ISSN 1995-1191

ВЕСТНИК

ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ

Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs

ТОМ XXII

№4–2020

1 МИЛЛИОН ПАЦИЕНТОВ
ИННОВАЦИОННЫЙ ПОДХОД

1998
Reveal ICM
Первый ИКМ в мире

2000
Reveal Plus ICM
Второй ИКМ в мире

2007
Reveal DX ICM
3-летний срок службы и доступ к МРТ-сканированию 1.5T и 3T

2009
Reveal XT ICM
Первый в мире алгоритм выявления ФП

2011
FullView программное обеспечение
Улучшено распознавание шумов и точность выявления ФП

2014
Reveal LINQ ICM
Самый миниатюрный ИКМ в мире

2017

TruRhythm Detection
Алгоритм выявления ФП в наиболее точных ИКМ в мире

20+
ЛЕТ
ИКМ REVEAL

Reveal LINQ с алгоритмом TruRhythm – это **самый миниатюрный и наиболее точный ИКМ в мире**

99.4%
ТОЧНОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НАГРУЗКИ ФП[1]

ИКМ - имплантируемый кардиомонитор
ФП - фибрилляция предсердий
МРТ - магнитно-резонансная томография

[1] Sanders Prashanthan, Pürerfellner Helmut, Pokushalov Evgeny et al. Performance of a new atrial fibrillation detection algorithm in a miniaturized insertable cardiac monitor: Results from the Reveal LINQ Usability Study. Heart Rhythm. July 2016 13(7):1425-1430

«Система кардиомониторинга имплантируемая Reveal LinQ» РУ № РЗН 2018/7687 от 09.10.2018

Реклама

www.medtronic.ru

Medtronic
Further, Together

ВЕСТНИК ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ

VESTNIK TRANSPLANTOLOGII I ISKUSSTVENNYKH ORGANOV

RUSSIAN JOURNAL OF TRANSPLANTOLOGY AND ARTIFICIAL ORGANS

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)

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. Том XXII. № 4

2020. Vol. XXII. № 4

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

Scientific and Practical Journal was founded in 1999
Reg. № 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. Борзенок (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. Саитгареев (Москва, Россия) – д. м. н., профессор

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

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

А.О. Шевченко (Москва, Россия) – член-корреспондент РАН, д. м. н., профессор

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. Tsirulnikova (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

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. Tkathuk (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

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

«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

Журнал «Вестник трансплантологии и искусственных органов» индексируется в Scopus и размещен на платформе Web of Science Core Collection: Emerging Science Citation Index

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

Address for correspondence:

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

Подписной индекс в каталоге «Газеты и журналы» – 80248

СОДЕРЖАНИЕ

СТРАНИЦА ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Научная специальность «Трансплантология и искусственные органы»: новое в порядке присуждения ученых степеней 6
С.В. Готье

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ОРГАНОВ

Трансплантация сердца у реципиентов с сахарным диабетом 2-го типа 8
В.Н. Попцов, Е.А. Спирина, Е.Н. Золотова, В.М. Захаревич, Н.Н. Колоскова, Н.П. Можейко, А.А. Сибякина, Я.Л. Поз, А.И. Скокова, В.В. Боронова, В.Ю. Воронков, В.М. Хатуцкий

Диагностическое значение микроРНК-101 и микроРНК-27 при остром отторжении трансплантированного сердца 20
Д.А. Великий, О.Е. Гичкун, С.О. Шарапченко, Н.П. Можейко, Р.М. Курабекова, О.П. Шевченко

Модель оценки донорского сердца, прогнозирующая его использование для трансплантации 27
Э.А. Тенчурина, М.Г. Минина

Особенности вакцинации против гемофильной инфекции типа *b* пациентов листа ожидания трансплантации легких 32
В.Б. Полищук, М.П. Костинов, А.А. Рыжов, О.О. Магаршак, Н.Е. Ястребова, Н.А. Карчевская, Е.А. Тарабрин, Т.Э. Каллагов, А.Е. Власенко

Индукция циркулирующих CD133+ стволовых лимфоцитов, коммитированных к ткани печени, у пациентов из листа ожидания трансплантации 43
А.Н. Шутко, О.А. Герасимова, Н.В. Марченко, Ф.К. Жеребцов

Химиоэмболизация печеночных артерий у больных гепатоцеллюлярным раком на фоне цирроза перед трансплантацией печени: прогностическое значение концентрации альфафетопротеина 52
Д.А. Гранов, А.С. Полехин, П.Г. Таразов, И.О. Руткин, И.И. Тилеубергенов, В.В. Боровик

Лечение кровотечений из варикозно расширенных вен пищевода у больных из листа ожидания трансплантации печени 58
В.Л. Коробка, М.Ю. Кострыкин, А.М. Шаповалов

Клинико-функциональные особенности сквозной кератопластики в Королевстве Иордания. Опыт одного центра 65
М.А. Танаш, М.А. Фролов, П.А. Гончар, Г.Н. Душина, Л.Т. Абабнех

Особенности ведения реципиентов почечного трансплантата с новой коронавирусной инфекцией COVID-19 69
О.Н. Котенко, Л.Ю. Артюхина, Н.Ф. Фролова, Е.С. Столяревич

J-образная стернотомия в хирургии пороков аортального клапана и восходящей аорты. Непосредственные результаты 75
Г.А. Акопов, А.С. Иванов, Т.Н. Говорова, Д.В. Москалев

CONTENTS

EDITORIAL

Scientific specialty «Transplantology and artificial organs»: new in the order of awarding academic degrees 6
S.V. Gautier

ORGAN TRANSPLANTATION

Heart transplantation in diabetic recipients 8
V.N. Poptsov, E.A. Spirina, E.N. Zolotova, V.M. Zakharevich, N.N. Koloskova, N.P. Mozheiko, A.A. Sibiakina, I.L. Poz, A.I. Skokova, V.V. Boronova, V.Yu. Voronkov, V.M. Khatutskii

Diagnostic value of miRNA-101 and miRNA-27 in acute heart transplant rejection 20
D.A. Velikiy, O.E. Gichkun, S.O. Sharapchenko, N.P. Mozheiko, R.M. Kurabekova, O.P. Shevchenko

A donor heart scoring model to predict transplant outcomes 27
E.A. Tenchurina, M.G. Minina

Features of haemophilus influenzae type *b* vaccine in patients waitlisted for lung transplantation 32
V.B. Polishchuk, M.P. Kostinov, A.A. Pyzhov, O.O. Magarshak, N.E. Yastrebova, N.A. Karchevskaya, E.A. Tarabrin, T.E. Kallagov, A.E. Vlasenko

Induction of circulating CD133+ stem cells committed to cirrhotic livers in waitlisted patients 43
A.N. Shoutko, O.A. Gerasimova, N.V. Marchenko, F.K. Zherebtsov

Transcatheter hepatic arterial chemoembolization in cirrhotic patients with hepatocellular carcinoma before liver transplantation: the prognostic value of alpha-fetoprotein concentrations 52
D.A. Granov, A.S. Polehin, P.G. Tarazov, I.O. Rutkin, I.I. Tileubergenov, V.V. Borovik

Management of variceal bleeding in the liver transplant waiting list 58
V.L. Korobka, M.Yu. Kostrykin, A.M. Shapovalov

Clinical and functional features of penetrating keratoplasty in the Kingdom of Jordan. A single-center experience 65
M.A. Tanash, M.A. Frolov, P.A. Gonchar, G.N. Dushina, L.T. Ababneh

Clinical course and approaches to therapy in kidney transplant recipients with the novel COVID-19 disease 69
O.N. Kotenko, L.Yu. Artyukhina, N.F. Frolova, E.S. Stolyarevich

J-shaped sternotomy in aortic valve repair and ascending aorta replacement. Short-term results 75
G.A. Akopov, A.S. Ivanov, T.N. Govorova, D.V. Moskalev

ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ

Проблема биосовместимости и тромбогенности устройств вспомогательного кровообращения 83
М.О. Жульков, Д.А. Сирота, А.В. Фомичев, А.С. Гренадеров, А.М. Чернявский

РЕГЕНЕРАТИВНАЯ МЕДИЦИНА И КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

Функциональная эффективность клеточно-инженерной конструкции печени на основе тканеспецифического матрикса (экспериментальная модель хронической печеночной недостаточности) 89
М.Ю. Шагидулин, Н.А. Онищенко, Ю.Б. Басок, А.М. Григорьев, А.Д. Кириллова, Е.А. Немец, Е.А. Волкова, И.М. Ильинский, Н.П. Можейко, В.И. Севастьянов, С.В. Готье

Микроносители в виде волокон из натурального шелка для культивирования клеток 98
М.М. Боброва, Л.А. Сафонова, А.Е. Ефимов, О.И. Агапова, И.И. Агапов

Биодеградируемые материалы на основе тканей из натурального шелка как перспективные скаффолды для тканевой инженерии и регенеративной медицины 105
Л.А. Сафонова, М.М. Боброва, А.Е. Ефимов, О.И. Агапова, И.И. Агапов

Исследование микро- и наноструктуры клеток печени, культивированных на биодеградируемых скаффолдах на основе фиброина шелка, методом сканирующей зондовой оптической нанотомографии 115
О.И. Агапова, А.Е. Ефимов, Л.А. Сафонова, М.М. Боброва, И.И. Агапов

Особенности механизмов реализации дистантного стимулирующего эффекта аутотрансплантации кожного лоскута на перфузию микроциркуляторного русла в условиях локальных и системных нарушений 123
А.Н. Иванов, Д.Д. Лагутина, Т.В. Степанова

Аутологичные стимуляторы регенерации при имплантации аллогенных костнопластических материалов 133
К.А. Воробьев, Т.О. Скипенко, Н.В. Загородний, Д.В. Смоленцев, А.Р. Закирова, В.И. Севастьянов

ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ

Роль эндоваскулярных и эндобилиарных методов в лечении осложнений после трансплантации печени 140
С.В. Готье, М.А. Восканов, А.Р. Монахов, К.О. Сёмаш

Обзор хирургической техники выполнения лапароскопических донорских резекций фрагментов печени 149
К.О. Сёмаш, С.В. Готье

Способы артериальной реконструкции трансплантата поджелудочной железы 154
Н.С. Журавель, И.В. Дмитриев, А.В. Пинчук

ARTIFICIAL ORGANS

The problem of biocompatibility and thrombogenicity in mechanical circulatory assist devices 83
M.O. Zhulkov, D.A. Sirota, A.V. Fomichev, A.S. Grenaderov, A.M. Chernyavsky

