 30, 45 суток. Исследования выполнялись согласно правилам лабораторной практики в Российской Федерации, в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Strasbourg, 1986), и согласно утвержденному письменному протоколу в соответствии со стандартными операционными процедурами исследователя и руководством по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях [9]. Для гистологического исследования сердца фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, обезживали в серии спиртов возрастающей концентрации и заливали в парафин по общепринятой методике. Срезы готовили на микротоме LEICA RM 2145 (Германия), окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван-Гизону, по Маллори. Для определения размера постинфарктного рубца миокарда каждое сердце нарезали поперек на 5 секторов. Индекс площади рубца (ИПР) измеряли на препаратах поперечных срезов сердец крыс, окрашенных по Маллори, с использованием программы «ITEM» следующим образом: отношение площади рубца к площади стенки левого желудочка умножали на 100%.

Для иммуногистохимического исследования парафиновые срезы толщиной 4 мкм окрашивали с помощью иммуногистостейнера Leica Microsystems Bond™ (Германия). В качестве первых антител применяли: CD 68, bFGF-1 в разведении 1:300 (Santa Cruz Biotechnology, США). Для демаскировки использовали непрямую стрептавидин-биотиную систему детекции Leica BOND (Novocastra™, Германия). Оценку специфичности реакции проводили при окрашивании срезов без первых антител. Подсчет позитивно окрашенных клеток производили в 20 полях зрения каждого образца ($n = 6$) при увеличении $\times 400$. Исследование и визуализацию препаратов проводили с использованием светового микроскопа Leica DMD 108 (Германия) со специализированным программным обеспечением управления настройками и захвата изображения.

Для электронно-микроскопического исследования использовали кусочки миокарда размером 1–2 мм³, которые фиксировали в 2,5% растворе глутаральдегида, приготовленном на какодилатном буфере (pH 7,2–7,4) с дофиксацией в 1% растворе OsO₄ на том же буфере. Материал обезживали в спиртах возрастающей концентрации и заливали в эпон-812 по общепринятой методике. На ультратоме EM UC 7 (Leica, Германия) готовили полутонкие срезы и окрашивали их раствором толуидинового синего на

2,5% растворе безводной соды. На данных срезах выбирали участки для электронно-микроскопического исследования. Ультратонкие срезы контрастировали 2% водным раствором уранилацетата, цитратом свинца по Рейнольдсу и изучали в трансмиссионном микроскопе JEM-1011 (Jeol, Япония).

Анализ данных ИПР и суммарной площади просветов капилляров (СППК) осуществлялся с применением непараметрических методов – однофакторного дисперсионного анализа по Краскелу–Уоллису и сравнения некоррелированных данных методом Манна–Уитни [10]. Построение диаграммы осуществлялось в программе Statistica 6,0.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате эксперимента (через 45 суток) выявлено, что ИПР в контрольной группе составлял $26,65 \pm 16,10\%$, а в опытной после применения ДЦБМ – $9,72 \pm 1,08\%$. Кратность межгрупповых различий составила 2,74 раза (рис. 1).

Течение воспалительной реакции после ишемии сердечных мышечных волокон в экспериментальных группах происходило по-разному. В опытной группе в начальной стадии воспаления (3 суток) на месте ишемически поврежденных кардиомиоцитов выявлялись признаки раннего наступления пролиферативной фазы воспаления и формирования грануляционной ткани. В регенерате определялись тонкие коллагеновые волокна, макрофагально-фибробластическая инфильтрация, мезенхимные клетки. Наряду

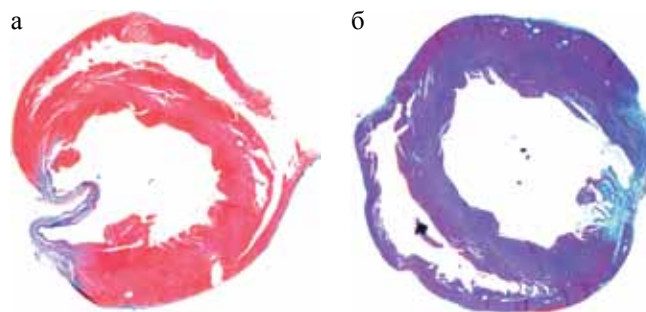


Рис. 1. Поперечный срез миокарда через 45 суток: а – контрольная группа; б – опытная группа. Окраска по Маллори. $\times 40$

Fig. 1. Myocardial cross-section in 45 days: а – control group; б – experimental group. Mallory stain. $\times 40$

с геморрагическим пропитыванием определялись тонкостенные гемокапилляры с разновекторной ориентацией. Определялись частицы биоматериала, инфильтрированные малодифференцированными клетками и макрофагами (рис. 2).

В контрольной группе на месте разрушающихся кардиомиоцитов формировался широкий клеточный вал, состоящий из макрофагов, лимфоцитов, нейтрофилов, отмечались признаки разрыва кровеносных сосудов и диапедез эритроцитов в интерстиций миокарда (рис. 3).

Также в контрольной группе в ишемически измененной сердечной мышечной ткани в реактивной зоне численность макрофагов CD 68 превышала зна-

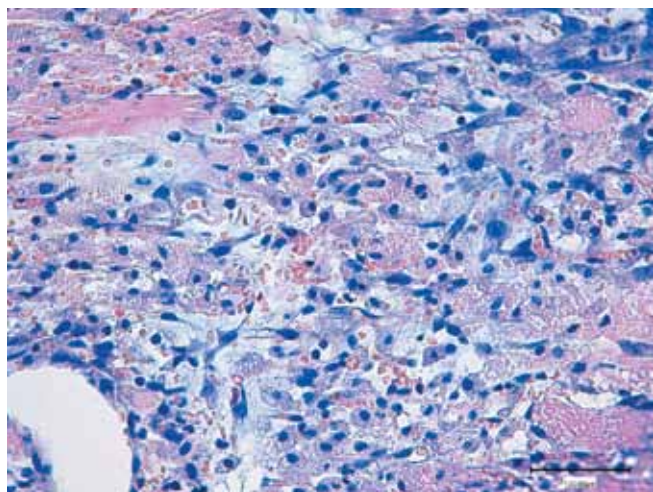


Рис. 2. Формирование грануляционной ткани и инфильтрация макрофагами, мезенхимными клетками, фибробластами в миокарде крысы через 3 суток после коронароокклюзии и введения биоматериала (опытная группа). Окраска гематоксилином и эозином. $\times 400$

Fig. 2. Granulation tissue formation and infiltration by macrophages, mesenchymal cells, fibroblasts in rat myocardium 3 days after coronary occlusion and biomaterial insertion (experimental group). Stained with hematoxylin and eosin. $\times 400$

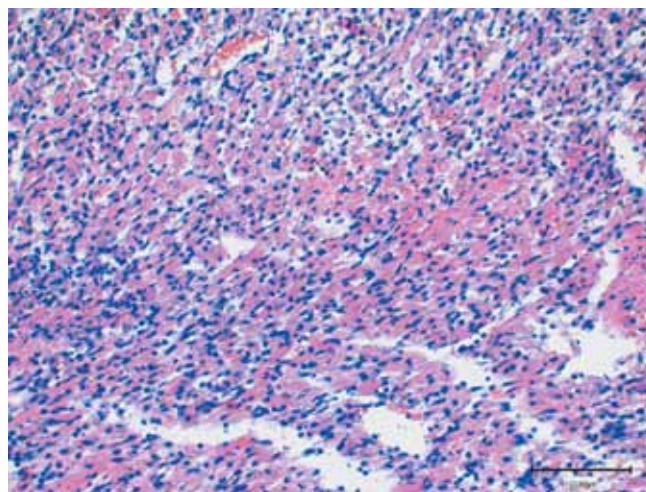


Рис. 3. Макрофагально-лимфоцитарный клеточный вал в зоне некротически измененных кардиомиоцитов через 3 суток после коронароокклюзии (контрольная группа). Окраска гематоксилином и эозином. $\times 200$

Fig. 3. Macrophage-lymphocytic cell wall in the zone of necrotically altered cardiomyocytes 3 days after coronary occlusion (control group). Stained with hematoxylin and eosin. $\times 200$

чения опытной группы практически на всем протяжении эксперимента. В контрольной и опытной группах тенденция к подъему и последующему спаду в целом была высоко значима ($\text{Chi-Square} = 76,3$, $p < 0,0001$ и $\text{Chi-Square} = 45,2$, $p < 0,0001$ соответственно). Количество клеток $\text{CD } 68^+$ в контрольной группе статистически значимо превышало их численность в опытной группе в период наблюдения 3–14 суток ($p < 0,003$ и менее). В период 30–45 суток в контрольной группе происходило затухание процессов ремоделирования миокарда и формирование рубца, что обуславливало снижение численности макрофагов в обеих группах ($p > 0,12$) и инициацию стадии заживления (рис. 4).

При исследовании bFGF-1^+ -клеток в опытной и в контрольной группах численность данных клеток статистически значимо зависела от начала эксперимента ($\chi^2 = 49,8$, $p < 0,0001$ и $\chi^2 = 60,0$, $p < 0,0001$ соответственно) и имела определенные различия. Через 3 суток в опытной группе границы варьирования bFGF-1^+ -клеток составляли 38–55 (медиана 44). Через 7 дней их численность повышалась до 54–68 (медиана 61) ($p < 0,0001$). Однако на 14-й день резко возрастала межиндивидуальная вариация численности bFGF-1^+ -клеток (22–72, медиана 60) и оказалась статистически не значимой ($p > 0,46$). Через 30 суток количество bFGF-1^+ -клеток в основной группе резко снижалось (9–16, медиана 11), а на 45-й день незначи-

тельно, статистически значимо ($p < 0,03$) снижалось до границ варьирования 4–16 клеток (медиана 9).

В контрольной группе экспрессия bFGF-1^+ -клетками происходила совершенно иначе. Число bFGF-1^+ -клеток было минимально в первую неделю от начала эксперимента (5–15, медиана 10), на 3-й день 10–19 клеток (медиана 14). Через 14–30 дней количество bFGF-1^+ -клеток в контрольной группе резко возрастало – до 80–109 клеток (медиана 84) и 67–104 клеток (медиана 101) соответственно, но различие было не значимо ($p > 0,66$). Статистически значимое ($p < 0,0001$) снижение числа bFGF-1^+ -клеток до 54–96 (медиана 64) в данной группе происходило только к 45-м суткам. В контрольной группе через 14, 30 и 45 суток внутригрупповой случайный разброс числа таких клеток резко возрастал до 29, 37 и 41 клетки соответственно. В опытной группе в период 30–45 суток по отношению к 14 дням вариация числа таких клеток, напротив, резко снижалась (рис. 5).

Результаты анализа показали, что статистически значимым является влияние на СППК реактивной зоны регенерата как фактора групповой принадлежности объектов («контроль», «опыт»), так и фактора времени (дни) ($\eta^2 = 15\%$, $F = 31$, $p < 0,0001$ и $\eta^2 = 14\%$, $F = 9$, $p < 0,0001$ соответственно).

В опытной группе СППК снижалась с $1432,2 \pm 1179$ мкм² на 3-й день до 577 ± 348 мкм² на 7-й день

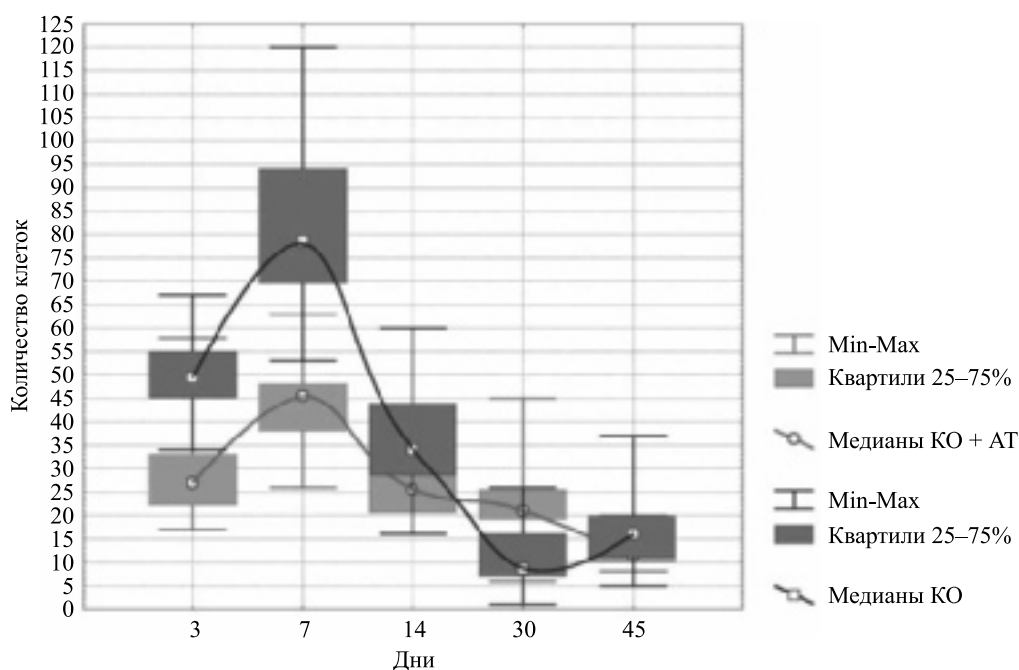


Рис. 4. Количество макрофагов $\text{CD } 68^+$ в миокарде крысы в контрольной группе (КО) и после введения биоматериала (КО + АТ). ГДИ – границы доверительных интервалов для средних значений площади, $\pm\text{CO}$ – стандартная ошибка среднего значения

Fig. 4. The number of $\text{CD } 68^+$ in the myocardium of rats in the control group (blue graph) and after the insertion of the biomaterial (red graph). GDI – limits of confidence intervals for the average area values, $\pm\text{CO}$ – standard error of the average value

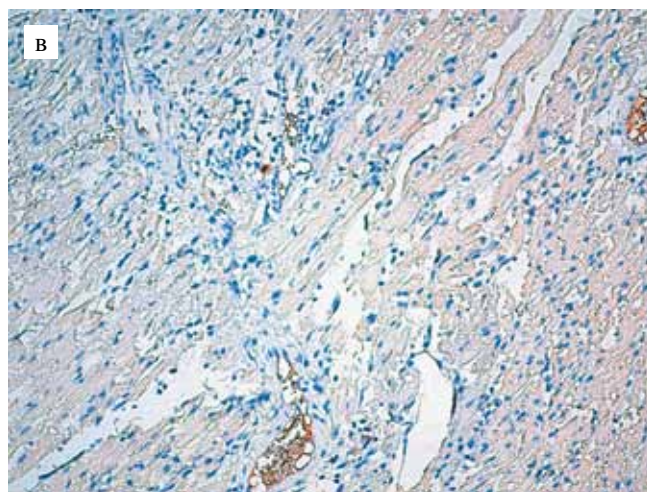
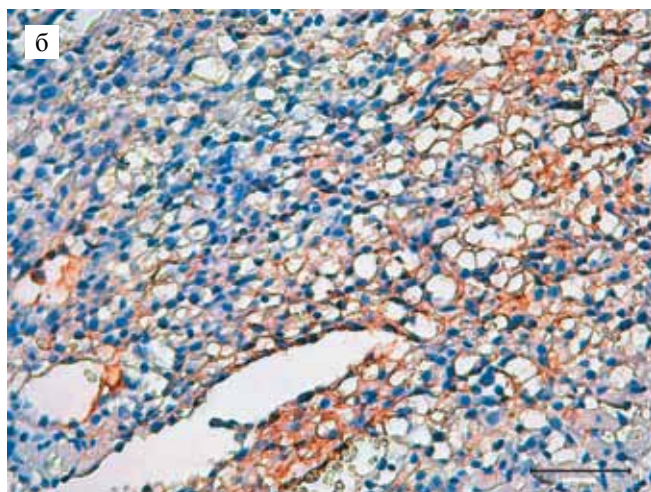
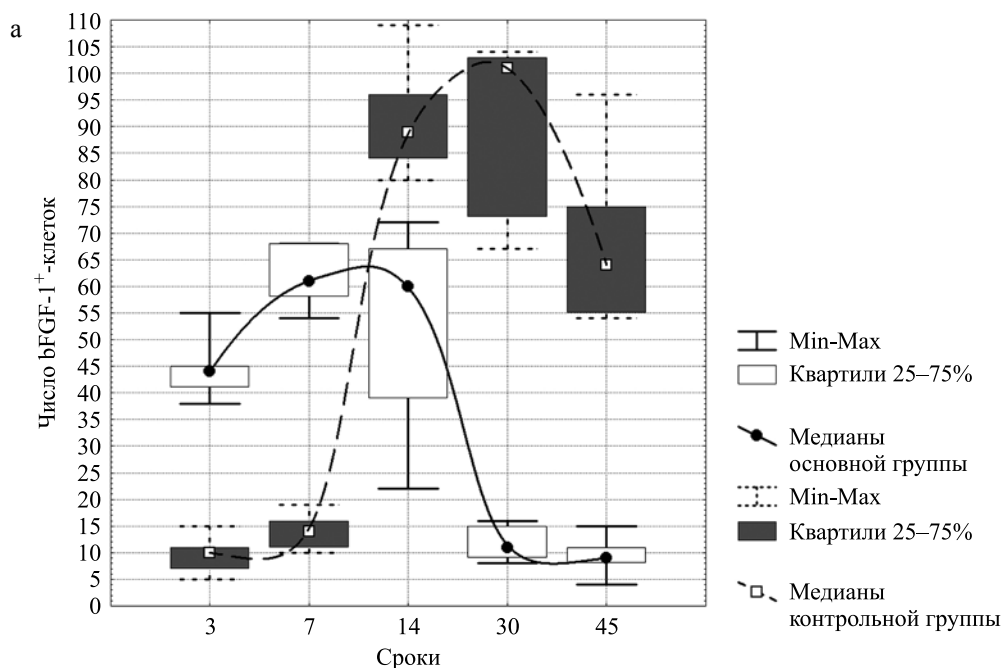


Рис. 5. Реакция FGF-1⁺-клеток в миокарде крысы: а – динамика численности bFGF-1⁺-клеток в опытной группе (основная) и в контрольной; б – экспрессия bFGF-1⁺ в опытной группе через 7 суток. $\times 400$; в – экспрессия bFGF-1⁺ в контрольной группе через 7 суток. Непрямой иммунопероксидазный метод выявления bFGF-1 с докраской гематоксилином. $\times 200$

Fig. 5. The reaction of FGF-1⁺ cells in the myocardium of rats: а – dynamics of the number of bFGF-1⁺ cells in the experimental group (light graph) and in the control group (dark graph); б – expression of bFGF-1 in the experimental group after 7 days. $\times 400$; в – expression of bFGF-1 in the control group after 7 days. Indirect immunoperoxidase method for detection of bFGF-1 stained by hematoxylin. $\times 200$

($p < 0,0003$). В дальнейшем СППК оставалась стабильной ($611 \pm 445,8$ и $632,3 \pm 406,6$ μm^2 на 14-й и 30-й дни соответственно). В контрольной группе на 3-й день после коронароокклюзии СППК оказалась достоверно в 3 раза ниже, чем в опытной группе ($510,6 \pm 537$ μm^2). В последующие сроки наблюдения СППК снижалась, однако статистически значимым ($p < 0,003$) данное снижение оказалось лишь через 14 дней (146 ± 97 μm^2), т. е. почти в 3 раза ниже, чем на третий день. Во все сроки наблюдения СППК реактивной зоны регенерата в контрольной

группе оказалась существенно и статистически значимо меньше, чем в опытной. Наиболее высокая разница отмечалась в сроке 3 суток (рис. 6).

Спустя 14 суток в перифокальной зоне опытной группы были выявлены признаки резорбции коллагеновых волокон (рис. 7). В миокарде в перифокальной зоне определялись разрозненные короткие фрагменты коллагеновых волокон в окружении клеток округлой и крупной формы с овальным ядром (рис. 7, а). Фиброциты выявлялись в виде крупных клеток овальной формы с длинными выростами ци-

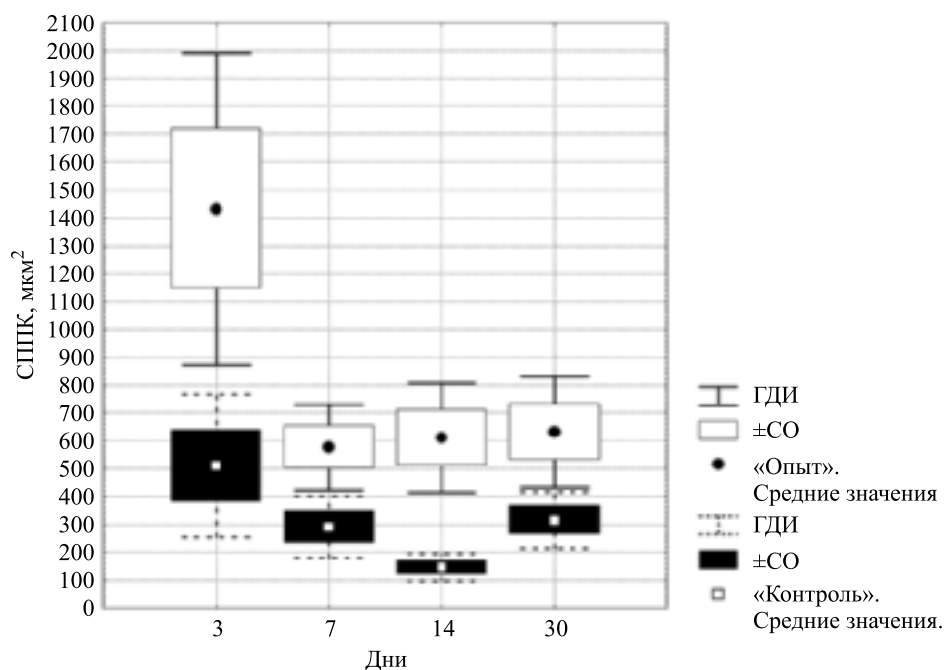


Рис. 6. Изменения СППК реактивной зоны регенерата в «контроле» и «опыте» в различные сроки наблюдений после коронароокклюзии. ГДИ – границы доверительных интервалов для средних значений площади, $\pm$ CO – стандартная ошибка среднего значения

Fig. 6. Changes CSCC reactive zone of the regenerate in the «control» and «experience» in different periods of observation after coronary occlusion. GDI – limits of confidence intervals for the average area values, $\pm$ CO – standard error of the average value

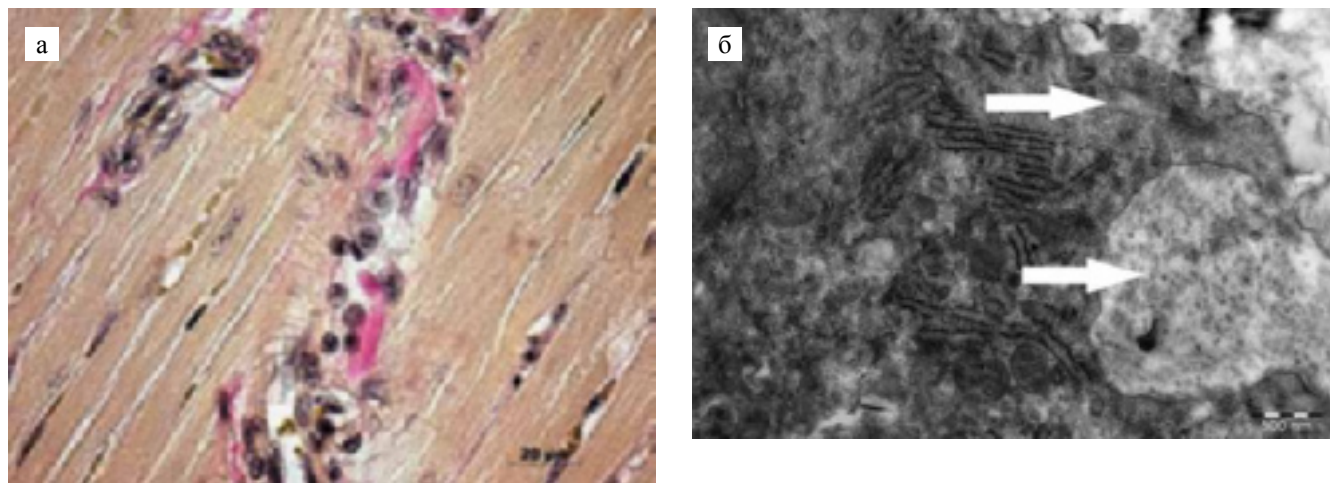


Рис. 7. Резорбция коллагена через 14 суток после введения биоматериала (опытная группа): а – окраска по Ван-Гизону. $\times 400$; б – фиброкласт в миокарде с фагоцитарными вакуолями с фрагментами коллагена (↑). Электронограмма. $\times 12\,000$

Fig. 7. Resorption of collagen 14 days after insertion of biomaterial (experimental group). a – Van-Gison stain. $\times 400$; б – fibroblast in the myocardium with phagocytic vacuoles with fragments of collagen (↑). Electronograms. $\times 12\,000$

толеммы, формирующими фагоцитарные вакуоли. В цитоплазме обнаруживались каналы гранулярного эндоплазматического ретикулума, вторичные вакуоли с фрагментами исчерченных коллагеновых волокон, заключенные в цитоплазму. Ядра были округлой

формы с признаками функциональной активности, содержащие эухроматин (рис. 7, б).

Таким образом, в условиях применения ДЦБМ в реактивной зоне миокарда обнаруживались признаки фиброклазии, что также могло оказывать влияние на объем рубца в миокарде.

ОБСУЖДЕНИЕ

В данном исследовании мы использовали целевой подход и продемонстрировали патоморфологические процессы спонтанного заживления миокарда после лигирования коронарной артерии и под влиянием аллогенного биоматериала. Имплантация ДЦБМ показала новые стратегически важные механизмы регенерационного потенциала для миокарда, связанные с кардиопротекцией: ангиогенез, ингибирование макрофагов, фиброклазия. Выявлено, что в условиях применения ДЦБМ в дозе 12 мг площадь рубца была снижена более чем в 2 раза.

После лигирования коронарной артерии в миокарде происходили патоморфологические изменения, связанные с массивным колликативным некрозом кардиомиоцитов. Прослеживалась вся хронология смены фаз воспалительного ответа. В сроки 3–14 суток происходило экссудативное воспаление. В период 14–30 суток наступала фаза пролиферации, а через 30–45 суток – заживление с формированием рубца.

Через трое суток после коронароокклюзии и интрамиокардиального введения ДЦБМ выявлялась макрофагально-фибробластическая и мезенхимная инфильтрация в перифокальной зоне на границе интактного миокарда и некротизированной сердечной мышечной ткани. Регенерат был хорошо васкуляризован. Отмечалась густая разнонаправленная сеть гемокapилляров, которая сопровождала формирование незрелой грануляционной ткани. Данные признаки свидетельствовали о наступлении ранней пролиферативной воспалительной стадии.

Ранее установлено, что в условиях применения ДЦБМ для заживления соединительной ткани с хроническим течением воспалительно-деструктивного процесса, а также после нанесения дефектов продукты биodeградации биоматериала становились хемоаттрактантами моноцитов и макрофагов. Макрофагальные клетки обуславливали эффективность регенерации за счет полноценного фагоцитоза и регулирования пролиферативной фазы воспаления. Они ингибировали фибробластическую активность за счет M1 макрофагов и пролонгирования цитотоксической фазы [11]. Известно, что фактор некроза опухолей (TNF α) помимо инициирования воспалительных реакций может также ингибировать фиброз через регуляцию активности фибробластов, подавляя синтез трансформирующего фактора роста TGF β -индуцированной экспрессии белка фактора роста соединительной ткани (CTGF) [12].

В результате наших исследований выявлено, что при острой стадии воспаления ишемизированного миокарда происходила противоположная реакция. Продукты биodeградации ДЦБМ стимулировали миграцию макрофагов в меньшей степени в период 3–14 суток и являлись их ингибитором. Присутствие частиц ДЦБМ отмечалось только в ранних сроках на-

блюдения, в дальнейшем через 14 суток биоматериал резорбировался и не визуализировался.

В контрольной группе в период 3–14 суток определялась выраженная инфильтрация миокарда макрофагами и формирование широкого клеточного вала, что соответствует фазе альтерации и экссудации. В последующем (14–45 суток) на этапе пролиферации и рубцевания численность макрофагов практически пропорционально уменьшалась и выравнивалась в обеих экспериментальных группах. Следовательно, согласно данным на рисунке 1, макрофаги способствовали манифестации воспаления в миокарде, усилению коллагеногенеза, и как следствие, увеличению зоны рубца. Это согласуется с данными других исследователей [13].

Природой ДЦБМ является децеллюляризованный аллогенный межклеточный матрикс – волокнистая соединительная ткань, состоящая преимущественно из зрелых коллагеновых волокон I типа и связанных с ним протеогликанов и гликозаминогликанов: гиалуроновой кислоты, гепаран-, дерматан- и кератансульфата. При лизисе и резорбции биоматериала происходит их дозированная экстракция, которая в начальные сроки высвобождается при биodeградации трансплантата, в последующем начинает секретироваться окружающими клетками: макрофагами, фибробластами [11]. Можно предположить, что экзогенный коллаген способствует подавлению острой воспалительной реакции и миграции таких эффекторных клеток, как макрофаги. Данный механизм действия, вероятно, развивается по типу «обратной связи», характерному при инволюции рубца. И был вызван избыточным коллагеногенезом, «основанном на межклеточном и коллаген-клеточном взаимодействии», описанным В.В. Серовым и А.Б. Шехтером (1981) [14].

Избыточный коллаген, непосредственно контактируя с фибробластами, приводит к усилению фиброклазии, снижению синтетической активности фибробластов и их деструкции, что и наблюдалось нами через 14 суток в опытной группе, вызвавшей резкий спад bFGF-1⁺-клеток и появление фиброкластов. Фиброклазия также могла оказать влияние на снижение площади рубца в опытной группе.

С другой стороны, при трансплантации децеллюляризованного экстраклеточного матрикса высвобождаются такие цитокины, как bFGF, VEGF, HGF, в том числе в начальные сроки после имплантации (1–3 суток), оказывают биоиндуктивные воздействия на миокардиальные фибробласты и способствуют росту кровеносных сосудов [15]. Нами отмечено, что степень васкуляризации реактивной зоны в опытной группе превышает значения контрольной на всем протяжении эксперимента, особенно в период 3 суток. Известно, что bFGF обладает не только выраженным ангиогенным потенциалом в условиях ишеми-

ческого повреждения миокарда, но и способствует выживаемости эндотелиоцитов, снижает степень апоптоза кардиомиоцитов [16–18]. Широко известна роль гепарансульфата (перлекана) в качестве «молекулярного клея», играющего ключевое значение при эмбриональном и постнатальном морфогенезе миокарда. Он является основным компонентом базальной мембраны кровеносных сосудов, коллагена IV типа и ламинина [19]. Следовательно, эндогенный гепарансульфат, как один из продуктов биодеградации ДЦБМ, также может участвовать в неоваскулогенезе, морфогенезе и кардиопротекции.

В контрольной же группе воспаление развивалось по «классическому типу» [20]. В период 3–14 суток фаза острого воспаления сопровождалась наличием воспалительных эффекторных клеток, формированием широкого клеточного вала, возникшего на месте некротических масс ишемизированных волокон миокарда. Соответственно, количество bFGF-1-продуцирующих клеток было низким. Спустя 14 суток и далее пролиферативная стадия заживления характеризовалась накоплением большого количества фибробластических клеток и более увеличенной продукцией ими фиброкина bFGF-1.

Продукты биодеградации ДЦБМ способны нормализовать баланс между процессами неофиброгенеза и фиброклазии, при этом замедляется синтез избыточных коллагена и гликозаминогликанов, что возвращает процесс регенерации миокарда в физиологичное русло и приводит к физиологическому рубцеванию. В процессе патологического рубцевания при переходе из фазы позднего воспаления в фазу пролиферации в условиях гипоксии и нарушенной микроциркуляции происходит накопление в ране детрита и аномальная продукция цитокинов избыточным количеством макрофагов, что приводит к удлинению стадии воспаления и препятствует активации процессов заживления [21]. Продукты тканевого распада, выступая в роли биологических стимуляторов фиброгенеза, вызывают дисбаланс системы «фибронектогенез – фиброклазия» с образованием большого количества клеток фибробластического ряда, отличающихся высоким обменом веществ [22].