REGENERATIVE MEDICINE AND CELL TECHNOLOGIES

Functional efficiency of cell-engineered liver constructs based on tissue-specific matrix (experimental model of chronic liver failure) 89
M.Yu. Shagidulin, N.A. Onishchenko, Yu.B. Basok, A.M. Grigoriev, A.D. Kirillova, E.A. Nemets, E.A. Volkova, I.M. Iljinsky, N.P. Mozheiko, V.I. Sevastianov, S.V. Gautier

Natural silk fiber microcarriers for cell culture 98
M.M. Bobrova, L.A. Safonova, A.E. Efimov, O.I. Agapova, I.I. Agapov

Biodegradable materials based on natural silk fabric as promising scaffolds for tissue engineering and regenerative medicine 105
L.A. Safonova, M.M. Bobrova, A.E. Efimov, O.I. Agapova, I.I. Agapov

Investigation of the micro- and nano-structure of liver cells cultured on biodegradable silk fibroin-based scaffolds using scanning probe optical nanotomography 115
O.I. Agapova, A.E. Efimov, L.A. Safonova, M.M. Bobrova, I.I. Agapov

Characteristics of mechanisms of the distant stimulating effect of skin flap autograft on microvascular perfusion in local and systemic microcirculation disorders 123
A.N. Ivanov, D.D. Lagutina, T.V. Stepanova

Autologous regenerative stimulants for bone allograft implantation 133
K.A. Vorobyov, T.O. Skipenko, N.V. Zagorodniy, D.V. Smolentsev, A.R. Zakirova, V.I. Sevastianov

LITERATURE REVIEWS

The role of endovascular and endobiliary methods in the treatment of post-liver transplant complications 140
S.V. Gautier, M.A. Voskanov, A.R. Monakhov, K.O. Semash

Review of surgical techniques for performing laparoscopic donor hepatectomy 149
K.O. Semash, S.V. Gautier

Methods of arterial reconstruction for pancreatic graft 154
N.S. Zhuravel, I.V. Dmitriev, A.V. Pinchuk

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

Лечение экспираторного стеноза трахеи в сочетании с бронхоэктатической болезнью у реципиента донорских легких (первое наблюдение в Российской Федерации)
И.В. Пашков, А.В. Никулин, Д.О. Олешкевич, М.Т. Беков, Р.А. Латыпов, Е.Ф. Шигаев, А.Г. Сухорукова, В.Н. Попцов, Е.А. Спирина, Е.В. Лебедев, Я.С. Якунин

Трансплантация сердца у реципиента с аномальной левой верхней полой веной
Г.В. Анискевич, Г.А. Садриева, В.Н. Попцов, Е.А. Спирина, В.И. Орлов, Р.Ш. Саитгареев

Хронический миокардит тяжелого течения, верифицированный как гигантоклеточный: неизбежный выбор в пользу трансплантации сердца
О.В. Благова, Ю.А. Лутохина, Д.Х. Айнетдинова, В.П. Седов, А.Н. Воловченко, Д.А. Парфенов, Н.П. Можейко

Случай успешного лечения синдрома исчезающего промежуточного бронха после трансплантации легких
И.В. Пашков, М.Т. Беков, Р.А. Латыпов, Д.О. Олешкевич, Е.Ф. Шигаев, Е.В. Лебедев, К.С. Смирнов, С.В. Готье

Морфология трансплантированной печени при возвратном прогрессивном семейном внутрипеченочном холестазе второго типа
И.М. Ильинский, Н.П. Можейко, О.М. Цирульникова

Новая коронавирусная инфекция (COVID-19) у больного с декомпенсированным циррозом печени
О.В. Тащян, М.Г. Мнацаканян, А.П. Погромов, И.В. Куприна, Ю.Ф. Шумская

ЮБИЛЕИ

Поздравляем с юбилеем Виктора Ивановича Севастьянова

ИНФОРМАЦИЯ

Требования к публикациям

ПАМЯТИ АННЫ ИЛЬИНИЧНЫ КРЫЛОВОЙ

ПАМЯТИ ЛЮДМИЛЫ МИХАЙЛОВНЫ КОНДРАШОВОЙ

Перечень материалов, опубликованных в 2020 году в журнале «Вестник трансплантологии и искусственных органов»

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

CLINICAL CASES

162 Treatment of expiratory tracheal stenosis in combination with bronchiectasis in a lung recipient (initial report in the Russian Federation)
I.V. Pashkov, A.V. Nikulin, D.O. Oleshkevich, M.T. Bekov, R.A. Latypov, E.F. Shigaev, A.G. Suchorukova, V.N. Poptsov, E.A. Spirina, E.V. Lebedev, Ya.S. Yakunin

168 Heart transplant in a patient with persistent left superior vena cava
G.V. Aniskevich, G.A. Sadrieva, V.N. Poptsov, E.A. Spirina, V.I. Orlov, R.Sh. Saitgareev

173 Verified chronic severe giant cell myocarditis: an inevitable choice for heart transplantation
O.V. Blagova, Yu.A. Lutokhina, D.H. Ainetdinova, V.P. Sedov, A.N. Volovchenko, D.A. Parfenov, N.P. Mozheiko

183 Successful treatment of vanishing bronchus intermedius syndrome following lung transplantation
I.V. Pashkov, M.T. Bekov, R.A. Latypov, D.O. Oleshkevich, E.F. Shigaev, E.V. Lebedev, K.S. Smirnov, S.V. Gautier

192 Morphology of transplanted liver in recurrent progressive familial intrahepatic cholestasis type 2
I.M. Iljinsky, N.P. Mozheiko, O.M. Tsirulnikova

197 COVID-19 in decompensated cirrhosis
O.V. Tashchyan, M.G. Mnatsakanyan, A.P. Pogromov, I.V. Kuprina, Yu.F. Shumskaya

ANNIVERSARY

202 Congratulations to Victor Ivanovich Sevastianov

INFORMATION

204 Instructions to authors

208 **TO THE MEMORY ANNA KROULOVA**

209 **TO THE MEMORY LYUDMILA KONDRASHOVA**

210 List of articles, published in 2020 in «Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs»

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

НАУЧНАЯ СПЕЦИАЛЬНОСТЬ «ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ И ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ»: НОВОЕ В ПОРЯДКЕ ПРИСУЖДЕНИЯ УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ

SCIENTIFIC SPECIALTY «TRANSPLANTOLOGY AND ARTIFICIAL ORGANS»: NEW IN THE ORDER OF AWARDING ACADEMIC DEGREES

Глубокоуважаемые коллеги!

Перед Вами 4-й, последний в 2020 году, выпуск «Вестника». Традиционно мы вспоминаем и отмечаем наиболее значимые публикации, события и научные результаты года. Закономерно и очевидно, что исследования, посвященные проблемам, связанным с пандемией новой коронавирусной инфекции COVID-19, находились в фокусе всеобщего внимания. Наш журнал не стал исключением: в предыдущем, третьем номере опубликованы результаты национального многоцентрового исследования «Распространенность и Особенности Клинического течения КОРонавирусной инфекции у РЕЦИПИЕНТов сердца, почки, печени» (РОККОР-реципиент). В настоящем выпуске также публикуются работы, посвященные лечению реципиентов солидных органов в условиях пандемии COVID-19.

Однако даже значимые новости и результаты, связанные с работой в условиях пандемии, не могут отвлечь внимание сообщества трансплантологов и близкого к нему круга ученых и специалистов от другого события. 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. Более того, НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова – единственная из подведомственных Минздраву России организация, которой доверена столь почетная и ответственная функция.

Решение об открытии специальности «трансплантология и искусственные органы»

Dear colleagues!

I present to you the 4th and last issue of the Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs for the year 2020. Traditionally, we remember and celebrate the most significant publications, events and scientific results of the year. It is logical and obvious that studies on problems associated with the coronavirus disease (COVID-19) pandemic were in the focus of everyone's attention. Our journal is no exception. Our third issue published results from the national multicenter study «Prevalence and Features of the Clinical Course of Coronavirus Infection in Heart, Kidney, and Liver Recipients» (ROCCOR-recipient). This issue also publishes works on the treatment of solid organ recipients in the context of the COVID-19 pandemic.

However, even significant news and results related to works in the context of the pandemic cannot divert the attention of the transplant community and the circle of scientists and specialists close to it from another event. By executive order No. 2206-r of the Russian Government of August 31, 2020, the Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs was included in the list of scientific organizations that can independently award academic degrees (PhD and Doctor of Science). Moreover, Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs is the only organization under the jurisdiction of the Russian Ministry of Health entrusted with such an honorable and responsible function.

The decision to open the «Transplantology and Artificial Organs» discipline and to, at the then Re-

и создании на базе тогда еще Научно-исследовательского института трансплантологии и искусственных органов Министерства здравоохранения СССР диссертационного совета, принимающего к защите диссертации на соискание ученой степени доктора и кандидата наук по этой специальности, было принято в 1986 году, и мы готовимся отметить 35-летие этого знаменательного события.

Через диссертационный совет при НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова проходит подавляющее большинство всех диссертационных работ по нашей специальности. Более того, совет объединяет в своем составе большинство отечественных ведущих специалистов в этой области.

За 35 лет своей истории относительно новая научная специальность «трансплантология и искусственные органы» заняла достойное место на современном научном медицинском поле. Диссертационный совет при ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России все эти годы успешно выполнял свои функции, продолжал уверенно работать в условиях реформирования системы подготовки и государственной аттестации научных кадров. Хочется выразить уверенность, что право самостоятельного присуждения ученых степеней позволит повысить не только престиж нашего учреждения и специальности, но и качество экспертизы диссертационных работ.

Желаю всем в новом году здоровья, успехов, удачи во всех делах и творческих начинаниях.

С уважением,
академик РАН С.В. Готье

search Institute of Transplantology and Artificial Organs of the USSR Ministry of Health, create a dissertation council hearing the defense of dissertations for PhD and Doctor of Degrees in this discipline was made in 1986. We are preparing to celebrate the 35th anniversary of this landmark event.

The dissertation council at the Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs has been handling a vast majority of all dissertations in our discipline. Moreover, the council brings together most of the Russian leading experts in this field.

Over 35 years of its history, the relatively new scientific discipline «Transplantology and Artificial Organs» has taken its rightful place in the modern scientific medical field. The dissertation council at the Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs has successfully performed its functions all these years and continued to work confidently towards reforming the system of training and state certification of scientific personnel. I would like to express my confidence that the right to independently confer academic degrees will increase not only the prestige of our institution and discipline, but also the quality of examining dissertations.