Анализ результатов экспрессии bFGF-1 в опытной группе подтверждает данное предположение. Механизм действия свидетельствует об обратной ответной реакции ткани в ответ на имплантацию ДЦБМ, нежели описанную в предыдущих работах [23]. В настоящем исследовании обнаружено, что в опытной группе в перинфарктной зоне в период 3–14 суток bFGF-1⁺-клетки значительно превышали значения контрольной. В контрольной же группе в период острой фазы воспаления (3–14 суток) уровень bFGF-1⁺-клеток был низким по сравнению с опытной, а в последующем (14–30 суток) экспрессия цитокина значительно увеличивалась, что соответствовало

фазе заживления и рубцевания – стремительному накоплению коллагеновых волокон.

В опытной группе выявленная хронология смены клеточной инфильтрации не соответствует классическому пониманию течения воспалительного процесса. Вероятно, выраженная экспрессия bFGF-1 является антагонистом провоспалительного спектра цитокинов и подавляет цепь цитотоксических реакций. Известно, что bFGF, сдерживая апоптоз кардиомиоцитов, оказывает защитное действие на сердце после перенесенного инфаркта миокарда, благодаря чему уменьшается размер некротизированной зоны [24]. Следовательно, ранняя пролиферативная фаза и формирование грануляционной ткани могут способствовать кардиопротекции.

В последнее время появляются сведения об использовании различных видов гидрогелей, созданных на основе внеклеточного матрикса, альгината, желатиназы, коллагена, гиалуроновой кислоты, фибрина, агарозы, хитозана, кератина. Они вызывают некоторое улучшение в ремоделировании ишемически поврежденного миокарда, ограничивая распространение фиброобразования [25, 26]. Отдельные материалы могут обеспечивать поддержание или улучшение функциональных параметров у экспериментальных животных либо являться носителями клеток или факторов роста [27]. Биоматериалы на основе экстрацеллюлярного матрикса, как правило, состоят из структурных белков, таких как коллаген, ламинин, фибронектин и витронектин, и множества гликозаминогликанов. Скорость деградации этих материалов определяется клеточной средой и такими факторами, как концентрация и степень сшивки. Но часто они имеют скорость биорезорбции, значительно превышающую скорость гистогенеза, без существенных функциональных и структурных положительных сдвигов, в том числе и в отдаленном периоде [28].

Использованный в данном исследовании биоматериал, созданный на основе децеллюляризованного аллогенного межклеточного матрикса, взаимодействует с тканью хозяина, изменяя цитокиновый профиль миокарда, способствует ангиогенезу и уменьшает фиброз и гибель клеток, служит хемоаттрактантом прогениторных кардиомиогенных клеток. При использовании ДЦБМ не требуется витализация, он способен поддерживать баланс между деградацией и репаративным гистогенезом, служит биомиметиком, биосовместим, не иммуногенный, противостоит долгосрочным осложнениям, таким как инфекция, кальцификация и расширение аневризмы. Вязкость полученной суспензии зависит от его концентрации и может регулироваться и зависит от типа ткани и потребностей исследователя.

В данной модели острого инфаркта миокарда не освещаются вопросы хронической миокардиальной ишемии, которая является наиболее распространен-

ной в клинической практике. Поэтому эта модель освещает аспекты влияния продуктов биодegradации ДЦБМ в качестве bFGF-индуцированных ангиогенных факторов роста на проангиогенное состояние в период заживления после инфаркта миокарда. Одним из направлений стратегии терапевтической коррекции при ишемических повреждениях миокарда следует указать на ингибирование миграции макрофагов и подавление их провоспалительной направленности M1. В качестве такой альтернативы может являться децеллюляризованный аллогенный биоматериал, примененный в острой фазе воспаления миокарда.

ВЫВОДЫ

1. Использование аллогенного биоматериала сразу после стенозирования коронарной артерии позволяет более чем в 2 раза уменьшить площадь рубцового перерождения миокарда.
2. ДЦБМ ускоряет течение воспалительного ответа и наступление ранней пролиферативной фазы воспаления.
3. Аллогенный биоматериал снижает инфильтрацию миокарда макрофагами CD68 по сравнению с контролем при спонтанном заживлении.
4. Использование ДЦБМ обеспечивает значительное преобладание bFGF-1⁺-клеток в начальный период воспаления (3–14 суток). В последующем (14–45 суток) экспрессия фиброкина становилась в разы меньше. В контрольной же группе в период острой фазы воспаления (3–14 суток) уровень bFGF-1⁺-клеток был низким, а в последующем (14–45 суток) экспрессия цитокина значительно увеличивалась, что вызывало стремительное накопление коллагеновых волокон и рубцевание.
5. В процессе формирования постинфарктного регенерата в эксперименте ДЦБМ стимулировал ангиогенез.
6. В зоне регенерации миокарда аллогенный биоматериал является регулятором баланса неофибриллогенеза-фиброклазии.

Работа выполнена в рамках государственного задания № 056-00110-18-00, утвержденного 26.12.2017 г.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Pislaru SV, Simari RD. Gene transfer for ischemic cardiovascular disease: is this the end of the beginning or the beginning of the end? *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2005; 2: 138–144.
2. Давыденко ВВ, Матюков АЛ, Цупкина НВ, Власов ТД, Гриценко ВВ, Кузнецов АЛ и др. Влияние ауто-трансплантации различных клеток костного мозга на морфофункциональное состояние миокарда кролика после инфаркта. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2007; 2: 52–61. Davydenko VV, Matyukov AL, Tsupkina NV, Vlasov TD, Gritsenko VV, Kuznetsov AL et al. Influence of autotransplantation of various bone marrow cells on the morphofunctional state of the rabbit myocardium after infarction. *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya*. 2007; 2: 52–61. [In Russ.].
3. Лебедева АИ. Аллогенный губчатый биоматериал – ингибитор фиброза поврежденной скелетной мышечной ткани. *Российский биотерапевтический журнал*. 2014; 4 (13): 37–44. Lebedeva AI. Spongiform biomaterial – inhibitor of fibrosis of damaged skeletal muscle. *Russyskiyi bioterapevicheskiy journal*. 2014; 4 (13): 37–44. [In Russ.].
4. Лебедева АИ, Муслимов СА, Гареев ЕМ и др. Морфологические особенности макрофагов и их цитокинового профиля в регенерации скелетной мышечной ткани при пластике аллогенным губчатым биоматериалом. *Цитокины и воспаление*. 2015; 14 (1): 27–33. Lebedeva AI, Muslimov SA, Gareev EM et al. Morphological features of macrophages and their cytokine profile in the regeneration of skeletal muscle plastic surgery allogenic spongy biomaterial. *Cytokines & inflammation*. 2015; 14 (1): 27–33. [In Russ.].
5. Лебедева АИ, Муслимов СА, Мусина ЛА. Регенерация гладкой мышечной ткани рога матки кролика после разреза лучом лазера и применения аллогенного биоматериала. *Вестник Башкирского государственного аграрного университета*. 2013; 4 (28): 41–45. Lebedeva AI, Muslimov SA, Musina LA. Regeneration of smooth muscle tissue uterine horns of the rabbit after cut by the laser beam and the use of allogenic biomaterial. *Vestnik Bashkirskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. 2013; 4 (28): 41–45. [In Russ.].
6. Лебедева АИ, Муслимов СА, Мусина ЛА, Щербakov ДА. Регенерация скелетной мышечной ткани экспериментальных животных, индуцированная биоматериалом аллоплант. *Международный журнал экспериментального образования*. 2014; 3-2: 68–71. Lebedeva AI, Muslimov SA, Musina LA, Sherbakov DA. Regeneration of skeletal muscle tissue of experimental animals induced by Alloplant biomaterial. *Mezhdunarodnyj zhurnal eksperimental'nogo obrazovaniya*. 2014; 3-2: 68–71. [In Russ.].
7. Арсентьева НИ, Макарова МА, Арсентьева МЛ. Пластические процессы при ишемическом повреждении миокарда и роль локальных митогенов в его регенерации (По результатам исследований в ФГБУ «Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии» СО РАМН. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2014; 3: 116–121. Arsent'eva NI, Makarova MA, Arsent'eva ML. Plastic processes in ischemic myocardial damage and the role of local mitogens in its regeneration (according to the results of research in the fgbu «scientific center for reconstructive and reconstructive surgery» SB RAMS. *Byulleten' VSNC SO RAMN*. 2014; 3: 116–121. [In Russ.].
8. Михайличенко ВЮ, Самарин СА. Ангиогенез при инфаркте миокарда и его коррекция трансплантацией

- мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток в эксперименте. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2015; 2 (151): 98–105. *Mihajlichenko VYu, Samarin SA*. Angiogenesis in myocardial infarction and its correction by transplantation of multipotent mesenchymal stem cells in the experiment. *Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik*. 2015; 2 (151): 98–105. [In Russ.].
9. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях / Под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. М.: Профиль-2с, 2010: 358. Guidance on laboratory animals and alternative models in biomedical research / Pod. red. N.N. Karkishchenko, S.V. Grachev. M.: Profile-2c, 2010: 358. ББК 45.318:28.6я81.
10. Реброва ОЮ. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: МедиаСфера, 2002: 312. *Rebrova OYu*. Statistical analysis of medical data. Application of STATISTICA application software package. M.: MediaSfera, 2002: 312.
11. Лебедева АИ. Регуляция паренхиматозно-стромальных взаимоотношений при коррекции дефектов скелетной мышцы аллогенным биоматериалом. *Экспериментальная и клиническая дерматокосметология*. 2014; 1: 51–56. *Lebedeva AI*. Regulation of parenchymal-stromal relationship for the correction of defects of skeletal muscle allogenic biomaterial. *Experimental and clinical dermatocosmetology*. 2014; 1: 51–56. [In Russ.].
12. Abraham DJ, Shiwen X, Black CM, Sa S, Xu Y, Leask A. Tumor necrosis factor alpha suppresses the induction of connective tissue growth factor by transforming growth factor-beta in normal and scleroderma fibroblasts. *J Biol Chem*. 2000; 275 (20): 15220–15225. doi: 10.1074/jbc.275.20.15220.
13. Гомбожапова АЭ, Роговская ЮВ, Ребенкова МС, Кжышкковская ЮГ, Рябов ВВ. CD 68 и Стабилин-1 позитивные макрофаги в постинфарктной регенерации миокарда. *Российский кардиологический журнал*. 2017; 11 (151): 56–61. *Gombozhapova AE, Rogovskaya YuV, Rebenkova MS, Kzhyshkovskaya YuG, Ryabov VV*. CD 68 and stabilin-1 positive macrophages in postinfarction myocardial regeneration. *Russian Journal of Cardiology*. 2017; 11 (151): 56–61. [In Russ.]. <http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-11-56-61>.
14. Серов ВВ, Шехтер АБ. Соединительная ткань. М.: Медицина, 1981: 312. *Serov VV, Shekhter AB*. Connective tissue. M.: Medicina, 1981: 312.
15. Mewhort HEM, Svystonyuk DA, Turnbull JD, Teng G, Belke DD, Guzzardi DG et al. Bioactive Extracellular Matrix Scaffold Promotes Adaptive Cardiac Remodeling and Repair. *Jacc: Basic to Translational Science*. 2017; 2 (4): 450–464. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacmts.2017.05.005>.
16. Шурыгин МГ, Шурыгина ИА. Фактор роста фибробластов как стимулятор ангиогенеза при инфаркте миокарда. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2010; 30 (6): 89–92. *Shurygin MG, Shurygina IA*. The fibroblast growth factor as angiogenesis stimulator at myocardial infarction. *Byulleten' VSNC SO RAMN*. 2010; 30 (6): 89–92. [In Russ.].
17. Tamura K, Nakajima H, Rakue H et al. Elevated Circulating Levels of Basic Fibroblast Growth Factor and Vascular Endothelial Growth Factor in Patients With Acute Myocardial Infarction. *Jap Circ J*. 1999; 63 (5): 357–361. <https://doi.org/10.1253/jcj.63.357>.
18. Shao ZQ, Takaji K, Katayama Y, Kunitomo R, Sakaguchi H, Lai ZF, Kawasuji M. Effects of Intramyocardial Administration of Slow-Release Basic Fibroblast Growth Factor on Angiogenesis and Ventricular Remodeling in a Rat Infarct Model. *Circ J*. 2006; 70: 471–477. <https://doi.org/10.1253/circj.70.471>.
19. Sasse Ph, Malan D, Fleischmann M, Roe W, Gustafsson E, Bostani T et al. Perlecan is critical for heart stability. *Cardiovascular Research*. 2008; 80: 435–444. doi: 10.1093/cvr/cvn225.
20. Пальцев МА, Аничков НМ. Патологическая анатомия. М.: Медицина, 2000; 2 (1), 512. *Pal'cev MA, Anichkov NM*. Pathological anatomy. M.: Medicina, 2000; 2 (1), 512.
21. Huang C, Murphy GF, Akaishi S, Ogawa R. Keloids and hypertrophic scar s: update and future directions. *Plastic and reconstructive surgery Global open*. 2013; 1 (4): e25. doi: 10.1097/GOX.0b013e31829c4597.
22. Serra MB, Barroso WA, Da Silva NN, Silva SDN, Borges ACR, Abreu IC et al. From Inflammation to Current and Alternative Therapies Involved in Wound Healing. *Int J Inflam*. 2017; 17. doi: 10.1155/2017/3406215.
23. Muldashev ER, Muslimov SA, Musina LA, Nigmatullin RT, Lebedeva AI, Shangina OR et al. The role of macrophages in the tissues regeneration stimulated by the biomaterials. *Cell Tissue Bank*. 2005; 6 (2): 99–107. doi: 10.1007/S10561-004-5805-2.
24. Joki Y, Ohashi K, Yuasa D, Shibata R, Ito M, Matsuo K et al. FGF21 attenuates pathological myocardial remodeling following myocardial infarction through the adiponectin-dependent mechanism. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015; 459: 124–130. doi: 10.1016/j.bbrc.2015.02.081.
25. Landa N, Miller L, Feinberg MS, Holbova R, Shachar M, Freeman I et al. Effect of injectable alginate implant on cardiac remodeling and function after recent and old infarcts in rat. *Circulation*. 2008; 117: 1388–1396.
26. Lv K, Li Q, Zhang L, Wang Y, Zhong Zh, Zhao J et al. Incorporation of small extracellular vesicles in sodium alginate hydrogel as a novel therapeutic strategy for myocardial infarction. *Theranostics*. 2019; 9 (24): 7403–7416. doi: 10.7150/thno.32637.
27. Plotkin M, Vaibavi SR, Rufaihah AJ, Nithya V, Wang J, Shachaf Y et al. The effect of matrix stiffness of injectable hydrogels on the preservation of cardiac function after a heart attack. *Biomaterials*. 2014; 35 (5): 1429–1438. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.10.058.
28. Shao ZQ, Takaji K, Katayama Y, Kunitomo R, Sakaguchi H, Lai ZF, Kawasuji M. Effects of intramyocardial administration of slow-release basic fibroblast growth factor on angiogenesis and ventricular remodeling in a rat infarct model. *Circ J*. 2006; 70: 471–477.