I'm wishing everyone in this coming new year good health, success, and good luck in all your affairs and creative endeavors.

Sincerely,
S.V. Gautier
Academician, RAS

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-4-8-19

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ СЕРДЦА У РЕЦИПИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-го ТИПА

В.Н. Попцов, Е.А. Спирина, Е.Н. Золотова, В.М. Захаревич, Н.Н. Колоскова, Н.П. Можейко, А.А. Сибякина, Я.Л. Поз, А.И. Скокова, В.В. Боронова, В.Ю. Воронков, В.М. Хатуцкий

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

Введение. Трансплантации сердца (ТС) у пациентов с предсуществующим сахарным диабетом (СД) 2-го типа сопряжена с повышенными риском инфекционных и неинфекционных (почечная дисфункция, мультифокальный атеросклероз, болезнь коронарных артерий пересаженного сердца и т. п.) осложнений, которые могут негативно повлиять на выживаемость реципиентов в ранние и отдаленные сроки после ТС. **Цель исследования.** На основании одноцентрового ретроспективного исследования оценить влияние предтрансплантационого СД 2-го типа на ранние и отдаленные результаты ТС. **Материалы и методы.** В исследование включили реципиентов (n = 891), которым была выполнена ТС в период с 2011-го по 2018 г. Реципиенты были разделены на две группы: основная группа (группа «СД2») – реципиенты с дотрансплантационным СД 2-го типа (n = 80; 9,0%), контрольная группа (группа «без СД2») – реципиенты без СД 2-го типа (n = 811; 91,0%). Реципиенты обеих групп не различались по неотложности ТС (UNOS статус) и потребности в предтрансплантационной механической поддержке кровообращения (МПК). **Результаты**. На момент выполнения ТС реципиенты группа «СД2» по сравнению с реципиентами группы «без СД2» были старше по возрасту (54 [46; 59] года против 48 [35; 56] лет, p < 0,001), имели больший вес (p < 0,001) и индекс массы тела (p < 0,001), основным заболеванием чаще была ишемическая болезнь сердца (65,0% против 36,5%, p < 0,001), имели более высокие значения транспульмонального градиента (10,0 [7,0; 12,0] против 9,0 [6,0; 12,0] мм рт. ст., p = 0,024) и легочного сосудистого сопротивления (2,9 [2,2; 4,0] против 2,5 [1,8; 3,4] ед. Вуда, p = 0,038). Перед ТС реципиенты группы «СД2» имели выраженные проявления почечной дисфункции и повышенную коморбидность. Реципиенты обеих групп не различались по характеристикам донора сердца, продолжительности ишемии трансплантата и искусственного кровообращения, частоте возникновения выраженной ранней дисфункции сердечного трансплантата, потребовавшей МПК (12,5% против 10,7%, p = 0,74). У реципиентов группы «СД2» в раннем периоде после ТС большие потребность (100% против 28,0%, p < 0,001) и дозировки инсулинотерапии, более выраженные проявления почечной дисфункции и большая потребность в заместительной почечной терапии (45,0% против 27,9%, p = 0,003) не повлияли на продолжительность искусственной вентиляции легких, длительность лечения в ОРИТ (6 [5; 10] дней против 6 [5; 10] дней, p = 0,098) и госпитальную летальность (8,8% против 8,5%, p = 0,895). Наличие дотрансплантационного СД 2-го типа не оказало отрицательного влияния на частоту возникновения острого отторжения сердечного трансплантата, прогрессирование трансмиссивного атеросклероза коронарных артерий, частоту возникновения и выраженность васкулопатии сердечного трансплантата, на структуру и выраженность отдаленных инфекционных и неинфекционных осложнений и посттрансплантационную выживаемость. **Заключение.** При правильном отборе реципиентов и выборе оптимальной тактики их ведения в посттрансплантационном периоде наличие дотрансплантационного СД 2-го типа не оказывает отрицательного влияния на ранние и отдаленные результаты ТС.

Ключевые слова: трансплантация сердца, сахарный диабет.

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

Corresponding author: Vitaliy Poptsov. Address: 1, Schukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (963) 644-96-39. E-mail: poptsov_vit@mail.ru

HEART TRANSPLANTATION IN DIABETIC RECIPIENTS

V.N. Poptsov, E.A. Spirina, E.N. Zolotova, V.M. Zakharevich, N.N. Koloskova, N.P. Mozheiko, A.A. Sibiakina, I.L. Poz, A.I. Skokova, V.V. Boronova, V.Yu. Voronkov, V.M. Khatutskii

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

Introduction. Heart transplantation (HT) in patients with preexisting type 2 diabetes (T2D) is associated with high risk of infectious and non-infectious complications (renal dysfunction, multifocal atherosclerosis, transplant coronary artery disease, etc.) that can negatively affect recipient survival in the early and late periods after HT. **Objective:** to assess the effect of pre-transplant T2D on early and long-term outcomes of HT based on a single-center retrospective study. **Materials and methods.** The study enrolled 891 recipients who underwent HT within the period 2011 to 2018, and were divided into two groups: main group (T2D) – recipients with pretransplant T2D (n = 80, 9.0%) and the control group (T2D-free) – recipients without T2D (n = 811, 91.0%). Recipients from both groups did not differ in terms of HT urgency (UNOS status) and the need for pre-transplant mechanical circulatory support (MCS). **Results**. At the time of the HT, recipients from the T2D group were older than the T2D-free recipients (54 [46; 59] years *vs* 48 [35; 56] years, p < 0.001), they had a higher weight (p < 0.001) and body mass index (p < 0.001), coronary heart disease was more often their main disease (65.0% *vs* 36.5%, p < 0.001), they had higher transpulmonary gradient (10.0 [7.0; 12.0] mm Hg *vs* 9.0 [6.0; 12.0] mm Hg, p = 0.024) and pulmonary vascular resistance (2.9 [2.2; 4.0] Wood units *vs* 2.5 [1.8; 3.4] Wood units, p = 0.038). In the pre-transplant period, the T2D group had pronounced manifestations of renal dysfunction and increased comorbidity. Recipients in both groups did not differ in terms of cardiac donor parameters, graft ischemia time, cardiopulmonary bypass time, and incidence of severe early heart graft dysfunction requiring MCS (12.5% *vs* 10.7%, p = 0.74). In the early post-transplant period, the T2D group had high requirements (100% *vs* 28.0%, p < 0.001) and higher doses of insulin therapy. More pronounced manifestations of renal dysfunction and a greater need for renal replacement therapy (51.4% *vs* 27.9%, p = 0.003) did not affect artificial ventilation and ICU duration (6 [5; 10] days *vs* 6 [5; 10] days, p = 0.098), as well as hospital mortality (8.8% *vs* 8.5%, p = 0.895). The presence of pre-transplant T2D had no negative effect on the incidence of acute cardiac graft rejection, progression of transmissible coronary atherosclerosis, incidence and severity of cardiac graft vasculopathy, structure and severity of distant infectious and non-infectious complications, and post-transplant survival. **Conclusion.** With correct selection of recipients and choice of optimal tactics for their post-transplant management, the presence of pre-transplant T2D has no negative effect on early and long-term outcomes of HT.

Keywords: heart transplantation, diabetes mellitus.

ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация сердца (ТС) остается наиболее эффективным методом лечения пациентов с терминальной хронической сердечной недостаточностью (ХСН), развившейся на фоне различной приобретенной или врожденной патологии сердца. У многих пациентов с терминальной ХСН имеется сопутствующая патология, которая может выступать в качестве абсолютного или относительного противопоказания к ТС или явиться фактором, негативно влияющим на ее непосредственные и отдаленные результаты [1–3].

Сахарный диабет (СД), прежде всего СД 2-го типа, часто способствует развитию и прогрессированию ХСН [4, 5]. Распространенность СД 2-го типа среди пациентов с ХСН составляет около 12%, достигая уровня 24% среди пациентов с ее наиболее тяжелыми клиническими проявлениями [4, 5]. У многих пациентов, рассматривающихся в качестве возможных реципиентов сердца, имеется СД 2-го типа, наличие которого до сих пор считается относительным противопоказанием к ТС [1, 2, 6, 7]. Опасение выполнения ТС у пациентов с предсуществующим СД 2-го типа связано с повышенными риском инфекционных и неинфекционных осложнений (почечная дисфункция, мультифокальный атеросклероз, болезнь коронарных артерий пересаженного сердца и т. п.), а также со сложностями подбора оптимальной схемы иммуносупрессивной терапии при данном нарушении углеводного обмена. Несмотря на то что отдельные исследования демонстрируют удовлетворительную раннюю и отдаленную посттрансплантационную выживаемость, результативное выполнение ТС у пациентов с сопутствующим СД 2-го типа до сих пор остается сложной клинической задачей и является предметом научной дискуссии и исследования [1, 3, 8]. В последние годы развитие программы ТС в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» связано в том числе с увеличением количества ТС реципиентам с коморбидными заболеваниями, включая СД 2-го типа [9, 10].

Целью исследования явилась оценка непосредственных и отдаленных результатов ТС пациентам с терминальной ХСН и сопутствующим СД2.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В период 2011–2018 гг. в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. академика В.И. Шумакова» была выполнена 891 ТС, в том числе у 80 (9,0%) реципиентов – 74 (92,5%) мужчин и 6 (7,5%) женщин, медиана возраста 54 [46; 59] – с предсуществующим (дотрансплантационным) СД 2-го типа. Вес реципиента данной когорты составил 85,0 [78,3; 95,0] кг, индекс массы тела (ИМТ) – 28,3 [25,2; 31,5] кг/м^2, количество реципиентов с ИМТ ≥30,0 кг/м^2 – 28 (35%).

Основными заболеваниями, приведшими к развитию терминальной ХСН, явились: ишемическая кардиомиопатия (ИКМП) у 52 (65,0%) реципиентов, дилатационная кардиомиопатия (ДКМП) – у 27 (33,8%), атеросклеротический декомпенсированный порок аортального клапана – у 1 (1,2%). Выраженность клинических проявлений ХСН соответствовала 3,1 ± 0,4 функциональному классу по NYHA.