Статья поступила в редакцию 23.07.2018 г.
The article was submitted to the journal on 23.07.2018

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-3-167-173

ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ УЛЬТРАТОНКОГО ЗАДНЕГО ПОСЛОЙНОГО ТРАНСПЛАНТАТА РОГОВИЦЫ В УСЛОВИЯХ ГЛАЗНОГО ТКАНЕВОГО БАНКА

А.К. Ахмедов¹, Т.З. Керимов², Х.Д. Тонаева¹, Б.Э. Малюгин¹, С.А. Борзенко^{1, 2}

¹ ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

² ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

Цель исследования. Разработка технологии предоперационной подготовки заднего послойного трансплантата роговицы на основе собственной рецептуры консервационной среды для оптимальной дегидратации донорской роговицы и техники выкраивания ультратонкого лоскута оптимизированным методом в условиях Глазного тканевого банка. **Материалы и методы.** В серии экспериментальных исследований получены данные по уровню гидратации консервированных в различных растворах трупных донорских роговиц на разных сроках наблюдения. На примере 16 роговиц проведено аналитическое взвешивание и пахиметрия с использованием оптического когерентного томографа в опытной (n = 8) и контрольной (n = 8) группах, после чего оценивали морфофункциональные характеристики эндотелиального пласта клеток роговицы. На следующем этапе работы из 16 роговиц после гипотермической консервации в опытном (n = 8) и контрольном (n = 8) растворе были сформированы ультратонкие трансплантаты по методике одинарного прохода микрокератомом с последующей микроскопией образцов на растровом электронном микроскопе. **Результаты.** После первых суток консервации в предложенном растворе была выявлена дегидратация на 9% роговиц опытной группы по сравнению с образцами контрольной группы. По окончании 4-х суток консервации при исследовании жизнеспособности эндотелиального пласта клеток ультратонких трансплантатов роговиц методом иммунофлюоресцентной микроскопии с использованием маркера «Live and dead» достоверной разницы между группами выявлено не было (p > 0,05). Проведенная сканирующая электронная микроскопия выявила сохранность архитектоники коллагеновых волокон роговиц, консервированных в предложенной среде. **Заключение.** Предложенная технология может быть рекомендована для применения в условиях глазных тканевых банков для формирования ультратонкого трансплантата роговицы на предоперационном этапе.

Ключевые слова: ультратонкий послойный трансплантат роговицы, раствор для консервации, глазной тканевой банк, кератопластика.

TECHNOLOGY FOR OBTAINING AN ULTRATHIN POSTERIOR LAMELLAR CORNEAL GRAFT AT THE EYE TISSUE BANK

A.K. Ahmedov¹, T.Z. Kerimov², Kh.D. Tonaeva¹, B.E. Malygin¹, S.A. Borzenok^{1, 2}

¹ Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Moscow, Russian Federation

² Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russian Federation

Objective: to develop technologies for preoperative preparation of the posterior lamellar corneal graft based on our own formulation of the preservation medium for optimal dehydration of the donor cornea and a technique for cutting out an ultrathin flap using an optimized method at the Eye Tissue Bank. **Materials methods.** In a series of experimental studies, we obtained data on the hydration level of cadaveric donor corneas that were preserved in various solutions at different observation periods. Using 16 corneas, analytical weighing and pachymetry were

Для корреспонденции: Тонаева Хадизжат Джанхуатовна. Адрес: 127486, Москва, Бескудниковский бульвар, д. 59а. Тел. (905) 515-66-11. E-mail: dr.tonaeva@gmail.com

Corresponding author: Khadizhat Tonaeva. Address: 59 A, Beskudnikovsky Boulevard, Moscow, 127486, Russian Federation. Phone: (905) 515-66-11. E-mail: dr.tonaeva@gmail.com

performed via optical coherence tomography in the experimental ($n = 8$) and control ($n = 8$) groups. Morphological and functional characteristics of the corneal endothelium were then assessed. At the next stage of work, ultrathin grafts were formed from 16 corneas after hypothermic preservation in the experimental ($n = 8$) and control ($n = 8$) solutions by single-pass microkeratome, followed by microscopy of the samples using a scanning electron microscope. **Results.** After the first days of preservation in the proposed solution, there was dehydration of 9% cornea in the experimental group in comparison with the samples of the control group. After 4 days of preservation, there was no reliable difference found between the groups ($p > 0.05$) in the study of the endothelial cell viability of ultra-thin corneal grafts by immunofluorescent microscopy using the «Live and dead» marker. Scanning electron microscopy revealed that corneal stromal collagen fibers, preserved in the proposed medium, retained their integrity. **Conclusion.** The proposed technology can be recommended for use at eye banks for formation of an ultra-thin corneal graft at the preoperative stage.

Keywords: ultrathin lamellar corneal graft, preservation solution, eye bank, keratoplasty.

ВВЕДЕНИЕ

Сквозная кератопластика (СКП) долгое время считалась «золотым стандартом» хирургического лечения больных с эпителиально-эндотелиальной дистрофией (ЭЭД) роговицы. С целью улучшения биологических и функциональных результатов приживления больших трансплантатов роговицы в разное время предлагались различные модификации СКП, а именно: грибовидная, конусная, ступенчатая кератопластики [1]. Однако СКП и ее модификации по-прежнему не исключают возникновения ряда существенных проблем: проведение операции сопровождается объемной и длительной разгерметизацией глазного яблока, что приводит к риску геморрагических и инфекционных осложнений, в посттрансплантационном периоде нередко развиваются иммунобиологические реакции тканевой несовместимости и появляются индуцированные аметропии различной степени выраженности, приводящие к неудовлетворительному оптическому результату [2, 3]. Для исключения вышеперечисленных проблем, связанных с СКП, и ведущей роли эндотелиального слоя в развитии ЭЭД с середины прошлого столетия были предложены различные техники замены задних слоев роговицы, однако в 2001 году М.А. Тергу была разработана техника послойной замены поврежденных задних слоев роговицы, названная эндотелиальной кератопластикой и выполняемая с помощью высокоточного, высокотехнологичного микрохирургического оборудования и инструментария [4]. К настоящему времени предложено несколько модификаций эндотелиальной кератопластики, одна из которых – задняя автоматизированная послойная кератопластика (ЗАПК, или DSAEK), получившая наибольшее распространение в клинике для лечения больных с ЭЭД роговицы различного генеза [5–7]. Суть операции ЗАПК заключается в удалении десцеметовой мембраны со слоем пораженного эндотелия роговицы реципиента и замене выкроенным трансплантатом задних слоев донорской роговицы через разрез шириной 3 мм с использованием модифициро-

ванного слайдера Busin и последующим прижатием лоскута к задней поверхности роговицы стерильным воздухом [8, 9]. При этом все этапы автоматизированного выкраивания заднего трансплантата роговицы проводятся исключительно в операционной, параллельно с манипуляциями на глазу пациента, что затягивает время проведения операции. Помимо этого, вынужденная спешка хирурга при интраоперационном выполнении срезов донорской роговицы нередко заканчивается перфорацией ультратонкого трансплантата и отменой операции. До настоящего времени как в России, так и за рубежом отсутствуют рецептуры консервационных сред для номинальной дегидратации донорской роговицы и оптимальная техника выкраивания ультратонких трансплантатов (50–145 мкм, в среднем 127 мкм) методом одинарного прохода микрокератомом в условиях Глазного тканевого банка на этапе предоперационной подготовки [10–14]. Актуальность проблемы и нерешенность вышеперечисленных положений в технологии ЗАПК обусловили цель данного исследования.

Цель исследования – разработка технологии предоперационной подготовки заднего послойного трансплантата роговицы на основе собственной рецептуры консервационной среды для оптимальной дегидратации донорской роговицы и техники выкраивания ультратонкого лоскута оптимизированным методом в условиях Глазного тканевого банка.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использовались жизнеспособные трупные роговицы человека, полученные из Глазного тканевого банка ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, в количестве 32 от 16 доноров. Одна роговица от каждого донора являлась контрольной, другая, парная, служила опытным образцом. Роговицы, составляющие контрольную группу, помещали во флаконы с базовой средой для консервации [15]. Роговицы, входящие в опытную группу, консервировали во флаконах с заявленным ранее «средством для консервации заднего послойного трансплантата донор-

ской роговицы» [16], которое за счет входящих в его состав фармакологических компонентов обладает мембраностабилизирующим и мембрановосстанавливающим действием. На первом этапе проводилось изучение уровня гидратации стромы консервированных донорских роговиц опытной ($n = 8$) и контрольной групп ($n = 8$) методом аналитического взвешивания (Sartorius BP 210S, Германия) и пахиметрии с помощью оптического когерентного томографа (Optovue, iVue 100, США) на 0, 1, 2, 3 и 4-е сутки исследования. По окончании консервации проводили морфофункциональное исследование жизнеспособности эндотелиальных клеток полученных ультратонких трансплантатов роговицы с помощью метода иммунофлюоресцентной микроскопии (Olympus FV 10i, Япония) с использованием маркера «Live and dead» (Abcam, Великобритания). На основании полученных данных определяли срок консервации, при котором достигается оптимальная дегидратация донорских роговиц. Затем переходили ко второму этапу исследования, на котором роговицы контрольной ($n = 8$) и опытной ($n = 8$) групп консервировали в течение 2 суток в указанных растворах. На 2-е сутки консервации из роговиц обеих групп под контролем оптического когерентного томографа (Optovue, iVue 100, США) формировали ультратонкие задние послойные трансплантаты с использованием микрократома (Moria, Франция) путем одинарного прохода режущей головкой 550 мкм (Moria, Франция). Затем образцы обеих групп подвергались микроскопии с использованием растрового электронного микроскопа (JEOL JCM-6000, Япония) для оценки ультраструктуры эндотелиального клеточного слоя, ориентации и повреждения коллагеновых волокон стромы, а также профиля среза.

ОБРАБОТКА ДАННЫХ

Для подсчета эндотелиальных клеток ультратонких задних послойных трансплантатов была использована программа CellProfile, которая позволяет провести количественный анализ изображений окрашенных клеток.

Статистический анализ полученных данных был проведен с помощью программы Graph Pad Prism7.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По результатам первого этапа проведенного исследования, измерение веса и пахиметрия донорских роговиц, были определены дегидратация и уменьшение толщины на 9% от исходной в опытной группе на 1-е сутки консервации с постепенным увеличением и достижением номинальной величины (вес $0,195 \pm 15$ г, толщина 648 ± 35 мкм) к 3-м суткам, в контрольной группе гидратация (увеличение толщины и веса) наблюдалась с первых суток консервации. Па-

химетрическая оценка с использованием оптического когерентного томографа на всех сроках наблюдения в опытной и контрольной группах показана на рис. 1.

Таким образом, выявлена корреляция между весом и толщиной исследуемых роговиц в процессе консервации. Определена степень дегидратации в первые двое суток в опытной группе и гидратацией в контрольной уже с первых суток консервации. Кроме того, было выявлено, что начиная с 3-х суток гидратация в опытной группе достигала номинальных значений с тенденцией к увеличению, поэтому дальнейшее наблюдение стало нецелесообразным. Таким образом, разработанная в данном исследовании опытная консервационная среда [16] обеспечивает более выраженную дегидратацию роговицы в течение первых 2 суток хранения по сравнению со стандартной консервационной средой, используемой в контрольной группе.

По окончании 4-х суток консервации при исследовании жизнеспособности эндотелиальных клеток ультратонких трансплантатов роговицы методом иммунофлюоресцентной микроскопии с использованием маркера «Live and dead» достоверной разницы между группами выявлено не было ($p > 0,05$): 88,4% живых клеток, 11,6% мертвых клеток в опытной группе (рис. 2, а) и 87,9% живых и 12,1% мертвых клеток в контрольной группе (рис. 2, б). Таким образом, несмотря на дегидратацию в группе эксперимента, исследование морфофункциональной сохранности эндотелиальных клеток ультратонкого трансплантата достоверной разницы с контрольной группой не выявило, что исключает токсический и повреждающий эффект консервационной среды, созданной по предложенной рецептуре.

На втором этапе исследования ультратонкие задние послойные трансплантаты в обеих группах формировались с использованием продольного микрократома путем одинарного прохода режущей головкой 550 мкм (Moria, Франция). Было отмечено, что в опытной группе за счет меньшей гидратации донорских роговиц одинарный проход режущей головкой позволяет формировать статистически достоверно ($p < 0,05$) более тонкие задние послойные трансплантаты (123 ± 27 мкм) по сравнению с контрольной (190 ± 35 мкм) (рис. 3, а–б).

Полученные результаты сканирующей электронной микроскопии сформированных по предложенной технике ультратонких трансплантатов демонстрируют сохранность архитектоники коллагеновых волокон роговиц, консервированных в предложенной среде (рис. 4, а), и признаки гидратации волокон роговицы из контрольной группы на 2-е сутки консервации (рис. 4, б). Дополнительно изображение ультраструктуры трансплантата опытной группы представлено на рис. 5.

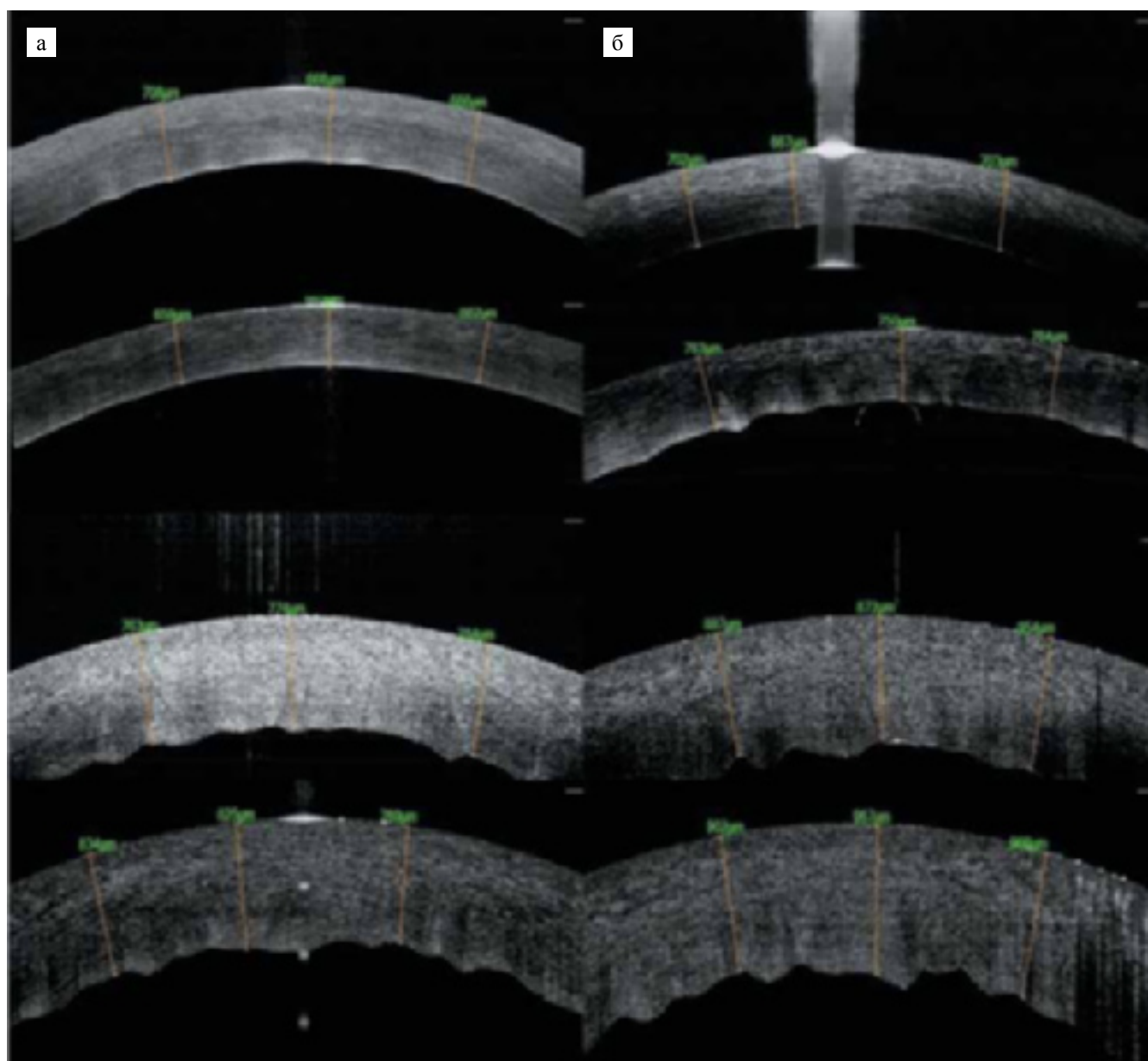


Рис. 1. ОКТ-картина изменения толщины донорской роговицы в опытной (а) и контрольной (б) группе на 0 (1), 1 (2), 3 (3) и 4-е (4) сутки исследования