Неотложность выполнения ТС соответствовала статусу 1А по UNOS у 20 (25,0%), статусу 1В – у 18 (22,5%), статусу 2 – у 42 (52,5%) реципиентов. Предтрансплантационную механическую поддержку кровообращения (МПК) применили у 20 (25,0%): внутриаортальная баллонная контрпульсация (n = 1; 1,3%), периферическая вено-артериальная экстракорпоральная мембранная оксигенация (ВА ЭКМО) (n = 19; 23,8%). Продолжительность МПК до ТС составила 4,1 [3,5; 5,5] суток.

Коррекция нарушений углеводного обмена в дотрансплантационном периоде у 16 реципиентов (20,0%) достигалась диетотерапией, у 44 (55,0%) – пероральными сахароснижающими препаратами, у 20 (25,0%) – инсулинотерапией. На момент выполнения ТС для лекарственной терапии СД 2-го типа использовали один пероральный сахароснижающий препарат у 27 (61,4%) из 44 реципиентов, не нуждавшихся в инсулинотерапии, комбинацию из двух пероральных сахароснижающих препаратов – у 15 (34,1%) реципиентов, комбинацию из трех пероральных сахароснижающих препаратов – у 2 (4,5%) реципиентов. Для сахароснижающей терапии использовали следующие пероральные препараты: глимеперид – у 22 (27,5%) реципиентов, гликлазид – у 6 (7,5%), вилдаглиптин – у 43 (53,8%), ситаглиптин – у 2 (2,5%), метформин – у 6 (7,5%), эмпаглифлозин – у 2 (2,5%). У всех пациентов (20, или 25,0%), нуждавшихся в инсулинотерапии, использование пероральных сахароснижающих препаратов было продолжено. Уровень гликированного гемоглобина (HbA1c) на момент выполнения ТС составил 7,4%, в том числе у 51 (63,8%) – менее 7,4%, у 29 (36,2%) – более 7,4%. Структура диабет-обусловленных осложнений у реципиентов с дотрансплантационным СД 2-го типа: атеросклеротическое поражение коронарных артерий – у 53 (66,3%) реципиентов, хронические облитерирующие заболевания периферических артерий – у 15 (18,8%), ишемическая болезнь мозга – у 14 (17,5%), периферическая диабетическая нейропатия – 10 (12,5%), диабетическая нефропатия – 9 (11,3%). Хроническую болезнь почек (ХБП) 3А стадии и выше диагностировали у 9 (11,3%) реципиентов с СД 2.

Ведение реципиентов в раннем и отдаленном посттрансплантационных периодах осуществляли в соответствии с рекомендациями ISHLT 2010 г. [11]. Для постановки диагноза и определения степени выраженности (0R, 1R, 2R и 3R степень) острого клеточного отторжения сердечного трансплантата использовали стандартизированную морфологическую классификацию ISHLT от 2004 г. (Cardiac biopsy grading of cellular rejection revised and standardized International Society for Heart and Lung Transplantation – ISHLT) [12]. Для постановки диагноза и определения степени выраженности гистологического и иммунопатологического проявлений (pAMR 0, pAMR 1 (H+), pAMR 1 (I+), pAMR 2, pAMR 3) антитело-обусловленного (гуморального) отторжения сердечного трансплантата использовали классификацию ISHLT от 2013 г. (The 2013 ISHLT working formulation for pathology diagnosis of cardiac antibody-mediated rejection) [13]. В статье представлены результаты клеточного и гуморального отторжения реципиентов, доживших до первой биопсии, что составило 857 реципиентов (96,2%) в двух сравниваемых группах. Для определения степени поражения при болезни коронарных артерий пересаженного сердца (БКАПС) применили классификацию, предложенную S.Z. Gao и соавт. в 1988 г. [14]. Диагноз БКАПС ставился на основе ISHLT Guidelines for the care of heart transplant recipients 2010 г. [11]. Диагноз и выраженность ХБП устанавливали по степени снижения скорости клубочковой фильтрации по классификации KDIGO 2012 [15].

Статистическую обработку данных исследования выполняли с помощью электронных таблиц «Microsoft Excel» и программного обеспечения SPSS Statistics 20. Все исследуемые параметры проверялись на нормальное распределение с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. Для представления параметрических данных использовалось среднее арифметическое и стандартное отклонение (M ± SD), верхние и нижние границы. Для описания непараметрических переменных использовалась медиана и интерквартильный размах (интервал между 25% и 75% процентилями). Достоверность различий количественных параметров в двух группах определялась по точному критерию Фишера. Для сравнения

переменных в исследуемых группах использовался U-тест Манна–Уитни, а также t-критерий Стьюдента. Анализ выживаемости проводился методом Каплана–Мейера. Статистически значимыми считали различия, при которых вероятность ошибки составляла менее 0,05 ($p < 0,05$).

Таблица 1

Сравнительная предтрансплантационная характеристика реципиентов сердца основной и контрольной групп (n = 891)

Comparative preoperative clinical characteristics of diabetic and nondiabetic heart recipients (n = 891)

Показатель	Наличие СД2 у реципиента		p
	Есть (n = 80)	Нет (n = 811)	
Возраст	54 [46; 59]	48 [35; 56]	**<0,001**
Рост	175 [170; 180]	175 [170; 180]	0,969
Пол			
мужчины (n/%)	74/92,5	682/84,1	0,067
женщины (n/%)	6/7,5	129/15,9	
Вес, кг	85,0 [78,3; 95,0]	75,0 [65,0; 89,0]	**<0,001**
ИМТ, кг/м^2	28,3 [25,2; 31,5]	24,7 [22,0; 28,4]	**<0,001**
ИМТ ≥30,0, кг/ м^2 (n/%)	28/35,0	163/20,1	**0,004**
ДКМП (n/%)	27/33,8	464/57,2	**<0,001**
ИКМП (n/%)	52/65,0	296/36,5	**<0,001**
АДср., мм рт. ст.	79,5 [73,0; 89,5]	78,0 [69,0; 87,0]	0,144
ДПП, мм рт. ст.	8,0 [6,0; 12,8]	8,0 [5,0; 12,0]	0,140
ДЛАср., мм рт. ст.	32,0 [25,0; 42,0]	28,0 [20,0; 37,0]	**0,004**
ЗДЛА, мм рт. ст.	22,5 [16,0; 29,8]	19,5 [13,0; 28,0]	**0,010**
СИ, л/мин/м^2	1,9 [1,5; 2,2]	2,0 [1,6; 2,2]	**0,047**
ТПГ, мм рт. ст.	10,0 [7,0; 12,0]	9,0 [6,0; 12,0]	**0,024**
ЛСС, ед. Вуда	2,9 [2,2; 4,0]	2,5 [1,8; 3,4]	**0,038**
ЛСС >4,0, ед. Вуда (n/%)	25/31,3	122/15,0	**<0,001**
Неотложность ТС по UNOS			
Статус 1А (n/%)	20/25,0	151/18,6	0,216
Статус 1В (n/%)	18/22,5	194/23,9	0,888
Статус 1А–1В (n/%)	38/47,5	345/42,5	0,456
Статус 2 (n/%)	42/52,5	467/57,5	0,456
Общий билирубин, мкмоль/л	20,3 [13,3; 36,5]	25,0 [15,6; 50,0]	**0,042**
Мочевина, ммоль/л	8,3 [6,0; 10,0]	6,7 [5,6; 10,2]	**0,036**
Креатинин, мкмоль/л	105,2 [82,4; 110,0]	90,0 [77,0; 112,8]	**0,042**
СКФ, мл/мин	67,5 [62,7; 88,7]	79,9 [60,4; 95,7]	**0,046**
Общий белок, г/л	72,0 [68,5; 76,3]	71,8 [65,5; 76,3]	**0,020**
АЛТ, Ед/л	21,0 [14,0; 35,0]	24,0 [15,6; 42,2]	0,147
АСТ, Ед/л	24,0 [19,0; 30,0]	27,0 [20,0; 39,0]	0,145
Протромбиновый индекс, %	84,0 [69,0; 91,5]	78,0 [65,0; 88,0]	**0,025**
МНО	1,2 [1,0; 1,6]	1,4 [1,1; 1,7]	**0,047**
Лейкоциты	7,8 [6,7; 9,4]	7,5 [6,0; 8,9]	0,095
Тромбоциты	188,5 [142,0; 237,0]	192,0 [134,0; 243,0]	0,694
Уровень глюкозы (в любой момент времени), ммоль/л	7,9 [6,4; 9,2]	6,1 [5,4; 6,9]	**<0,001**

Примечание. ИМТ – индекс массы тела; ДКМП – дилатационная кардиомиопатия; ИКМП – ишемическая кардиомиопатия; АДср. – среднее артериальное давление; ДПП – давление в правом предсердии; ДЛАср. – среднее давление в легочной артерии; ЗДЛА – заклинивающее давление легочной артерии; СИ – сердечный индекс; ТПГ – транспульмональный градиент; ЛСС – легочное сосудистое сопротивление; ТС – трансплантация сердца; СКФ – скорость клубочковой фильтрации; АЛТ – аланинаминотрансфераза; АСТ – аспартатаминотрансфераза; МНО – международное нормализованное отношение.

Note. ИМТ – body mass index; ДКМП – dilated cardiomyopathy; ИКМП – ischemic cardiomyopathy; АДср. – mean arterial pressure; ДПП – right atrial pressure; ДЛАср. – mean pulmonary artery pressure; ЗДЛА – pulmonary wedge pressure; СИ – cardiac index; ТПГ – transpulmonary gradient; ЛСС – pulmonary vascular resistance; ТС – heart transplantation; СКФ – glomerular filtration rate; АЛТ – alanine aminotransferase; АСТ – aspartate aminotransferase; МНО – international normalized ratio.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При анализе данных предтрансплантационного обследования включенных в исследование реципиентов сердца выявили, что в группе с сахарным диабетом превалировали пациенты старше ($p < 0,05$) по возрасту (табл. 1). Показатели веса и индекса массы тела были значимо ($p < 0,05$) больше в исследуемой группе.

Соотношение реципиентов с ДКМП и ИКМП имело разнонаправленный характер между основной и контрольной группами. В основной группе превалировали ($p < 0,001$) реципиенты с дотрансплантационным диагнозом «ИКМП» (65,0%), в контрольной группе – с диагнозом «ДКМП» (57,2%). Гемодинамические проявления ХСН и сопутствующей легочной гипертензии (ЛГ) были выражены у реципиентов основной группы, что проявилось более ($p < 0,05$) низким значением сердечного индекса (СИ), более ($p < 0,05$) высокими показателями среднего давления в легочной артерии (ДЛА ср,) транспульмонального градиента (ТПГ) и легочного сосудистого сопротивления (ЛСС). Доля пациентов с дотрансплантационным уровнем ЛСС более 4 ед. Вуда (27,5%) также была больше ($p < 0,05$) в основной группе. По неотложности выполнения ТС реципиенты обеих групп не различались. Биохимические проявления дотрансплантационной почечной дисфункции – мочевина, креатинин крови, скорость клубочковой фильтрации (СКФ) – были более ($p < 0,05$) выражены у реципиентов основной группы, печеночной дисфункции – общий билирубин, протромбиновый индекс (ПИ) и международное нормализованное отношение (МНО) – у реципиентов основной группы. Закономерно дотрансплантационный уровень глюкозы крови был больше ($p < 0,05$) у реципиентов основной группы.

Характер и частота встречаемости сопутствующих заболеваний на момент выполнения ТС у реципиентов основной и контрольной групп представлены в табл. 2.

Основная группа характеризовалась большей долей (от 3,8 до 17,5%) реципиентов с артериальной гипертензией 2-й ст. / 3-й ст., дисциркуляторной энцефалопатией 2-й ст. / 3-й ст., мультифокальным атеросклерозом, мочекаменной болезнью, субклиническим гипотиреозом, хронической болезнью почек 3-й стадии и выше ($p < 0,05$). В контрольной группе частота встречаемости тех же сопутствующих заболеваний составила от 0,6 до 5,5%.

По основным клиническим, лабораторным и инструментальным параметрам обследования донора сердца различий между основной и контрольной группами выявлено не было, за исключением показателя «отношение веса донора к весу реципиента» (табл. 3).

Реципиенты основной и контрольной групп не различались по частоте развития ранней дисфункции сердечного трансплантата, потребовавшей посттрансплантационной МПК – соответственно 12,5% против 10,7% ($p = 0,764$) (табл. 4). Клинико-биохимические проявления острого повреждения почек в раннем посттрансплантационном периоде были более ($p < 0,05$) выражены у реципиентов в основной группе, что обусловило в 1,6 раза большую ($p < 0,05$) потребность в заместительной почечной терапии. Продолжительность применения постоянных методов заместительной почечной терапии ЗПТ (продленная вено-венозная гемофильтрация – ПВВГФ) была больше ($p < 0,05$) в основной группе. Для реципиен-

Таблица 2

Структура и частота встречаемости сопутствующих заболеваний перед трансплантацией сердца у реципиентов основной и контрольной групп (n = 891)

Preoperative morbidity in diabetic and nondiabetic heart transplant recipients (n = 891)

Сопутствующие заболевания (n/%)	Наличие СД2 у реципиентов		Хи-квадрат	p
	Есть (n = 80)	Нет (n = 811)		
Артериальная гипертензия, 2-я ст. / 3-я ст.	14/17,5	45/5,5	14,979	**<0,001**
ДЭП, 2-я ст. / 3-я ст.	11/13,8	19/2,3	23,767	**<0,001**
Мультифокальный атеросклероз	11/13,8	10/1,2	44,349	**<0,001**
ХБП, 3-я ст. и выше (n/%)	9/11,3	11/1,4	28,175	**<0,001**
Атеросклероз брахицефальных артерий со стенозом сонных артерий >50%	8/10,0	9/1,1	26,225	**<0,001**
Немедикаментозно-индуцированный клинический/ субклинический гипотиреоз	7/8,8	14/1,7	12,731	**<0,001**
Облитерирующий атеросклероз нижних конечностей	6/7,5	10/1,2	12,881	**<0,001**
Мочекаменная болезнь	3/3,8	5/0,6	4,909	0,027

Примечание. ДЭП – дисциркуляторная энцефалопатия; ХБП – хроническая болезнь почек.

Note. ДЭП – dyscirculatory encephalopathy; ХБП – chronic kidney disease.

тов основной группы характерным было более частое (в 1,9 раза) возникновение послеоперационного делирия (23,8% против 12,5%). Ведущими инфекционными осложнениями в госпитальном периоде у реципиентов как основной, так и контрольной группы явились пневмония (преимущественно бактериальной этиологии) и гнойный медиастинит, частота возникновения которых составила соответственно 18,8% (группа «СД2») против 19,0% (группа «без СД2») (p = 0,919) и 2,5% (группа «СД2») против 2,1% (группа «без СД2») (p = 0,86). Достоверного различия в частоте развития перечисленных инфекционных осложнений между реципиентами обеих групп не было выявлено.

В ранние сроки после ТС потребность и среднесуточные дозировки инсулина были выше (p < 0,05) у реципиентов основной группы (табл. 5). Из контрольной группы 227 пациентов (28,0%) получали продленную внутривенную инфузию инсулина через дозатор лекарственных средств. В нашем исследовании целевым значением уровня глюкозы крови являлось 5–10 ммоль/л.

До первой эндомиокардиальной биопсии дожили 77 (96,3%) из 80 реципиентов группы «СД2» и 780 (96,2%) из 811 реципиентов группы «без СД2». По частоте развития острого клеточного отторжения группы достоверно не различались: 1) степень отторжения 1R – 45,5% (группа «СД2») против 42,9% (группа «без СД2») (p = 0,76); 2) степень отторжения 2R – 0,0% (группа «СД2») против 1,0% (группа «без СД2») (p = 1,00); 3) степень отторжения 3R – 2,6% (группа «СД2») против 2,1% (группа «без СД2») (p = 0,92). По частоте развития антителообусловленного отторжения сердечного трансплантата достоверного различия между реципиентами обеих групп выявлено не было. Во всех наблюдениях было диагностировано антителообусловленное отторжение pAMR 2-й степени – соответственно 3,9% (группа «СД2») против 4,7% (группа «без СД2») (p = 0,96).

Наличие дотрансплантационного СД 2-го типа не оказало негативного влияния на продолжительность лечения в отделении реанимации и интенсивной терапии ОРИТ и госпитальную летальность, которая составила соответственно 8,8% (группа «СД2») против 8,5% (группа «без СД2») (p = 0,895). Между группами отсутствовало различие в структуре госпитальной летальности (табл. 6).

В отдаленные сроки после ТС ведущим инфекционным осложнением у реципиентов обеих групп явилась внегоспитальная пневмония (преимущест-

Таблица 3

Сравнительная клиническая характеристика доноров сердца основной и контрольной групп (n = 891)

Comparative clinical characteristics of heart recipients (n = 891)

Показатель	Наличие СД2 у реципиентов		p
	Есть (n = 80)	Нет (n = 811)	
Возраст, лет	45,0 [34,0; 55,5]	44,0 [34,0; 53,0]	0,441
Пол Женщины, (n/%) Мужчины, (n/%)	 15/18,8 65/81,2	 160/19,7 651/80,3	 0,955
Пара «донор женщина – реципиент мужчина», (n/%)	13/16,3	124/15,3	0,945
Вес донора, кг	85 [75; 90]	80 [70; 90]	0,143
Отношение «вес донора / вес реципиента»	0,95 [0,85; 1,1]	1 [0,86; 1,2]	**0,010**
Нетравматическое повреждение головного мозга у донора, (n/%)	48/60	522/64,4	0,523
Сердечно-легочная реанимация, (n/%)	3/3,8	32/3,9	0,828
ИВЛ, сутки	2 [1; 3]	2 [1; 3]	0,562
Гемоглобин, г/л	120 [92; 142]	113 [89; 138]	0,168
Общий белок, г/л	60 [52; 70]	60,5 [52; 67]	0,542
Натрий крови, ммоль/л	148 [141; 157]	147 [140; 156]	0,298
Натрий крови >160 ммоль/л, (n/%)	13/16,3	82/10,1	0,131
Симпатомиметическая терапия, (n/%)	63/78,8	572/70,5	0,156
Норадреналин, n/%, нг/кг/мин (макс.)	44/55 300 [167; 550]	458/56,5 340 [180; 600]	0,902 0,194
Допамин, n/%, мкг/кг/мин (макс.)	19/23,8 6 [3,5; 13,5]	279/34,4 7 [4; 12]	0,073 0,184
Тропонин Т, пг/мл	0,17 [0,1; 0,7]	2 [0,2; 62,1]	**0,049**
КФК-МВ, нг/мл	37 [32; 65]	33 [5,5; 54,5]	0,161

Примечание. ИВЛ – искусственная вентиляция легких; КФК-МВ – креатинфосфокиназа МВ.

Note. ИВЛ – mechanical ventilation; КФК-МВ – creatine kinase-MB.

венно смешанной бактериально-вирусной этиологии), частота возникновения которой составила соответственно 12,5% (группа «СД2») против 10,9% (группа «без СД2») (p = 0,793).

Частота выявления трансмиссивного (развившегося при жизни донора сердца) атеросклероза коронарных артерий трансплантированного сердца (ТАКТС) в обеих группах реципиентов достоверно не различалась – соответственно 22,5% (n = 18, группа «СД2») против 26,1% (n = 212, группа «без СД2») (p = 0,569), а также количества исходно выявленных пораженных коронарных артерий – соответственно 1,4 ± 0,4 (группа «СД2») против 1,3 ± 0,5 (группа «без СД2») (p = 0,071). Также группы достоверно не различались по частоте выполнения чрескожного коронарного вмешательства в ранние сроки после ТС

Таблица 4

Ранний посттрансплантационный период у реципиентов основной и контрольной групп (n = 891)

Early posttransplant clinical characteristics of diabetic and nondiabetic recipients (n = 891)