Fig. 1. OCT-picture of changes in the thickness of the donor cornea in the experimental (a) and control (б) group on the 0th (1), 1st (2), 3rd (3) and 4th (4) day of the study

ОБСУЖДЕНИЕ

Преимущество селективной эндотелиальной кератопластики на данный момент не вызывает сомнений. Проведение операции в условиях «закрытого неба» существенно снижает риск развития опасных интраоперационных осложнений, кроме того, отсутствие обширного сквозного рубца и полное сохранение стромы позволяет сохранить биомеханическую устойчивость роговицы к травме, иннервацию и трофику роговицы реципиента, минимизировать индуцированный астигматизм. В целом это способствует сокращению срока клинической и зрительной реабили-

литации больных после трансплантации донорской роговицы. Задняя автоматизированная послойная кератопластика (ЗАПК) в настоящее время является наиболее часто используемым хирургическим методом реабилитации больных с эпителиально-эндотелиальной дистрофией роговицы различного генеза в развитых странах. Однако до сих пор нерешенным остается вопрос о возможности повышения клинико-функциональных результатов ЗАПК путем использования трансплантатов задних слоев донорской роговицы с минимальной толщиной остаточной стромы. В этой связи на базе глазных тканевых банков может применяться предлагаемая технология заготовки ульт-

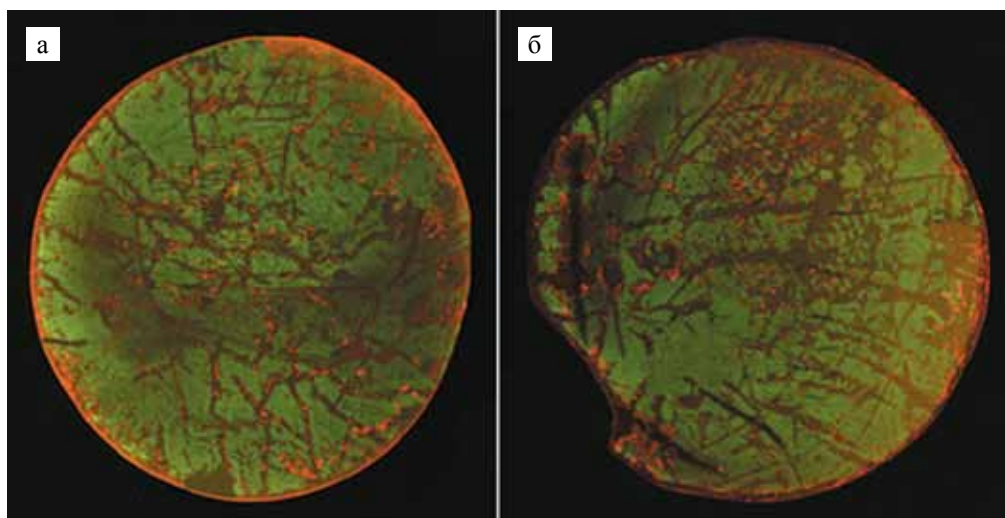


Рис. 2. Флуоресцентная окраска эндотелиальных клеток заднего послойного трансплантата роговицы на 4-е сутки консервации, «Live and dead», в опытной (а) и контрольной (б) группе. Лазерно-сканирующая микроскопия, $\times 100$. Окрашивание: зеленое – живые клетки, красное – мертвые

Fig. 2. Fluorescence staining of endothelial cells of the posterior corneal graft on the 4th day of conservation, Live and dead, in the experimental (a) and control (б) group. Laser scanning microscopy, $\times 100$. Staining: green – living cells, red – dead

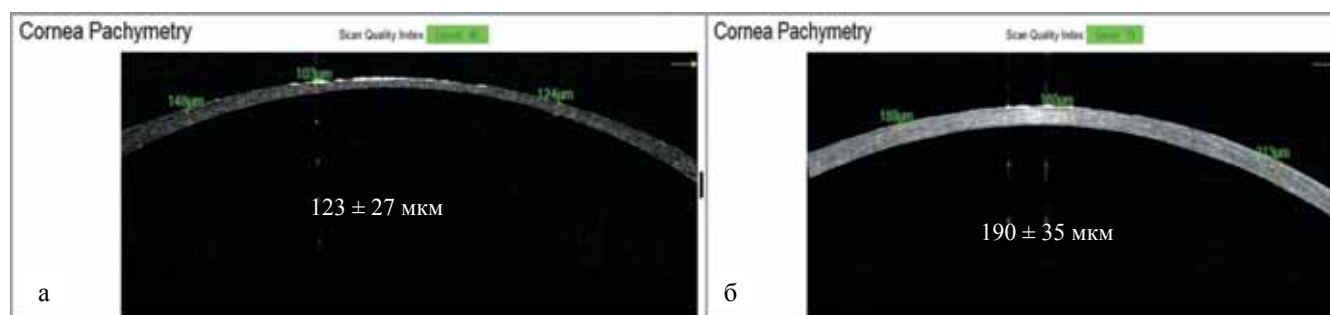


Рис. 3. ОКТ-картина ультратонкого заднего трансплантата донорской роговицы из опытной (а) и контрольной (б) группы

Fig. 3. OCT picture of an ultrathin posterior transplant of a donor cornea from the experimental (a) and control (б) groups

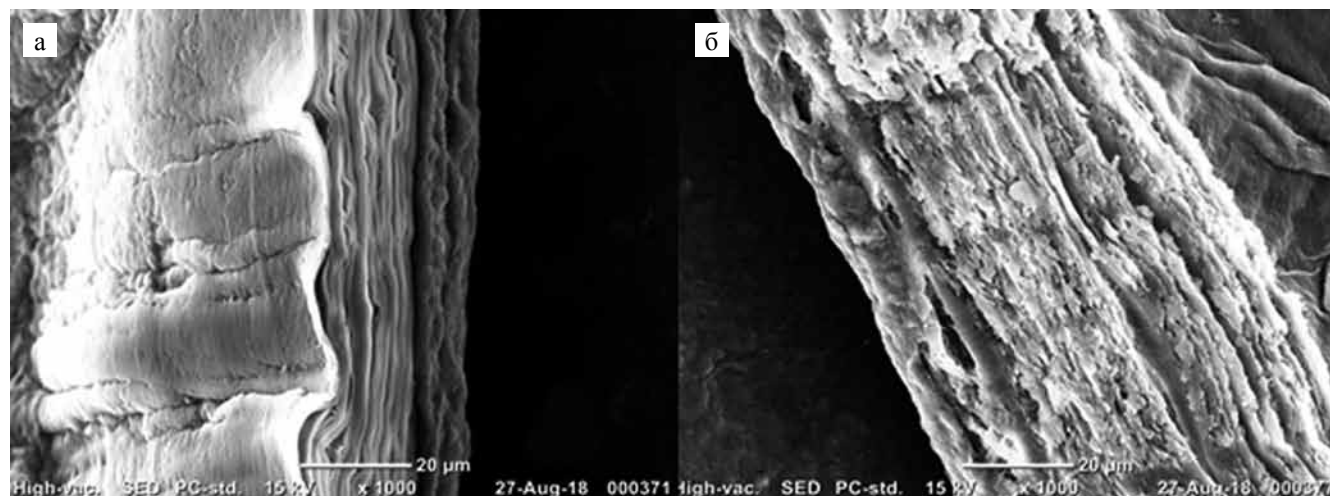


Рис. 4. Картина среза ультратонкого заднего послойного трансплантата на 2-е сутки консервации в опытной (а) и контрольной (б) группе. Электронно-сканирующая микроскопия, $\times 1000$

Fig. 4. The picture of the slice of the ultrathin posterior transplant on the 2nd day of conservation in the experimental (a) and control (б) group. Scanning electron microscopy, $\times 1000$

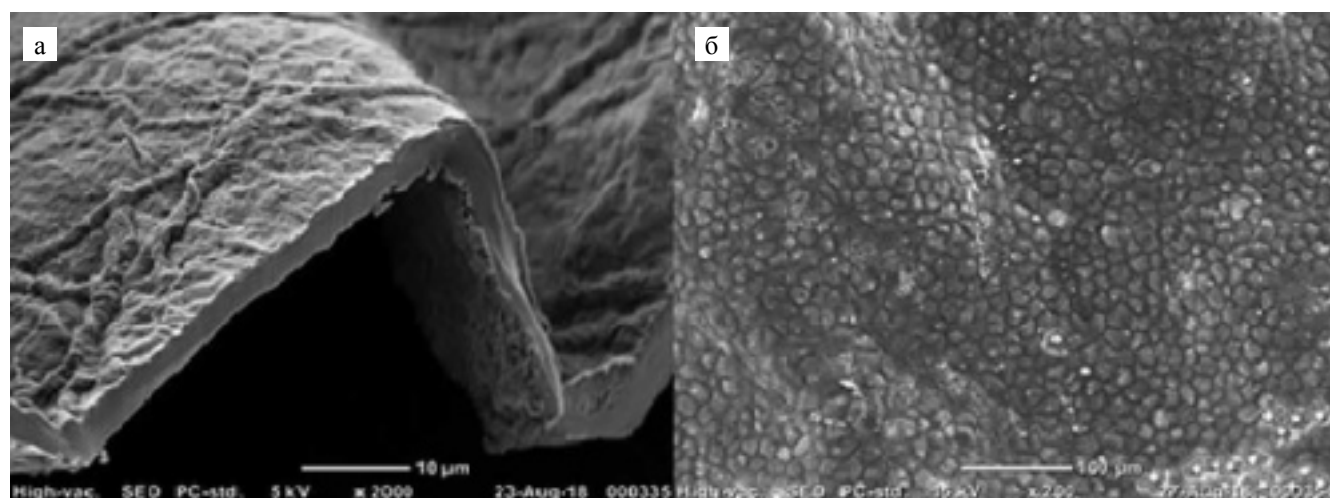


Рис. 5. Картина профиля среза (а) и эндотелиального пласта клеток (б) ультратонкого заднего послойного трансплантата на 2-е сутки консервации в опытной группе. Электронно-сканирующая микроскопия, а – $\times 2000$, б – $\times 200$

Fig. 5. Pictures of the profile of the slice (a) and endothelial layer of cells (б) of the ultrathin posterior graft on the 2nd day of conservation in the experimental group. Scanning electron microscopy, а – $\times 2000$, б – $\times 200$

тратонкого лоскута трупной донорской роговицы на основе созданной консервационной среды для дегидратации и оптимизированной техники выкраивания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанная в данном исследовании консервационная среда [16] обеспечивает более выраженную дегидратацию роговицы в течение первых 2 суток культивирования по сравнению со стандартной консервационной средой. Было показано, что данный факт позволяет получить трансплантат задних слоев роговицы толщиной 123 ± 27 мкм путем одиарного прохода микрокератомом с головкой 550 мкм по сравнению с толщиной 190 ± 35 мкм, полученной в контрольной группе. Изучение морфофункциональной сохранности эндотелиальных клеток ультратонкого трансплантата роговицы не выявило достоверной разницы с контрольной группой, что исключает токсический и повреждающий эффект консервационной среды, созданной по предложенной рецептуре. Таким образом, предложенная консервационная среда может быть использована для получения ультратонких трансплантатов задних слоев роговицы и повышения тем самым функциональных результатов операции.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Flynn TH, Larkin DFP. Penetrating Keratoplasty. *Encyclopedia of the Eye*. 2010; 290–295. doi.org/10.1016/B978-0-12-374203-2.00010-5.
2. Борзенко СА. Медико-технологические и методологические основы эффективной деятельности глазных тканевых банков России в обеспечении операций по сквозной трансплантации роговицы: дис. ... докт. мед. наук. М., 2008. 306. Borzenok SA. Mediko-tekhnologicheskie i metodologicheskie osnovy effektivnoy deyatel'nosti glaznykh tkanevykh bankov Rossii v obespechenii operatsiy po skvoznoy transplantatsii rogovitsy. [Dissertation]. M., 2008. 306.
3. Coster DJ, Lowe MT, Keane MC, Williams KA. A comparison of lamellar and penetrating keratoplasty outcomes: A registry study. *Ophthalmology*. 2014; 5: 979–987. PMID: 24491643. doi: 10.1016/j.ophtha.2013.12.017.
4. Terry MA. Endothelial keratoplasty: history, current state, and future, directions. *Cornea*. 2006; 25 (8): 873–878. PMID: 17102658. doi: 10.1097/01.ico.0000244869.54761.50.
5. Мамиконян ВР, Труфанов СВ. Автоматизированная задняя послойная кератопластика в лечении буллезной кератопатии. *Бюллетень СО РАМН*. 2009. 138 (4): 37–39. Mamikonyan VR, Trufanov CB. Avtomatizirovannaya zadnyaya posloynaya keratoplastika v lechenii bulleznoy keratopatii. *Byulleten' SO RAMN*. 2009; 138 (4): 37–39.
6. Малюгин БЭ, Мороз ЗИ, Борзенко СА, Дроздов ИВ, Айба ЭЭ, Паштаев АН. Первый опыт и клинические результаты задней автоматизированной послойной кератопластики (ЗАПК) с использованием предварительно выкроенных консервированных ультратонких роговичных трансплантатов. *Офтальмохирургия*. 2013; 3: 12–16. Malyugin BE, Moroz ZI, Borzenok SA, Drozdov IV, Aiba EE, Pashtaev AN. First experience and clinical results of DSAEK utilizing the pre-cut ultrathin grafts. *Fyodorov Journal of Ophthalmic Surgery*. 2013; 3: 12–16. (In Russ.).

7. Оганесян ОГ. Система хирургической реабилитации пациентов с эндотелиальной патологией роговицы: дис. ... докт. мед. наук. М., 2011. 308. *Oganesy-an OG. Sistema khirurgicheskoy reabilitatsii patsientov s endotelial'noy patologiei rogovitsy. [Dissertation]. M., 2011. 308.*
8. Price FW Jr, Price MO. Descemet's stripping with endothelial keratoplasty in 200 eyes: Early challenges and techniques to enhance donor adherence. *J Cataract Refract Surg.* 2006 Mar; 32 (3): 411–418. PMID: 16631048. doi: 10.1016/j.jcrs.2005.12.078.
9. Busin M, Madi S, Santorum P, Scorcia V, Beltz J. Ultrathin Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty with the microkeratome double-pass technique: Two-year outcomes. *Ophthalmology.* 2013; 20: 1186–1194. PMID: 23466268. doi: 10.1016/j.ophtha.2012.11.030.
10. Price MO, Price FW. Descemet's Stripping with Endothelial Keratoplasty. Comparative Outcomes with Microkeratome-Dissected and Manually Dissected Donor Tissue. *Ophthalmology.* 2006; 32 (3): 411–418. doi: 10.1016/j.ophtha.2006.05.034.
11. Gorovoy MS. Descemet-stripping automated endothelial keratoplasty. *Cornea.* 2006; 8: 886–889. PMID: 17102661. doi: 10.1097/01.ico.0000214224.90743.01.
12. Tang M, Stoeger C, Galloway J, Holiman J, Bald MR, Huang D. Evaluating DSAEK graft deturgescence in preservation medium after microkeratome cut with optical coherence tomography. *Cornea.* 2013 Jun; 32 (6): 847–850. doi: 10.1097/ICO.0b013e31828a27dd.
13. Boynton GE, Woodward MA. Eye-bank preparation of endothelial tissue. *Curr Opin Ophthalmol.* 2014; 25 (4): 319–324. doi: 10.1097/ICU.0000000000000060.
14. Ho Wang Yin G, Sampo M, Soare S, Hoffart L. Impact des caractéristiques du greffon cornéen sur les résultats cliniques après Descemet stripping automated endothelial keratoplasty (DSAEK) [Effect of donor graft characteristics on clinical outcomes in Descemet stripping automated endothelial keratoplasty (DSAEK)]. *J Fr Ophthalmol.* 2017; 40 (1): 36–43. doi: 10.1016/j.jfo.2016.09.018.
15. Федоров СН, Мороз ЗИ, Борзенко СА, Комах ЮА. Среда для консервации роговицы глаза. Патент РФ № 2069951 от 21.02.1993 г. *Fedorov SN, Moroz ZI, Borzenok SA, Komakh YuA. Sreda dlya konservatsii rogovitsy glaza. Patent RF № 2069951 ot 21.02.1993 g.*
16. Борзенко СА, Малюгин БЭ, Тонаева ХД, Ахмедов АК, Керимов ТЗ, Комах ЮА и др. Средство для консервации заднего послойного трансплантата донорской роговицы. Патент РФ № 2676311 от 15.02.2018 г. *Borzenok SA, Malyugin BE, Tonaeva KhD, Akhmedov AK, Kerimov TZ, Komakh YuA i dr. Sredstvo dlya konservatsii zadnego posloynogo transplantata donorskoy rogovitsy. Patent RF № 2676311 ot 15.02.2018 g.*

Статья поступила в редакцию 15.06.2020 г.