Показатель	Наличие СД2 у реципиентов		p
	Есть (n = 80)	Нет (n = 811)	
Ишемия трансплантата, мин.	154 [133; 185]	159 [131; 194]	0,597
Продолжительность ИК, мин.	119 [100; 142]	120 [93; 152]	0,878
Допамин			
n/%	76/95,0	632/77,9	**<0,001**
мкг/кг/мин (макс.)	6 [4; 10]	6 [4; 8]	0,184
Добутамин			
n/%	54/67,5	457/56,4	0,072
мкг/кг/мин (макс.)	4,0 [3,5; 6,0]	5,0 [4,0; 6,0]	0,769
Адреналин			
n/%	78/97,5	625/77,1	**<0,001**
нг/кг/мин (макс.)	40,0 [60,0; 80,0]	43,0 [60,0; 80,0]	0,299
постОТС – МПК, n/%	10/12,5	87/10,7	0,764
Посттрансплантационная МПК, сут	3,5 [1,5; 5,5]	3 [2; 5]	0,524
Послеоперационная ИВЛ, ч	8,5 [6; 13]	9 [6; 14,5]	0,831
Общ. билирубин (макс.), мкмоль/л	43 [31,7; 69,4]	47 [30,7; 77,8]	0,888
АЛТ (макс.), Ед/л	42 [30; 54]	42 [31; 81]	0,770
АСТ (макс.), Ед/л	129 [98; 236]	108 [143; 193]	0,585
Мочевина (макс.), ммоль/л	16,7 [12,2; 22,2]	14 [10,1; 18,8]	**0,022**
Креатинин (макс.), мкмоль/л	151,2 [115,6; 218,7]	133,9 [100,1; 174]	**0,019**
Общий белок (мин.), г/л	58 [54; 62]	66 [63; 68]	**<0,001**
ПИ (мин.), %	67 [60; 74]	71 [63; 77]	**0,016**
Лейкоциты (макс.)	20,2 [17,4; 23]	18,1 [15,2; 22,3]	**0,028**
Тромбоциты (мин.)	76 [56; 103,5]	74,5 [51; 107]	0,871
Прокальцитонин (макс.)	8,8 [2,7; 23,9]	6,4 [2,6; 17,7]	0,159
Постоперационный делирий, n/%	19/23,8	101/12,5	0,008
Заместительная почечная терапия: ПВВГФ, n/%	36/45,0	226/27,9	**0,003**
Начало ПВВГФ, п/о сутки	1,5 [1; 2]	4 [2; 12]	**0,002**
Переход с ПВВГФ на интермиттирующую ГДФ, n/%	13/16,3	85/10,5	0,165
Количество пациентов, получающих инсулинотерапию через дозатор после ТС, n/%	80/100	227/28,0	**<0,001**
В/в введение инсулина, ед/день	66,7 [50; 89,3]	50 [33,3; 66,7]	**<0,001**
В/в введение инсулина, продолжительность дней	2 [1; 5]	1 [0,5; 2]	**<0,001**
ОРИТ, сутки	6 [5; 10]	6 [4; 8]	0,098
Госпитальная выживаемость, n/%	73/91,2	742/91,5	0,895

Примечание. ИК – искусственное кровообращение; ОТС – ортотопическая трансплантация сердца; МПК – механическая поддержка кровообращения; ИВЛ – искусственная вентиляция легких; АЛТ – аланинаминотрансфераза; АСТ – аспартатаминотрансфераза; ПИ – протромбиновый индекс; ПВВГФ – продленная вено-венозная гемофильтрация; ГДФ – гемодиафильтрация; ТС – трансплантация сердца; ОРИТ – отделение реанимации и интенсивной терапии.

Note. ИК – assisted circulation; ОТС – orthotopic heart transplantation; МПК – mechanical circulatory support; ИВЛ – mechanical ventilation; АЛТ – alanine aminotransferase; АСТ – aspartate aminotransferase; ПИ – prothrombin time; ПВВГФ – continuous veno-venous hemofiltration; ГДФ – hemodiafiltration; ТС – heart transplant; ОРИТ – intensive care unit.

у реципиентов с ТАКТС – соответственно 45,0% (у 9 из 20, группа «СД2») против 63,1% (159 из 252, группа «без СД2») (p = 0,173). В отдаленные сроки после ТС при повторных коронароангиографических исследованиях у 14 (70%) из 20 реципиентов группы «СД2» выявлено прогрессирование ТАКТС, что потребовало выполнения дополнительного чрескожного коронарного вмешательства. В группе «без СД2» дополнительное чрескожное коронарное вмешательство потребовалось у 177 (70,2%) из 252 пациентов с выявленным ТАКТС (p = 0,817).

По частоте развития болезни коронарных артерий пересаженного сердца (БКАПС), диагностированной в разные сроки после ТС у реципиентов обеих групп, выписанных из стационара, достоверного различия выявлено не было – соответственно 45,2% (у 33 из 73, группа «СД2») против 39,6% (294 из 742, группа «без СД2») (p = 0,417). В соответствии с классификацией S.Z. Gao и соавт. (1988 г.) группы достоверно не различались по частоте выявления различных типов стенозирующего поражения коронарных артерий при БКАПС: 1) тип А – 39,4% (группа «СД2») против 54,8% (группа «без СД2») (p = 0,136); 2) тип В1/В2 – 42,4% (группа «СД2») против 33,0% (группа «без СД2») (p = 0,373); 3) тип С – 18,2% (группа «СД2») против 12,2% (группа «без СД2») (p = 0,489).

В амбулаторной заместительной почечной терапии методом программного гемодиализа нуждались 11 (1,3%) из 815 реципиентов, выписанных из стационара после ТС. По частоте «хронизации» почечной недостаточности, требующей амбулаторного программного гемодиализа, реципиенты обеих групп не различались – соответственно 1,4% (1 из 73, группа «СД2») против 1,3 (10 из 742, группа «без СД2») (p = 0,606).

За анализируемый период умерло 145 из 815 реципиентов сердца, выписанных из стационара, в том числе 13 (17,8%) из 73 (группа «СД2») и 132 (17,8%) из 742 (группа «без СД2»). Не было выявлено достоверного различия по структуре отдаленной летальности реципиентов, выписанных после ТС (табл. 7).

Наличие дотрансплантационного СД 2-го типа достоверно не повлияло не только на раннюю, но и отдаленную выживаемость реципиентов сердца (рис.).

Таблица 5

Сравнительная характеристика динамики в потребности продленной внутривенной инфузии инсулина через дозатор лекарственных средств у реципиентов основной и контрольной групп в раннем посттрансплантационном периоде (n = 307)

Daily intravenous insulin doses (U/day) at early postoperative period in diabetic and non-diabetic recipients (n = 307)

Этап исследования (после ТС)	Группа «СД2» (n = 80)	Группа «без СД2» (n = 227)	Хи-квадрат/ точный критерий Фишера	p
12 ч	115,5 ± 47,1	110,3 ± 35,5	1,1871	0,236
1-е сутки	89,3 ± 33,7	55,3 ± 29,3	9,6193	0,0001
2-е сутки	63,9 ± 25,1	47,1 ± 15,3	8,5071	0,0001
3-и сутки	52,3 ± 17,1	37,5 ± 12,1	9,7958	0,0001
4-е сутки	48,9 ± 16,3	23,3 ± 7,1	25,3178	0,0001
5-е сутки	35,7 ± 15,0	14,4 ± 5,3	26,2307	0,0001

Примечание. ТС – трансплантация сердца.

Note. ТС – heart transplantation.

Таблица 6

Причины госпитальной летальности после трансплантации сердца (n = 76)

Causes of post-transplant in-hospital mortality (n = 76)

Причина смерти	Наличие дотрансплантационного СД2 у реципиентов, умерших в ранние сроки после ТС		Хи-квадрат/ точный критерий Фишера	p
	Есть (n = 7)	Нет (n = 69)		
Полиорганная недостаточность, не связанная с развитием первичной дисфункции трансплантата	4/57,1	28/40,6	0,273	0,603
Полиорганная недостаточность, развившаяся на фоне первичной дисфункции трансплантата	2/28,6	19/27,5	0,148	0,701
Острый криз отторжения	1/14,3	15/21,7	0,004	0,951
Другие причины	0	7/10,2	0,039	0,843

ОБСУЖДЕНИЕ

Частое сочетание сердечно-сосудистой патологии и нарушений углеводного обмена обуславливает высокую распространенность СД 2-го типа среди пациентов с заболеваниями сердца, сопровождаемых развитием ХСН [4, 5]. Это, в свою очередь, объясняет наличие СД 2-го типа у многих пациентов с терминальной ХСН, части из которых показано выполнение ТС [3–5, 16, 17]. Несмотря на то что за рубежом накоплен многолетний опыт ТС у пациентов с сопутствующим СД 2-го типа, ее выполнение продолжает быть сопряжено с повышенным риском ранних и отдаленных осложнений, способных негативно повлиять на посттрансплантационную выживаемость реципиентов [2, 6, 7, 18]. По данным одноцентрового исследования Ram E. и соавт. (2020 г.), наличие дотрансплантационного СД 2-го типа у реципиентов сердца повышает риск летального исхода после ТС в 1,8 раза [19].

По данным многоцентровых исследований, доля ТС у реципиентов с предтрансплантационным СД 2-го типа составляет от 13,6 до 28,2% [20, 21]. В нашем исследовании доля ТС у реципиентов с дотрансплантационным СД составила 9,0% от общего количества пересадок сердца, выполненных за анализируемый 8-летний период. Начало регулярного выполнения ТС у реципиентов с дотрансплантаци-

Таблица 7

Причины отдаленной летальности реципиентов, выписанных из стационара после трансплантации сердца (n = 145)

Causes of long-term post-transplant post-discharge mortality (n = 145)

Причина смерти	Наличие СД2 у реципиентов		Хи-квадрат/ точный критерий Фишера	p
	Есть (n = 13)	Нет (n = 132)		
Инфекционные осложнения	5/38,5	22/16,7	2,411	0,121
Отторжение	3/23,1	32/24,2	0,060	0,806
БКАПС	2/15,4	25/18,9	0,004	0,953
Внезапная смерть	1/7,6	30/22,7	0,823	0,365
Онкология	0	8/6,1	0,076	0,783
Причина неизвестна	2/15,4	15/11,4	0,000	0,983

Примечание. БКАПС – болезнь коронарных артерий пересаженного сердца.

Note. БКАПС – cardiac allograft vasculopathy.

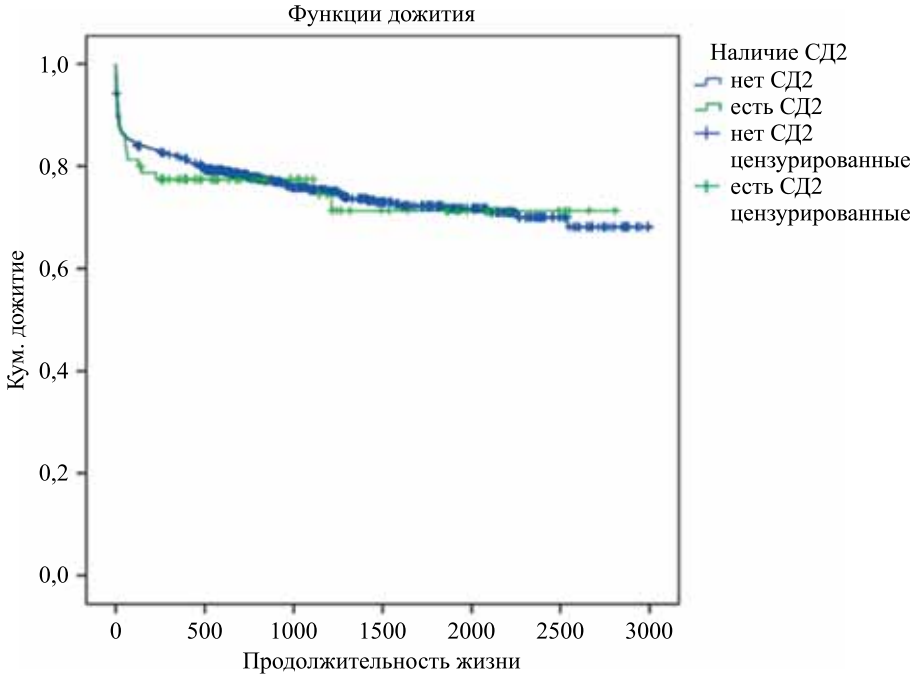

Рис. Влияние дотрансплантационного СД 2-го типа на раннюю и отдаленную выживаемость реципиентов сердца

Fig. The effect of pre-transplant T2D on early and long-term survival in heart recipients

онным СД 2-го типа с 2011 г. совпало с увеличением ежегодного объема выполняемых пересадок сердца более 30 в год. Увеличение доли ТС у реципиентов с дотрансплантационным СД также было сопряжено с увеличением доли пересадок сердца у пациентов старших возрастных категорий, что привело к увеличению и среднего возраста реципиента сердца [22].

При сравнительном исследовании выявили, что реципиенты с дотрансплантационным СД 2-го типа были старше по возрасту, имели более высокий вес и ИМТ по сравнению с реципиентами без дотрансплантационных нарушений углеводного обмена. Закономерно ишемическая болезнь сердца (ИБС) была ведущей причиной развития терминальной ХСН у реципиентов с дотрансплантационным СД 2-го типа. Преимущественное нарушение систолической и диастолической функции левого желудочка (ЛЖ) обусловило более выраженные проявления предтрансплантационной ЛГ у данной когорты реципиентов сердца. Почти 1/3 составили реципиенты с предтрансплантационным уровнем ЛСС более 4 ед. Вуда. Кроме того, как показало данное исследование, при подготовке и выполнении ТС у реципиентов с дотрансплантационным СД 2-го типа необходимо учитывать более выраженные проявления дооперационной почечной дисфункции и наличие сопутствующей патологии (артериальная гипертензия – АГ), мультифокальный атеросклероз, ХПБ 3-й ст. и выше и т. п.), способных негативно повлиять на течение раннего и отдаленного посттрансплантационных периодов.

Почти половина пациентов с дотрансплантационным СД 2-го типа нуждалась в неотложном выполнении ТС, включая 25% с предтрансплантационной МПК методом периферической вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенации (ВА ЭКМО), что могло негативно повлиять на течение периоперационного периода и явиться фактором риска неблагоприятного исхода в ранние сроки после трансплантации.

Медиана возраста донора сердца достоверно не различалась между двумя исследованными группами реципиентов и находилась в пределах 44–45 лет, что полностью соответствует медиане возраста донора сердца в европейских странах и отражает современные тенденции к увеличению возраста сердечного донора в связи с выраженным сокращением пула доноров младше 40 лет [23]. В обеих группах превалировали доноры сердца (60,0–64,4%), причиной смерти которых было необратимое нетравматическое повреждение головного мозга, что считается возможным фактором риска ранней дисфункции сердечного трансплантата [24, 25]. Достоверно меньшие потребность и дозировки симпатомиметической поддержки, а также значение маркера повреждения миокарда тропонина Т при кондиционировании донора сердца могли благоприятно повлиять на характер восстановления начальной функции сердечного трансплантата у реципиентов основной группы [24, 26].

Несмотря на отсутствие различий в частоте применения МПК в раннем посттрансплантационном периоде, напряженности симпатомиметической терапии и длительности послеоперационной ИВЛ, у реципиентов основной группы наблюдались более выраженные проявления полиорганной недостаточности, преимущественно почечно-печеночной, а также в 1,9 раза чаще был послеоперационный делирий и в 1,6 раза чаще применялась заместительная почечная терапия. Эти особенности стоит учитывать при ведении реципиентов с дотрансплантационным СД2 в периоперационном периоде. Ожидаемо, что у данной категории пациентов была значительно большая потребность в инсулинотерапии. Вместе с тем, как показало наше исследование, вышеперечисленные факты не оказали негативного влияния на продолжительность постоперационного лечения реципиентов с СД2 в условиях ОРИТ и госпитальную летальность. В обеих исследуемых группах ведущей причиной смерти являлся синдром полиорганной недостаточности.

В исследовании не продемонстрировано отрицательного влияния дотрансплантационного СД 2-го типа на частоту ранних и отдаленных инфекционных осложнений, что связываем с «более агрессивным» проведением послеоперационной антимикробной химиопрофилактики (ранние осложнения) и персонализированным подходом при определении оптимальной схемы иммуносупрессивной терапии (ранние и поздние осложнения) [27–29].

В нашем исследовании не было выявлено достоверного негативного влияния дотрансплантационного СД 2-го типа на прогрессирование трансмиссивного атеросклероза коронарных артерий в посттрансплантационном периоде, также как и на частоту возникновения и выраженность БКАПС. Ранее проведенные исследования демонстрируют неоднозначное влияние дотрансплантационного СД 2-го типа на развитие и прогрессирование предсуществующей или *de novo* возникшей патологии коронарных артерий донорского сердца [16, 19, 30]. Наличие дотрансплантационного СД 2-го типа негативно не повлияло на частоту и выраженность БКАПС, что также выявлено и в других исследованиях [25, 27].

Не было выявлено достоверного влияния дотрансплантационного СД 2-го типа на частоту и выраженность возникновения других неинфекционных нелетальных и летальных осложнений (хроническая почечная недостаточность, онкопатология, острое отторжение сердечного трансплантата и др.).

Показатели ранней и отдаленной выживаемости у реципиентов с отсутствием и наличием СД 2-го типа были сопоставимы, что указывает на то, что при пра-

вильном отборе реципиентов и выборе оптимальной тактики их ведения в посттрансплантационном периоде достигается высокая результативность ТС даже у реципиентов с высоким риском ранних и отдаленных осложнений [6, 17, 31]. Возможным объяснением полученных результатов исследования является то, что ТС у реципиентов с дотрансплантационным СД 2-го типа выполнялось при отсутствии значимых проявлений диабет-зависимых и диабет-ассоциированных осложнений, способных повлиять на выживаемость реципиентов. Кроме того, учитывалось наличие и значимость влияния другой сопутствующей патологии на результаты ТС [7].

ВЫВОД

При правильном отборе реципиентов и выборе оптимальной тактики их ведения в посттрансплантационном периоде наличие дотрансплантационного СД 2-го типа не оказывает отрицательного влияния на ранние и отдаленные результаты ТС.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Mehra MR, Canter CE, Hannan MM, Semigran MJ, Uber PA, Baran DA et al.* The 2016 international society for heart lung transplantation listing criteria for heart transplantation: A 10-year update. *The Journal of Heart and Lung Transplantation.* 2016; 3: 1–23.
2. *Marelli D, Laks H, Patel B, Kermani R, Marmureanu A, Patel J et al.* Heart transplantation in patients with diabetes mellitus in the current era. *The Journal of Heart and Lung Transplantation.* 2003; 22 (10): 1091–1097.
3. *Mehra MR, Kobashigawa J, Starling R, Russel S, Uber PA, Parameshwar J et al.* Listing criteria for heart transplantation: international society for heart and lung transplantation guidelines for the care of cardiac transplant candidates – 2006. *The Journal of Heart and Lung Transplantation.* 2006; 25 (9): 1024–1042.
4. *Обрезан АГ, Куликов НВ.* Хроническая сердечная недостаточность и сахарный диабет: патогенез и возможности лечения. *Клинические семинары.* 2018; 58 (7): 85–94. *Obrezan AG, Kulikov NV*. Chronic Heart Failure and Diabetes Mellitus: Pathogenesis and Possibilities of Treatment. *Kardiologiia*. 2018; 58 (7): 85–94. (In Russ.). doi: 10.18087/cardio.2018.7.10156.
5. *Починка ИГ, Стронгин ЛГ, Ботова СН, Разумовский АВ, Баранова АА, Дворникова МИ и др.* Влияние сахарного диабета 2-го типа на 5-летнюю выживаемость пациентов, госпитализированных с острой декомпенсацией сердечной недостаточности. *Хроническая сердечная недостаточность.* 2017; 57 (9): 14–19. *Pochinka IG, Strongin LG, Botova SN, Razumovsky AV, Baranova AA, Dvornikova MI et al*. Effect of Type 2 Diabetes Mellitus on Five-Year Survival of Patients Hospitalized Because of Acute Decompensated Heart Failure. *Kardiologiia*. 2017; 57 (9): 14–19. doi: 10.18087/cardio. 2017.9.10027.
6. *Schulze PC, Jiang J, Yang J, Cheema FH, Schaeffle K, Kato TS et al.* Preoperative assessment of high-risk candidates to predict survival after heart transplantation. *Circulation: Heart Failure.* 2013; 6: 527–534.
7. *Gomis-Pastor M, Mingell EU, Perez SM, Loidi VB, Lopez LL, Bassons AD et al.* Multimorbidity and medication complexity: New challenges in heart transplantation. *Clinical Transplantation.* 2019; 33: 1–14.
8. *Morgan JA, John R, Weinberg AD, Colletti NJ, Mancini DM, Edwards NM.* Heart transplantation in diabetic recipients: a decade review of 161 patients at Columbia Presbyterian. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery.* 2004; 127 (5): 1486–1492.
9. *Готье СВ, Шевченко АО, Кормер АЯ, Попцов ВН, Шевченко ОП.* Перспективы улучшения отдаленных результатов трансплантации сердца. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2014; 16 (3): 23–30. *Gautier SV, Shevchenko AO, Kormer AY, Poptsov VN, Shevchenko OP*. Prospects to improve long-term outcomes of cardiac transplantation. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2014; 16 (3): 23–30. (In Russ.) https://doi.org/10.15825/1.
10. *Мебония НЗ, Попцов ВН.* Трансплантация сердца у реципиентов 60 лет и старше. *Трансплантология: итоги и перспективы*. Том X. 2018 год / Под ред. С.В. Готье. М.–Тверь: Триада, 2019: 504, 335. *Meboniya NZ, Poptsov VN.* Transplantatsiya serdtsa u retsipientov 60 let i starshe. *Transplantology: results and prospects*. Vol. X. 2018 / Ed. by S.V. Gautier. M.–Tver: Triada, 2019: 504, 335.
11. *Costanzo MR, Dipchand A, Starling R, Anderson A, Chan M, Desai S et al.* ISHLT Guidelines for the care of heart transplant recipients. *The Journal of Heart and Lung Transplantation.* 2010; 29 (8): 914–956.
12. *Stewart S, Winters GL, Fishbein MC, Tazelaar HD, Kobashigawa J, Abrams J et al.* Revision of the 1990 working formulation for the standartization of nomenclature in the diagnosis of heart rejection. *The Journal of Heart and Lung Transplant.* 2005; 24 (11): 1710–1720.
13. *Berry GJ, Burke MM, Andersen C, Bruneval P, Fedrigo M, Fishbein MC et al.* The 2013 international society for heart and lung transplantation working formulation for the standartization of nomenclature in the pathologic diagnosis of antibody-mediated rejection in heart transplantation. *The Journal of Heart and Lung Transplantation.* 2013; 32 (12): 1147–1162.
14. *Gao SZ, Alderman EL, Schroeder JS, Hunt SA.* Accelerated coronary vascular disease in the heart transplant patient: coronary arteriographic finding. *Journal of the American College of Cardiology.* 1988; 12: 334–340.
15. *Eknoyan G, Lameire N, Eckardt K-U, Kasiske BL, Wheeler DC, Abboud OI et al.* KDIGO 2012 Clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Official Journal of the International Society of Nephrology.* 2013; 3 (1): 1–150.
16. *Chen JM, Russo MJ, Hammond KM, Mancini DM, Kherani AR, Fal JM et al.* Alternate waiting list strategies for