The article was submitted to the journal on 15.06.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-3-174-181

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О КРИТЕРИЯХ СЕЛЕКЦИИ ДОНОРОВ СЕРДЦА

*Э.А. Тенчурина¹, М.Г. Минина^{1, 2}*¹ ГБУЗ «Городская клиническая больница имени С.П. Боткина» ДЗМ,

Московский городской координационный центр органного донорства, Москва

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

При ограниченных возможностях имеющегося донорского пула и одновременно растущих потребностях в трансплантации донорского сердца встает вопрос о расширении критериев отбора донорского сердца, как одного из способов повышения доступности трансплантации органов, и донорского сердца в частности. Использование доноров с расширенными критериями, с одной стороны, позволяет увеличить число трансплантаций и сократить время пребывания в листе ожидания, с другой – повышает риск неблагоприятного исхода трансплантации. Соответственно, доноры высокого риска нуждаются в более тщательной объективной оценке с использованием прогностических моделей, а органы, полученные от доноров с расширенными критериями – в оптимальном подборе пары «донор–реципиент». Анализ мировых и отечественных исследований, приведенный в данном обзоре, раскрывает глубину современной проблемы селекции доноров сердца.

Ключевые слова: доноры сердца с расширенными критериями, селекция доноров сердца, критерии оценки донорского сердца, прогностические модели.

MODERN IDEAS IN HEART DONOR SELECTION CRITERIA

*E.A. Tenchurina¹, M.G. Minina^{1, 2}*¹ Moscow Coordinating Center for Organ Donation (Botkin City Clinical Hospital), Moscow, Russian Federation² Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation

With the limited capacity of the available donor pool and the simultaneously growing demand for heart transplantation, expanding the heart donor selection criteria as one of the ways of increasing the availability of organ transplantation, and particularly donor heart, has become a challenge. On one hand, the use of expanded criteria donors increases the number of transplants and reduces the time spent on the waiting list. On the other hand, however, it increases the risk of adverse transplant outcomes. Accordingly, high-risk donors require a more thorough objective assessment using predictive models, while organs obtained from expanded criteria donors, require optimal selection of a donor-recipient pair. Analysis of global and national studies presented in this review reveals the depth of the current problem of heart donor selection.

Keywords: expanded criteria heart donors, cardiac donor selection, donor heart assessment criteria, prognostic models.

ВВЕДЕНИЕ

Эффективность трансплантации сердца имеет прямую зависимость от максимального использования имеющегося донорского ресурса и предполагает, что каждое донорское сердце должно рассматриваться для трансплантации всеми действующими про-

граммами во избежание потери «рабочего» донорского органа. Если предположить, что все предлагаемые донорские сердца будут успешно пересажены, проблема нехватки органов станет менее острой [1]. Однако клиницисты, сталкиваясь с сердцами от доноров с расширенными критериями, склонны

Для корреспонденции: Тенчурина Эльмира Анвяровна. Адрес: 125284, Москва, 2-й Боткинский пр-д, 5. Тел. (967) 113-87-64. E-mail: arimle@inbox.ru

Corresponding author: Elmira Tenchurina. Address: 5, Vtoroy Botkinsky proyezd, Moscow, 125284, Russian Federation. Phone: (967) 113-87-64. E-mail: arimle@inbox.ru

чаще принимать решение об отказе, опасаясь негативного влияния факторов риска донора на исход трансплантации сердца [2]. Несмотря на нехватку органов, лишь 39,2% из заявленных в Eurotransplant доноров в 2010 году были рассмотрены в качестве возможных доноров сердца, и из них только 66,6% стали эффективными донорами [3]. Кроме того, в отличие от США, где начиная с 2000-х годов не наблюдается роста числа эффективных доноров сердца с расширенными критериями, средний возраст доноров сердца в Европе продолжает увеличиваться, составив 34 года в 1996 г., 36 лет – в 2000 г., в 2010 г. – повышение до 43 лет [3, 4].

Таким образом, существует обоснованная потребность в объективной оценке донорского сердца, основанной на моделировании степени влияния факторов риска донора на исход трансплантации сердца. В современных условиях, когда число «идеальных» доноров крайне невелико и большинство доноров находится в так называемой серой зоне, т. е. между «идеальными» и «непригодными», необходимы выверенные критерии оценки донорского сердца, которые помогут в объективном принятии решения – использовать или отказаться от донорского сердца [2].

СЕЛЕКЦИЯ ДОНОРОВ СЕРДЦА. ДОНОРЫ СЕРДЦА С РАСШИРЕННЫМИ КРИТЕРИЯМИ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА РЕЗУЛЬТАТЫ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА

В настоящее время критерии селекции донорского сердца широко различаются в зависимости от конкретной страны, медицинского учреждения, выполняющего трансплантацию сердца, опыта работы с донорами, имеющими расширенные критерии и т. д. Наиболее заметные различия касаются возраста донора, причины смерти, наличия в анамнезе курения табака, состояния гемодинамики донора, а также остановок кровообращения, эпизодов гипотонии, их количества и длительности [5, 6].

К традиционным критериям отбора доноров сердца относятся: возраст <55 лет, отсутствие травмы грудной клетки и заболеваний сердца, отсутствие длительных гипотензии и гипоксемии, стабильная гемодинамика, среднее артериальное давление (САД) >60 мм рт. ст., центральное венозное давление (ЦВД) от 8 до 12 мм рт. ст., инотропная поддержка менее 10 мг/кг/мин (дофамин или добутамин), ЭКГ и Эхо-КГ без патологических изменений, состояние коронарных артерий по данным коронароангиографии (КАГ) в соответствии с возрастом и анамнезом донора [7].

Современные подходы в селекции донорского сердца, в первую очередь, учитывают факторы риска донора, способные негативно повлиять на результаты трансплантации. Возраст донора повсеместно рассматривается как наиболее важный фактор риска

наряду с фракцией выброса левого желудочка (ЛЖ) <50%, которая не улучшается после кондиционирования донора, и гипертрофией миокарда ЛЖ [8].

Доноры, характеристики которых связаны с повышенным риском развития недостаточности трансплантата, относятся к донорам с расширенными критериями (ДРК). По мнению Kilic (2014), с целью сокращения дефицита донорских сердец необходимо уделять особое внимание работе с донорами, имеющими расширенные критерии (ДРК). Такие доноры требуют тщательного подбора реципиента, что способствует достижению оптимальных результатов выживаемости реципиентов, получивших сердце от ДРК [6].

Донорские факторы, которые наиболее часто встречаются в публикациях в качестве независимых факторов риска исхода трансплантации, включают: возраст донора, женский пол и время холодовой ишемии [9].

Несмотря на то что клинические характеристики реципиента являются более значимыми в прогнозировании выживаемости после трансплантации, факторы риска донора также имеют доказанное влияние на результаты трансплантации [9–11].

Соответственно, в процессе принятия решения о трансплантации донорского сердца необходимо комплексно учитывать факторы донора и реципиента. Сердечные трансплантаты, полученные от доноров высокого риска и пересаженные реципиентам с наименьшим числомотягощающих факторов, демонстрируют более высокие показатели выживаемости, кроме того, оптимизированный подбор донора и реципиента является одним из возможных способов сокращения дефицита донорских органов для трансплантации [9, 11].

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ВЛИЯНИЕ ВОЗРАСТА ДОНОРА НА РЕЗУЛЬТАТЫ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА

Одно из последних исследований, выполненное Bergenfeld (2019), демонстрирует прогностически неблагоприятное влияние возраста донора при разнице с реципиентом в +10 лет в виде повышения коэффициента риска (КР) смерти реципиента в 30-дневный период после трансплантации до 1,19, в 1-й год после трансплантации – 1,16, в периоды времени после трансплантации 1–3 года, 3–5 лет, 5–10 лет коэффициент риска составляет 1,12; 1,07 и 1,07 соответственно. В исследование были включены 64 354 случая трансплантации сердца за период 1988–2013 гг. [12]. В другом исследовании, выполненном в США (Lushaj, 2019), ретроспективно анализировали 755 пациентов после трансплантации сердца и выявили, что долгосрочная выживаемость реципиентов, которым было пересажено сердце от донора <45 лет, существенно выше в сравнении с

реципиентами, получившими сердце от донора >45 лет. Коэффициент риска смерти также был выше у реципиентов сердца от доноров >45 лет [13]. В то же время исследование, выполненное Ravi (2019) с использованием регистра UNOS за период 2008–2017 гг. (19 514 трансплантаций сердца), показывает, что при трансплантации сердца от донора старше 50 лет реципиенту возрастного диапазона 18–39 лет снижения выживаемости не отмечается. Реципиенты возрастной группы 40–49 лет, получившие сердце от доноров 40–49 лет и старше 50 лет, имеют снижение 10-летней выживаемости на 43 и 75% соответственно в сравнении с группой реципиентов, получивших донорские сердца возрастного диапазона 18–29 лет. Аналогично у реципиентов <50 лет, которым были пересажены донорские сердца 30–39, 40–49, >50 лет, отмечалось снижение 10-летней выживаемости на 14, 27 и 47% соответственно. Таким образом, важно отметить, что возраст донора не снижает выживаемости у реципиентов молодого возраста [14].

ГЕНДЕРНОЕ И АНТРОПОМЕТРИЧЕСКОЕ СООТВЕТСТВИЕ ДОНОРА И РЕЦИПИЕНТА

Ряд исследований выявили, что женский пол донора рассматривается как независимый фактор увеличения смертности реципиентов противоположного пола [15–21]. Мужчины, получившие сердце от доноров мужского пола, имели самую высокую кумулятивную выживаемость за 5 лет [22]. Механизмы, лежащие в основе полученных результатов гендерного несоответствия, не вполне ясны, но могут быть связаны с несоответствием размеров сердца, несмотря на совпадение веса донора и реципиента противоположного пола [23].

Разница в весе в пределах 20–25%, или отношение веса донора к реципиенту в диапазоне 0,8–1,2, обычно считаются приемлемыми для выполнения трансплантации. D.O. Taylor et al. (2007) выявили, что уменьшение соотношения индекса массы тела донора и реципиента является значимым фактором риска повышения 5-летней смертности [24]. Вместе с тем N.D. Patel et al. (2008) путем анализа объединенной базы Реестра донорских органов за период 1999–2007 гг. обнаружили, что 30-дневная смертность была самой высокой у реципиентов, имевших соотношение по весу донор/реципиент <0,8, но находка не имела статистической значимости [25]. R.M. Reed et al. (2014) продемонстрировали, что не было выявлено разницы в выживаемости между недостаточным весом донора, избыточным весом донора и группой, в которой соотношение по весу с реципиентом было оптимальным. В современной клинической практике соотношение по весу между донором и реципиентом учитывается в комплексе с наличием других факторов риска, таких как клиническое состояние и анамнез донора, время ишемии трансплантата.

Аналогично индекс массы тела (ИМТ) учитывается наиболее часто в случаях выраженного ожирения, как донора, так и реципиента [16]. Таким образом, при селекции донора и подборе пары «донор–реципиент» вес донора при отсутствии других факторов риска не является противопоказанием для трансплантации сердца. В последнее время внимание уделяется соотношению массы левого желудочка донора и реципиента, поскольку было выявлено снижение выживаемости при несоответствии массы ЛЖ более чем на 10–15% [23].

ВЛИЯНИЕ ПРИЧИНЫ СМЕРТИ ДОНОРА НА РЕЗУЛЬТАТЫ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА

Некоторые одноцентровые исследования демонстрируют снижение выживаемости реципиентов и увеличение частоты развития васкулопатии сердечного трансплантата в случае, если смерть донора наступила от нетравматического повреждения головного мозга. Suarez-Pierre et al. (2019) исследовали 20 244 пациента, перенесших трансплантацию сердца в период 2007–2016 гг., и выявили отсутствие статистически значимого различия в 1- и 5-летней выживаемости реципиентов, получивших сердце от доноров с травматическим повреждением головного мозга и доноров без травматического повреждения головного мозга (сосудистого или иного генеза). Также не было обнаружено различий между группами реципиентов по частоте возникновения васкулопатии пересаженного сердца [26]. Исследование, выполненное Barac et al. (2019) и имеющее такие же цели, как и вышеприведенное исследование, включало в себя 58 474 пациента после трансплантации сердца. Не было выявлено различия в выживаемости пациентов, медиана выживаемости была идентична между группами пациентов и составила 12,3 года [27]. Приведенное исследование является наибольшим на сегодняшний день по количеству включенных в него пациентов, и полученные результаты должны снять опасения относительно влияния причины смерти донора на результаты трансплантации сердца. Более раннее исследование, выполненное Singhal et al. (2009), посвящено изучению влияния причины смерти донора на результаты трансплантации органов – сердца, легких, печени, почек. В исследовании рассматривались такие причины смерти донора, как сосудистое заболевание мозга (инсульт), травматическое повреждение головного мозга, аноксическое повреждение головного мозга, опухоль мозга и другие причины. Результаты однофакторной модели пропорциональных рисков смерти пациента (Cox) после трансплантации сердца, легких, печени показывают, что коэффициент риска (КР) смерти реципиента после трансплантации сердца от донора с травматическим повреждением головного мозга является референтным значением и составляет 1,0,

при этом коэффициент риска смерти реципиента, получившего сердце от донора с сосудистым повреждением головного мозга, составляет 1,20, при смерти донора от гипоксии коэффициент риска меньше референтного – 0,96. Результаты мультифакторной модели пропорциональных рисков, скорректированной по возрасту, полу, наличию цитомегаловирусной (ЦМВ) инфекции, сахарному диабету, зависимости от табака и кокаина, гипертонической болезни и т. д., продемонстрировали сохранение показателей выживаемости реципиентов в зависимости от причины смерти донора [28]. Швейцарские исследователи во главе с Rizzi (2016) не обнаружили влияния причины смерти донора на выживание пациентов после трансплантации сердца. В исследование вошли 114 пациентов, перенесших трансплантацию сердца в 1997–2009 гг. Примечательно, что для отнесения донора к категории «донор с расширенными критериями» в данном исследовании использовались такие известные показатели медицинского статуса пациента, находящегося в критическом состоянии, как APACHE II, SAPS II и SOFA. Не обнаружена разница в выживаемости между реципиентами, получившими сердце от донора со стандартными и расширенными критериями в соответствии со значениями указанных показателей критического состояния [29].

ДОНОРЫ СЕРДЦА, ПЕРЕНЕСШИЕ СЕРДЕЧНО-ЛЕГОЧНУЮ РЕАНИМАЦИЮ. ДЛИТЕЛЬНОСТЬ ИШЕМИИ ТРАНСПЛАНТАТА

В настоящее время наблюдается настороженность в отношении использования донорского сердца от донора с состоявшейся остановкой сердечной деятельности и последующей сердечно-легочной реанимацией (СЛР). Ключевой вопрос заключается в том, может ли такое сердце выдерживать в дальнейшем ишемическое повреждение, сопровождающее смерть головного мозга, последующие консервацию, транспортировку, и важно, какой будет выживаемость реципиентов после трансплантации такого сердца. Влияние остановки кровообращения у доноров на результаты трансплантации сердца отражено в ретроспективном исследовании, куда были включены 19 980 доноров за период 1994–2011 гг., из которых в 856 случаях наблюдалась остановка сердечной деятельности [30]. Было установлено, что 1-, 5-, 10-летняя выживаемость между стандартными донорами и донорами с остановкой кровообращения существенно не различалась. Этими же авторами выявлено, что пациенты, которым было пересажено сердце от доноров с остановкой сердца кратковременного характера (0–8 мин), имели лучшие показатели выживаемости в сравнении с другими группами, включая тех, кто получил донорское сердце от стандартного донора. В качестве объяснения причины авторами была выдвинута гипотеза ишемического преконди-

ционирования, которая впервые описана С.Е. Murry et al. (1986) [31]. Короткий эпизод ишемии замедляет скорость истощения АТФ, способствует сохранению внутриклеточной структуры, снижению потребления кислорода, задержке и уменьшению клеточного некроза во время последующих ишемических эпизодов. Таким образом, С.Е. Murry et al. (1986) выдвинули предположение, что множественные кратковременные ишемические эпизоды могут защитить сердце от последующего ишемического воздействия. Тем не менее увеличение продолжительности остановки сердечной деятельности у донора, превышающей 25 минут, продемонстрировало уменьшение выживаемости реципиентов [30].

Аналогичные результаты отсутствия отрицательного влияния остановки сердечной деятельности у доноров на выживаемость реципиентов после трансплантации сердца получены А. Galeone et al. (2017). В исследование включили 584 случая донорства сердца в 2004–2012 гг., из которых у 117 доноров отмечалась остановка сердечной деятельности средней продолжительностью 15 минут (5–25 минут). Авторами установлено, что показатели 30-дневной и 1-летней выживаемости в группах с СЛР и без СЛР существенно не различались, при этом 10-летняя выживаемость имела значительно лучший результат у доноров с СЛР (69,4% vs 50,4%) [32]. Возможное объяснение полученным результатам, предполагаемое А. Galeone (2017), что в группу с СЛР вошли более молодые доноры. Хорошо известно, что молодой возраст донора является доказанным фактором, имеющим положительное влияние на выживаемость реципиентов сердца [33]. Кроме того, не исключался ишемический прекондиционирующий эффект кратковременной остановки сердечной деятельности, описанный выше [31].

Российскими авторами (Попцов В.Н., 2019) также изучалось влияние остановки сердечной деятельности донора на выживаемость реципиентов после трансплантации сердца. В исследование были включены 28 реципиентов, которым в период с 01.01.2011 г. по 31.12.2017 г. была выполнена трансплантация сердца (ТС) от доноров, перенесших СЛР, что составило 4,0% от общего числа ТС за анализируемый период ($n = 698$). По частоте развития ранней дисфункции сердечного трансплантата, потребовавшей применения посттрансплантационной механической поддержки кровообращения (МПК), реципиенты групп «донор с СЛР» и «донор без СЛР» достоверно не различались. При сравнительном анализе достоверного различия в 1-, 3- и 5-летней выживаемости реципиентов двух групп также выявлено не было [34]. Таким образом, при анализе вышеперечисленных исследований не было найдено убедительных доказательств снижения выживаемости реципиентов после трансплантации сердца от донора с остановкой

сердечной деятельности. СЛР у донора не должна исключать возможность рассмотрения донорского сердца для трансплантации [35].

Говоря о донорах с расширенными критериями, необходимо знать допустимые пределы времени ишемии донорского сердца (консервации), поскольку превышение сроков консервации является фактором, негативно влияющим на выживаемость реципиентов.

Выделяют две степени длительности ишемии сердечного трансплантата, оптимальную и длительную. Оптимальной считается ишемия менее 180 минут, а длительной – более 240 минут. 1-летняя выживаемость реципиентов сопоставима для оптимальной и продолжительной ишемии, хотя долгосрочных данных (10-летняя выживаемость) пока недостаточно для анализа [36]. Имеются исследования, демонстрирующие, что более длительное время ишемии связано с повышением смертности реципиентов [37–39]. Пороговым значением ишемии донорского сердца считается значение в 300 минут при недостаточных клинических данных, превышающих данное значение. При наличии других факторов риска – пожилой возраст донора, сердечно-сосудистые факторы, высокие дозы инотропной и вазопрессорной поддержки – указанный порог длительности ишемии не может быть превышен [40, 41].

УПРАВЛЯЕМЫЙ РИСК ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА ОТ ДОНОРОВ С РАСШИРЕННЫМИ КРИТЕРИЯМИ

Выбор донорского сердца зачастую очень сложен и субъективен, несмотря на имеющиеся в распоряжении руководящие принципы для принятия решения о возможности использования донорского сердца для трансплантации. Если один центр трансплантации признает донорское сердце непригодным для пересадки, его можно и нужно предлагать в другие центры [42].

В исследовании, выполненном в Манчестере (Великобритания) в 2007 году, представлен анализ «первичных» и «вторичных» причин отказов от донорского сердца, когда отказывались первый и последующие центры трансплантации. Обращает на себя внимание, что диапазон частоты отказов второго центра по таким критериям, как высокие дозы инотропной поддержки, нестабильная гемодинамика, изменения на ЭКГ, в 1,5–6 раз ниже, чем у первого центра. Однако по таким донорским критериям, как возраст донора и курение, второй центр отказывался от 2,5 до 6 раз чаще, чем первый, что еще раз подчеркивает серьезную разницу между центрами в критериях отбора донорского сердца и демонстрирует необходимость оценки донора несколькими центрами с целью полноценного использования донорского ресурса в условиях его дефицита (табл.) [43].

Таблица

Причины, по которым сердца были отклонены первым центром (n = 93)

Reasons Why Hearts Were Declined by first centre (n = 93)

Причины	Первичные	Вторичные
Инотропная поддержка (%) ¹	23,6	4,3
Нестабильность гемодинамики (%) ²	10,7	8,6
Изменения ЭКГ (%) ³	10,7	5,3
Возраст (%) ⁴	5,3	12,6
Отягощенный анамнез	16,1	13,9
Изменения на рентгенограмме (%) ⁵	4,3	3,2
Курение (%) ⁶	6,5	38,7
Другие (%) ⁷	22,8	13,1

Примечание. ¹ – допамин >10 мкг/кг/мин или норадреналин >0,2 мкг/кг/мин или адреналин >0,5 мкг/кг/мин; ² – сочетание высоких диастолических объемов сердца в сочетании с низким системным артериальным; ³ – патологический ритм, блокады или изменение сегмента ST на ЭКГ; ⁴ – максимально до 65 лет; ⁵ – патологические размеры сердца относительно грудной полости или отек легких; ⁶ – 1 пачка в день на протяжении 20 лет; ⁷ – астроцитомы IV степени, опухоли головного мозга неизвестной гистологической природы, гипернатриемия и гиперкалиемия с неустановленной причиной, злоупотребление наркотиками.

Note. ¹ – dopamine >10 µg/kg/min or noradrenalin >0.2 µg/kg/min or adrenaline >0.5 µg/kg/min; ² – high filling pressures and low systemic blood pressure; ³ – abnormal rhythm, bundle branch block, or ST wave changes; ⁴ – up to a maximum of 65 years; ⁵ – abnormal cardiac size/cardiopulmonary ratio or pulmonary oedema; ⁶ – up to 20 pack-years (i.e. 1 pack/d for 20 years); ⁷ – cerebral astrocytoma grade IV, brain tumour with unknown histological findings, hypernatremia and hyperkalemia of unknown cause and significant history of drug abuse.

В ходе данного исследования также было выделено две группы реципиентов, в одной (группа В) пересаживали сердца с первой попытки распределения, во второй (группа А) – после отказа других центров трансплантации. По результатам исследования между двумя группами не было выявлено существенной разницы в 30-дневной смертности, длительности пребывания в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) и общего срока госпитализации. Не отмечено статистически достоверной разницы по частоте возникновения смерти от кардиальных причин: 30% в группе А и 22% в группе В. Ранняя дисфункция трансплантата была основной причиной смерти в 75% случаев в группе А и в 69% в группе В. Кривые выживаемости Каплана–Мейера не показали значимой разницы в долгосрочном выживании (6 лет наблюдения), логарифмический ранговый критерий = 0,30.

Во всех случаях донорства сердца по расширенным критериям первостепенное значение имеет соотношение риска и пользы, связанных с выполнением трансплантации сердца у конкретного реципиента, а также оценка риска смерти в случае отказа от трансплантации и дальнейшего пребывания реципиента в листе ожидания. Следовательно, каждое решение должно приниматься индивидуально и взвешенно. Некоторые хирурги пересаживают пограничные сердца реципиентам высокого риска, считая, что реципиенты высокого риска получают шанс в случае такой трансплантации. Другие хирурги пересаживают субоптимальные органы реципиентам с более низким риском смерти, опираясь на данные, что тяжесть состояния реципиента является определяющим фактором ранней выживаемости после трансплантации [44].

ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ ОЦЕНКИ ДОНОРСКОГО СЕРДЦА

Как уже указывалось выше, множество факторов донора и реципиента способны оказать влияние на исход трансплантации сердца. Соответственно, объективная оценка донорского сердца с позиции выживаемости реципиентов в разные сроки после трансплантации является важной совместной задачей донорской службы и специалистов в области трансплантации сердца. В мире с этой целью используются различные прогностические модели, включающие как донорские, так и реципиентские факторы. Точками исхода, для которых количественно оценивается степень риска, является выживаемость реципиентов после трансплантации и решение об отказе или использовании донорского сердца. Среди наиболее известных моделей необходимо назвать Index for Mortality Prediction After Cardiac Transplantation (ИМПАКТ), Индекс прогнозирования смертности после трансплантации сердца, разработанный в США (Weiss E.S., 2011), учитывает 12 предоперационных факторов реципиента и максимально составляет 50 баллов, позволяет прогнозировать годовую выживаемость реципиентов после трансплантации сердца [45, 46].

J. Segovia et al. (2011) ретроспективно исследовали результаты трансплантаций сердца, выполненных в условиях одной клиники у 621 реципиента в период 1984–2006. Использование мультифакторного анализа позволило выявить шесть независимых факторов, повышающих риск смерти реципиентов после трансплантации, четыре из которых являются факторами реципиента – давление правого предсердия ≥ 10 мм рт. ст., возраст реципиента ≥ 60 лет, сахарный диабет, зависимость от инотропной поддержки, и два донорских фактора – возраст донора ≥ 30 лет, продолжительность ишемического времени ≥ 240 мин. На основе этих результатов был разработан калькуля-

тор рисков RADIAL. Максимальное число составило 6 баллов. Каждое последующее увеличение на один балл было связано с возрастающим риском первичной недостаточности трансплантата (ПНТ). Оценка в 4–6 баллов была связана с более чем 5-кратным увеличением риска ПНТ (OR = 5,33, $p = 0,01$) [47].

Французские исследователи во главе с С. Jasseron (2015) предложили свою модель прогнозирования рисков после трансплантации сердца, учитывающую как донорские, так и реципиентские факторы. Модель, валидизированная на национальном пуле доноров сердца, показала влияние на годовую выживаемость таких факторов реципиента, как возраст > 50 лет, врожденную клапанную патологию сердца, и как следствие, развитие кардиомиопатии, повышенный уровень билирубина, низкую скорость клубочковой фильтрации, среди донорских факторов только женский пол донора [9]. Уже известной нам группой исследователей из США во главе с E.S. Weiss (2012) была разработана первая прогностическая модель оценки донорского сердца с учетом только донорских факторов. В ходе логистической регрессии и мультивариантной модели были выявлены 4 донорских фактора, значимо оказывающих влияние на годовую выживаемость после трансплантации сердца – время холодовой ишемии (консервации), возраст донора, расовые различия между донором и реципиентом и соотношение мочевины/креатинин ≥ 30 [10].

Используя Европейский регистр донорских органов, J.M. Smits et al. (2012), создали модель оценки донорского сердца с использованием более 20 донорских факторов. С помощью метода логистической регрессии была выявлена степень влияния донорских факторов на уровень 3-летней выживаемости реципиентов [2, 47].

Необходимо упомянуть оценку стратификации риска, разработанную с использованием регистра трансплантированных органов UNOS для прогнозирования годовой выживаемости после трансплантации сердца. Оценка включает 13 факторов реципиента, 3 фактора донора, а также 2 общих фактора [38].

Международный алгоритм выживания при трансплантации сердца (The International Heart Transplant Survival Algorithm) – прогностическая модель краткосрочной и долгосрочной выживаемости после трансплантации сердца, использующая сложное моделирование 32 факторов риска реципиента и 11 факторов риска донора [48]. Также комбинированная оценка реципиента и донора использовалась в исследовании J.R. Trivedi (2016), где было показано, что трансплантация сердца от донора высокого риска реципиенту низкого риска связана с хорошей 5-летней выживаемостью, тогда как пересадка сердца от донора высокого риска реципиенту высокого или очень высокого риска приводит к низкому уровню пятилетней выживаемости – от 65 до 49% [49].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В условиях увеличения числа доноров с расширенными критериями необходимость пересмотра подходов к селекции доноров сердца приобретает первостепенное значение. С целью повышения эффективности трансплантации сердца, выбора оптимального реципиента для трансплантации, совершенствования алгоритмов распределения донорского сердца, максимального использования донорского ресурса специалистам донорской службы и клиницистам необходим современный инструмент в виде прогностической модели для комплексной объективной оценки донорского сердца и факторов риска реципиента в контексте исхода трансплантации сердца. Для России, где за последние 12 лет (2006–2018) число трансплантаций сердца увеличилось в 25,6 раза, в том числе и за счет работы с донорами, имеющими расширенные критерии, разработка и использование подобной прогностической модели приобретает чрезвычайную актуальность.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Russo MJ, Davies RR, Hong KN et al. Matching high-risk recipients with marginal donor hearts is a clinical effective strategy. *Ann Thorac Surg.* 2009; 87: 1066–1071.
2. Smits JM, De Pauw M, de Vries E et al. Donor scoring system for heart transplantation and the impact on patient survival. *J Heart Lung Transplant.* 2012; 31: 387–97.
3. Eurotransplant: Donation, waiting lists, and transplantation. In: Oosterlee A, Rahmel A, eds. Annual report 2010 of the Eurotransplant International Foundation. Leiden: Eurotransplant International Foundation; 2010.
4. Nativi JN, Brown RN, Taylor DO et al. Temporal trends in heart transplantation from high risk donors: are there lessons to be learned? A multiinstitutional analysis. *J Heart Lung Transplant.* 2010; 29: 847–852.
5. John R. Donor management and selection for heart transplantation. *Semin Thorac Cardiovasc Surg.* 2004; 16: 364–369.
6. Kilic A, Sitaramesh E, Chittoor B. Donor selection in heart transplantation. *J Thorac Dis.* 2014; 6 (8): 1097–1104.
7. Sabiston & Spencer surgery of the chest, 8th ed. Sellke FW, del Nido PJ, Swanson SJ et al. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2010.
8. Sorabella RA, Guglielmetti L, Kantor A et al. Cardiac donor risk factors predictive of short-term heart transplant recipient mortality: An analysis of the united network for organ sharing database. *Transplant Proc.* 2015; 47: 2944–2951.
9. Jasseron C, Legeai C, Cantrelle C et al. Donor- and recipient-related predictors of mortality after heart transplantation: results from a contemporary French national cohort. *Heart Lung Transplant.* 2015; 34 (4): S61.
10. Weiss ES, Allen JG, Kilic A et al. Development of a quantitative donor risk index to predict short-term mortality in orthotopic heart transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2012; 31: 266–273.
11. Trivedi JR, Cheng A, Ising M, Lenneman A, Birks E, Slaughter MS. Heart Transplant Survival Based on Recipient and Donor Risk Scoring: A UNOS Database Analysis. *ASAIOJ.* 2016; 62: 297–301.
12. Bergenfeld H, Lund H, Stehlik J, Andersson B. Time-dependent prognostic effects of recipient and donor age in adult heart transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2019; 38 (2): 174–183.
13. Lushaj E, Dhingra R, Osaki S, Johnson M, Kohmoto T. Donor Age Significantly Impacts Long Term Survival of Patients Undergoing Heart Transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2019; 38 (4): S267.
14. Ravi Y, Srikanth N, Paul IW, Whitson BA, Emami S, Sai-Sudhakar CB. Heart Transplant Recipient and Donor Age: Should the Younger Recipient Be Matched with the Younger Donor? *J Heart Lung Transplant.* 2019; 38 (4): S161–S162.
15. McCarthy JF, McCarthy PM, Massad MG, Cook DJ, Smedira NG, Kasirajan V et al. Risk factors for death after heart transplantation: does a single-center experience correlate with multicenter registries? *Ann Thorac Surg.* 1998; 65 (6): 1574–1578.
16. Solomon NA, McGiven JR, Alison PM, Ruygrok PN, Haydock DA, Coverdale HA et al. Changing donor and recipient demographics in a heart transplantation program: influence on early outcome. *Ann Thorac Surg.* 2004; 77 (6): 2096–2102.
17. Tsai FC, Marelli D, Bresson J, Gjertson D, Kermani R, Ardehali A et al. Recent trends in early outcome of adult patients after heart transplantation: a single-institution review of 251 transplants using standard donor organs. *Am J Transplant.* 2002; 2 (6): 539–545.
18. Stehlik J, Feldman DS, Brown RN, VanBakel AB, Russell SD, Ewald GA et al. Interactions among donor characteristics influence post-transplant survival: a multi-institutional analysis. *J Heart Lung Transplant.* 2010; 29 (3): 291–298.
19. Khush KK, Kubo JT, Desai M. Influence of donor and recipient sex mismatch on heart transplant outcomes: analysis of the International Society for Heart and Lung Transplantation Registry. *J Heart Lung Transplant.* 2012; 31 (5): 459–466.
20. Prendergast TW, Furukawa S, Beyer 3rd AJ, Browne BJ, Eisen HJ, Jeevanandam V. The role of gender in heart transplantation. *Ann Thorac Surg.* 1998; 65 (1): 88–94.
21. Al-Khalidi A, Oyer PE, Robbins RC. Outcome analysis of donor gender in heart transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2006; 25 (4): 461–468.
22. Weiss ES, Allen JG, Patel ND, Russell SD, Baumgartner WA, Shah AS et al. The impact of donor-recipient sex matching on survival after orthotopic heart transplantation: analysis of 18 000 transplants in the modern era. *Cir Heart Fail.* 2009; 2 (5): 401–408.
23. Reed RM, Netzer G, Hunsicker L, Mitchell BD, Rajagopal K, Scharf S et al. Cardiac size and sex-matching in heart transplantation: size matters in matters of sex and the heart. *JACC Heart Failure.* 2014; 2 (1): 73–83.

24. Taylor DO, Edwards LB, Boucek MM, Trulock EP, Aurora P, Christie J et al. Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-fourth official adult heart transplant report. *J heart Lung Transplant*. 2007; 26 (8): 769–781.
25. Patel ND, Weiss ES, Nwakanma LU, Russell SD, Baumgartner WA, Shah AS et al. Impact of donor-to-recipient weight ratio on survival after heart transplantation: analysis of the United Network for Organ Sharing Database. *Circulation*. 2008 Sep 30; 118 (14 Suppl): 83–88.
26. Suarez-Pierre Alejandro, Crawford Todd C, Zhou Xun, Lui Cecillia, Fraser III Charles D. Impact of Traumatically Brain-Injured Donors on Outcomes After Heart Transplantation. *J Surg Research*. 2019; 240: 40–47.
27. Barac YD, Jawitz O, Klapper J, Schroder J et al. Heart Transplantation Survival and the Use of Traumatically Brain-Injured Donors. *J Heart Lung Transplant*. 2019; 38 (4): S186.
28. Singhal AK, Sheng X, Drakos SG. Stehlik Impact of Donor Cause of Death on Transplant Outcomes: UNOS Registry Analysis. *J Transplantation Proceedings*. 2009 Nov; 41 (9): 3539–3544.
29. Rizzi G, Startseva X, Wolfrum M, Luscher TF. Unfavorable donor pretransplant APACHE II, SAPS II, and SOFA scores are not associated with outcome^Implication for heart transplant donor selection. *Transplant Proceed*. 2016; 48 (8): 2582–2587.
30. Southerland KW, Castleberry AW, Williams JB, Daneshmand MA, Ali AA, Milano CA. Impact of donor cardiac arrest on heart transplantation. *Surgery*. 2013; 154 (2): 312–319.
31. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*. 1986; 74: 1124–1136. PubMed: 3769170.
32. Galeone A, Varnous S, Lebreton G et al. Impact of cardiac arrest resuscitated donors on heart transplant recipients' outcome. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2017; 153: 622–630.
33. Kilic A, Weiss ES, George TJ, Arnaoutakis GJ, Yuh DD, Shah AS et al. What predicts long-term survival after heart transplantation? An analysis of 9,400 ten-year survivors. *Ann Thorac Surg*. 2012; 93: 699–704.
34. Попцов ВН, Спирина ЕА, Пчельников ВВ, Хатуцкий ВМ, Алиев ЭЗ, Воронков ВЮ и др. Трансплантация сердца от доноров, перенесших сердечно-легочную реанимацию. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2019; 21 (2): 23–30. Poptsov VN, Spirina EA, Pchelnikov VV, Khatutsky VM, Aliev EZ, Voronkov VYu et al. Heart transplantation from cardiac arrest-resuscitated donors. *Russian Journal of Transplantation and Artificial Organs*. 2019; 21 (2): 23–30. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2019-2-23-30.
35. Ali AA, Lim E, Thanikachalam M, Sudarshan C, White P, Parameshwar J et al. Cardiac arrest in the organ donor does not negatively influence recipient survival after heart transplantation. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2007; 31 (5): 929–933.
36. Morgan J, John R, Weinberg A, Kherani A, Colletti N, Vigilance D et al. Prolonged donor ischemic time does not adversely affect long-term survival in adult patients undergoing cardiac transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2003; 126: 1624–1633.
37. Kilic A, Weiss ES, Allen JG et al. Simple score to assess the risk of rejection after orthotopic heart transplantation. *Circulation*. 2012; 125: 3013–3021.
38. Hong KN, Iribarne A, Worku B et al. Who is the high-risk recipient? Predicting mortality after heart transplant using pretransplant donor and recipient risk factors. *Ann Thorac Surg*. 2011; 92 (2): 520–527.
39. Bourge RC, Naftel DC, Costanzo-Nordin MR et al. Pretransplantation risk factors for death after heart transplantation: a multiinstitutional study. The Transplant Cardiologists Research Database Group. *J Heart Lung Transplant*. 1993; 12: 549–562.
40. Del Rizzo D, Menkis A, Pflugfelder P, Novick R, McKenzie F, Boyd W et al. The role of donor age and ischemic time on survival following orthotopic heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 1999; 18: 310–319.
41. Faggian G, Forni A, Mazzucco A. Donor organ preservation in high-risk cardiac transplantation. *Transplant Proc*. 2004; 36: 617–619.
42. UK Transplant: Donor Organ Sharing Scheme-Operating Principles for Cardiothoracic Transplant Units in the UK and Republic of Ireland [http://www.uktransplant.org.uk/ukt/about_transplants/organ_allocation/cardiothoraciccardiothoracic_organ_sharing].
43. Noman H, Khasati Ali Machaal, Jim Barnard, Nizar Yonan. Donor heart selection: the outcome of «unacceptable» donors. *Journal of Cardiothoracic Surgery*. 2007; 2: 13.
44. Anyanwu A, Rogers C, Murday A. Should recipient risk be a factor in choosing recipients for suboptimal donor hearts: a multiinstitutional study. *Transplant Proc*. 1993; 31: 1399.
45. Weiss ES, Allen JG, Arnaoutakis GJ et al. Creation of a quantitative recipient risk index for mortality prediction after cardiac transplantation (IMPACT). *Ann Thorac Surg*. 2011; 92: 914–921.
46. The International society for heart and lung transplantation. International registry for heart and lung transplantation; 2016; http://www.ishlt.org/registries/slides.asp?slides=heartLungRegistry.
47. Segovia J, Cosio MD, Barcelo JM, Bueno MG, Pavia PG, Burgos R et al. RADIAL: a novel primary graft failure risk score in heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2011; 30 (6): 644–651.
48. Nilsson J, Ohlsson M, Hoglund P, Ekmehag B, Koul B, Andersson B. The International Heart Transplant Survival Algorithm (IH TSA): a new model to improve organ sharing and survival. *PLoS One*. 2015; 10: e0118644.
49. Trivedi JR, Cheng A, Ising M, Lenneman A, Birks E, Slaughter MS. Heart Transplant Survival Based on Recipient and Donor Risk Scoring: A UNOS Database Analysis. *ASAIOJ*. 2016; 62: 297–301.

Статья поступила в редакцию 7.02.2020 г.
The article was submitted to the journal on 7.02.2020

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

Сравнительный анализ диагностической значимости панелей биомаркеров у реципиентов сердца в отдаленные сроки после трансплантации

О.П. Шевченко^{1,2}, А.В. Аксенова¹, А.А. Улыбышева^{1,3}, Н.П. Можейко¹, Е.А. Никитина¹, В.И. Орлов¹, Е.А. Стаханова¹, А.О. Шевченко^{1,2}

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

² ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация

³ ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

Для корреспонденции

Аксенова Александра Владимировна

Адрес:

Тел.:

E-mail:

Comparative analysis of diagnostic significance of biomarkers' panels in cardiac recipients in the long term period after transplantation

O.P. Shevchenko^{1,2}, A.V. Aksyonova¹, A.A. Ulybysheva^{1,3}, N.P. Mozheiko¹, E.A. Nikitina¹, V.I. Orlov¹, E.A. Stakhanova¹, A.O. Shevchenko^{1,2}

¹ V.I. Shumakov National Medical 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 of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

³ N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

For correspondence

Aksyonova Alexandra Vladimirovna

Address:

Tel.

E-mail:

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 использование 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 (*Objective*),

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 (*keywords*) 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. Указание о конфликте интересов

Автор обязан уведомить редактора о реальном или потенциальном конфликте интересов, включив информацию о конфликте интересов в соответствующий раздел статьи. Если конфликта интересов нет, автор должен также сообщить об этом. Пример формулировки: «Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов».

Данная информация приводится перед текстом статьи.

5. 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.

6. 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, Хомяков СМ. Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2015 году. VIII сообщение регистра Российского трансплантологического общества. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2016; 18 (2): 6–26. Gautier SV, Khomyakov SM. Organ donation and transplantation in Russian Federation in 2015. 8th report of National Register. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2016; 18 (2): 6–26. [In Russ, English abstract] DOI:10.15825/1995-1191-2016-2-6-26.

2. *Статья из русскоязычного журнала, не имеющая англоязычного названия*
Трапезникова МФ, Филиппов ПЯ, Перлин ДВ, Кулачков СМ. Лечение стриктур мочеточника 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. *Англоязычная монография*
Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Medical microbiology. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002.
5. *Русскоязычная монография*
Готье СВ, Константинов БА, Цирульников ОМ. Трансплантация печени. М.: МИА (2008), 246 с. Gautier SV, Konstantinov BA, Tsi-rulnikova OM. Transplantatsiya pecheni. M.: MIA (2008), 246.
6. *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 progno-

zirovanii vaskulopatii serdechnogo transplantata. [Dissertation]. М., 2009, 84.

7. *Ресурс в сети Internet*
Cancer-Pain.org [Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01 [updated 2002 May 16; cited 2002 Jul 9]. Available from: <http://www.cancer-pain.org/>.

Требования к таблицам и иллюстрациям

Таблицы следует помещать в текст статьи, они должны иметь нумерованный заголовок и четко обозначенные графы, удобные и понятные для чтения. Данные таблицы должны соответствовать цифрам в тексте, однако не должны дублировать представленную в нем информацию. Ссылки на таблицы в тексте обязательны.

Иллюстрации и рисунки должны быть представлены в электронном виде (формат JPEG или TIF с разрешением не менее 300 точек на дюйм и размером не менее 6 × 9 см), в объеме, близком к 1 Мб. Рисунок должен содержать все авторские обозначения – стрелки, цифры, указатели и пр. Подписи к рисункам должны быть представлены в отдельном файле с расширением *.doc. Сначала дается название, а затем объясняются все цифровые и буквенные обозначения.

Названия таблиц, иллюстраций и рисунков, а также объяснения к ним должны быть представлены на русском и английском языках.

Статьи направлять в редакцию журнала по адресу:

123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1, ФГБУ «НМИЦ ТИО 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: **Objective**, **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 =*».

Keywords

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>.

Conflict of interest

The author should inform the editor about the factual or potential conflict of interest have included the information about such conflict into the respective section of an article.

If there is no conflict of interest, the author should say so in the form like the following: «Author declares unawareness of the conflict of interest».

This information is supposed to be placed before the article text.

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 Lib-

rary 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 duplicate the information therein. Table references in the text are required.

Illustrations and drawings should be submitted in electronic format (JPEG or TIFF format with a resolution of at least 300 dpi and no smaller than 6 × 9 cm), in a volume of close to 1 MB. Drawings must include all copyright symbols – arrows, numbers, signs, etc. Figure captions should be submitted in a separate file with the extension *.doc. First, the name is given, then all arithmetic and alphabetical symbols (lettering) are explained.

Articles should be addressed to the Editor at:

Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs
V.I. Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs
1, Shchukinskaya ul., Moscow 123182, Russian Federation
E-mail: vestniktranspl@gmail.com

**ФГБУ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ 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 № 2643 от 21.09.2017 г.

Россия, 123182, г. Москва, ул. Щукинская, д. 1, тел. 8 (499) 193-87-62

ФГБУ «НМИЦ ТИО 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.

На базе клинических отделений Центра организовано проведение циклов повышения квалификации продолжительностью 72 и 144 часа по следующим дополнительным профессиональным программам:

- 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.
- Основы трансплантологии и искусственных органов.
- Патологическая анатомия у больных после аллотрансплантации органов и имплантации искусственных органов.
- Трансплантационная иммунология и иммуносупрессия.
- Деятельность операционной медицинской сестры в клинической трансплантологии.

*Гарантийное письмо на обучение специалистов от организаций высылать на электронную почту.
E-mail: dim_vel@mail.ru*

Консультации организованы в отделе подготовки научных и медицинских кадров (Щукинская, 1, новый корпус, 9-й этаж, ученый секретарь – к. м. н. Великий Дмитрий Алексеевич).

Перепечатка опубликованных в журнале материалов
допускается только с разрешения редакции.

При использовании материалов ссылка
на журнал обязательна.

Присланные материалы не возвращаются.

Редакция не несет ответственности
за достоверность рекламной информации.

Издание зарегистрировано в Госкомпечати РФ,
№ 018616 от 23.03.99 г.

Подписано к печати 25.09.20.

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

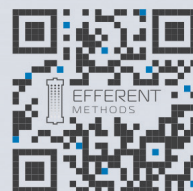
E-mail: triadatver@yandex.ru

<http://www.triada.tver.ru>

Отпечатано в ООО «Тверская фабрика печати».

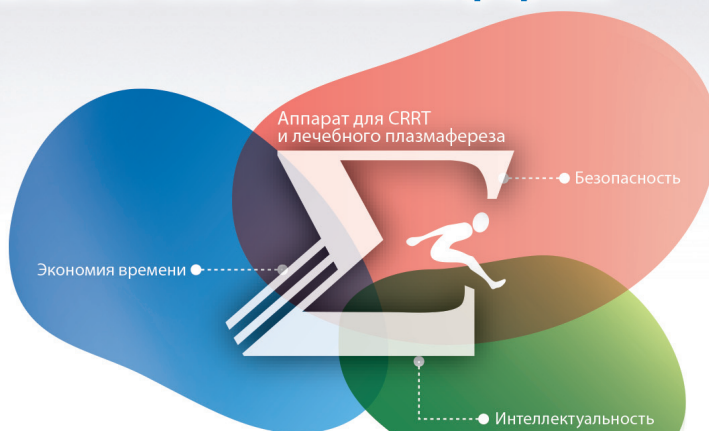
170006, г. Тверь, Беляковский пер., 46.

Заказ 8007



Plasauto Σ TM

Аппарат для CRRT и терапевтического плазмафереза



СОРБЦИОННЫЕ КОЛОНКИ



Immusorba TR; Plasorba BR

СЕПАРАТОРЫ КОМПОНЕНТОВ ПЛАЗМЫ



Cascadeflo EC

ПЛАЗМО-СЕПАРАТОРЫ



Plasmaflo OP



EFFERENTS.RU

620086, Екатеринбург, ул. Посадская, 23
Тел. +7 (343) 233 77 79. Факс +7 (343) 310 30 01
www.delrus.ru