heart transplantation maximize donor organ utilization. *The Annals of Thoracic Surgery.* 2005; 80 (1): 224–228.
17. *Hong KN, Iribarne A, Worku B, Takayama H, Gelijns AC, Naka Y et al.* Who is the high-risk recipient? Predicting mortality after heart transplant using pretransplant donor and recipient risk factors. *The Annals of Thoracic Surgery.* 2011; 92: 520–527.
18. *Szabo Z, Hakanson E, Svedjeholm R.* Early postoperative outcome and medium-term survival in 540 diabetic and 2239 nondiabetic patients undergoing coronary artery bypass grafting. *The Annals of Thoracic Surgery.* 2002; 74 (3): 712–719.
19. *Ram E, Lavee J, Sternik L, Segev A, Peled Y.* Relation of age of major rejections, allograft vasculopathy, and long-term mortality in a contemporary cohort of patients undergoing heart transplantation. *Israel Medical Association Journal.* 2020; 22: 486–490.
20. *Lund LH, Khush KK, Cherikh WS, Goldfarb S, Kucheryavaya AY, Levvey BJ et al.* The registry of the international society for heart and lung transplantation: thirty-fourth adult heart transplantation report – 2017; focus theme: allograft ischemic time. *The Journal of Heart and Lung Transplantation.* 2017; 26 (10): 1037–1046.
21. *Cehic MG, Nundall N, Greenfield JR, Macdonald PS.* Management strategies for posttransplant diabetes mellitus after heart transplantation: a review. *Journal of Transplantation.* 2018: 1–14.
22. *Попцов ВН, Спирина ЕА, Ухренков СГ, Устин СЮ, Алиев ЭЗ, Масютин СА и др.* Периоперационный период при трансплантации сердца у реципиентов 60 лет и старше. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2016; 18 (4): 56–65. *Poptsov VN, Spirina EA, Ukhrenkov SG, Ustin SYu, Aliev EZ, Masyutin SA et al.* Early Postoperative Period After Orthotopic Heart Transplantation in Recipients of 60 Years and Older. *Russian Journal of Transplantology.* 2016; 18 (4): 56–65. (In Russ.) doi: 10.15825/1995-1191-2016-4-56-65.
23. *Khust KK, Cherikh WS, Chambers DC, Harhay MO, Hayers DJ, Hsich E et al.* The international thoracic organ transplant registry of the international society for heart and lung transplantation: thirty-sixth adult heart transplantation report – 2019; focus theme: donor and recipient size match. *The Journal of Heatr and Lung Transplantation.* 2019; 38: 1056–1066.
24. *Peled Y, Kassif Y, Raichlin E, Kogan A, Har-Zahav Y, Nachum E et al.* Improved long-term outcomes after heart transplantation utilizing donors with traumatic mode of brain death. 2019; 14 (138): 1–9.
25. *Samsky M, Patel CB, Owen A, Schulte PJ, Jentzer J, Rosenberg PB et al.* Ten year experience with extended criteria cardiac transplantation. *Circulation: Heart Failure.* 2013; 6 (6): 1230–1238.
26. *Nakamura Y, Saito S, Miyagawa S, Yoshikawa Y, Hata H, Yoshioka D et al.* Perioperative ischaemic reperfusion injury and allograft function in the early post-transplantation period. *Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery.* 2019; 29: 230–236.
27. *Russo MJ, Chen JM, Hog KM, Stewart AS, Ascheim DD, Argenziano M et al.* Survival after heart transplantation is not diminished among recipients with uncomplicated diabetes mellitus (an analysis of the United Network of Organ Sharing database). *Circulation.* 2006; 114: 2280–2287.
28. *Subramanian S, Trence DL.* Immunosuppressive agents: effects on glucose and lipid metabolism. *Endocrinology and MetabolismClinics of North America.* 2007; 36: 891–905.
29. *Pirsch JD, Henning AK, First MR, Fitzsimmons W, Gaber AO, Reisfield R et al.* New-onset diabetes after transplantation: results from a double-blind early corticosteroid withdrawal trial. *American Journal of Transplantation.* 2015; 20: 1–9.
30. *Ram E, Lavee J, Tenenbaum A, Klempfner R, Fishman EZ, Maor E et al.* Metformin therapy in patients with diabetes mellitus is associated with a reduced risk of vasculopathy and cardiovascular mortality after heart transplantation. *Cardiovascular Diabetology.* 2019; 18 (118): 1–8.
31. *Chambers DC, Cherikh WS, Goldfarb SB, Hayers JD, Kucheryavaya AY, Toll AE et al.* The International Thoracic Organ Transplant Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-Fifth Adult Heart Transplantation Report – 2018; Focus Theme: Multiorgan Transplantation. *Journal of Heart and Lung Transplantation.* 2018; 37 (10): 1169–1183.

Статья поступила в редакцию 7.05.2020 г.
The article was submitted to the journal on 7.05.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-4-20-26

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МИКРОРНК-101 И МИКРОРНК-27 ПРИ ОСТРОМ ОТТОРЖЕНИИ ТРАНСПЛАНТИРОВАННОГО СЕРДЦА

Д.А. Великий[1], О.Е. Гичкун[1, 2], С.О. Шарапченко[1], Н.П. Можейко[1], Р.М. Курабекова[1], О.П. 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

Цель: определить диагностическое значение уровня экспрессии микроРНК-101 и микроРНК-27 в отношении острого отторжения трансплантата у реципиентов сердца. **Материалы и методы.** В исследование включены 46 реципиентов сердца, среди них мужчин – 36 (78,3%); средний возраст реципиентов составил 47,7 ± 10,8 (от 16 до 67) года. Уровень экспрессии микроРНК в плазме крови определялся методом количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР). Верификацию отторжения трансплантата проводили на основании морфологического исследования образцов эндомиокардиальных биоптатов. **Результаты.** Уровни экспрессии микроРНК-101 и микроРНК-27 у реципиентов с острым отторжением трансплантата достоверно ниже по сравнению с реципиентами без отторжения (p = 0,04 и p = 0,03 соответственно). При уровне экспрессии микроРНК-101 ниже найденного порогового значения вероятность риска развития острого отторжения трансплантата возрастает в 1,8 раза (RR = 1,8 [95% ДИ 1,13–3,01]). При уровне экспрессии микроРНК-27 ниже найденного порогового значения вероятность риска развития острого отторжения трансплантата возрастает в 1,9 раза (RR = 1,9 [95% ДИ 1,12–3,37]). Одновременное снижение показателей экспрессии микроРНК-101 и микроРНК-27 ниже найденных пороговых значений повышает вероятность риска развития острого отторжения трансплантата в 2,0 раза (RR = 2,0 [95% ДИ 1,16–3,36]). **Заключение.** Уровни экспрессии микроРНК-101 и микроРНК-27 обладают диагностической значимостью в отношении острого отторжения трансплантата у реципиентов сердца.

Ключевые слова: трансплантация сердца, микроРНК-101, микроРНК-27, острое отторжение, биомаркеры.

DIAGNOSTIC VALUE OF MIRNA-101 AND MIRNA-27 IN ACUTE HEART TRANSPLANT REJECTION

D.A. Velikiy[1], O.E. Gichkun[1, 2], S.O. Sharapchenko[1], N.P. Mozheiko[1], R.M. Kurabekova[1], O.P. Shevchenko[1, 2]

[1] Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation
[2] Sechenov University, Moscow, Russian Federation

Objective: to determine the diagnostic value of miRNA-101 and miRNA-27 expression levels for acute heart transplant rejection. **Materials and methods.** The study enrolled 46 heart recipients, among whom were 36 men (78.3%); the average age of recipients was 47.7 = 10.8 (16 to 67) years. Serum microRNA expression levels were measured via quantitative polymerase chain reaction (PCR). Graft rejection was verified through morphological analysis of endomyocardial biopsy specimens. **Results.** The expression levels of miRNA-101 and miRNA-27 in recipients with acute graft rejection are significantly lower than in recipients without rejection (p = 0.04 and p = 0.03, respectively). When the miRNA-101 expression level is below the determined threshold value, the risk

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

of developing acute graft rejection increases 1.8 times (RR = 1.8 [95% CI 1.13–3.01]). When the miRNA-27 expression level is below the determined threshold value, the risk of developing acute graft rejection increases 1.9 times (RR = 1.9 [95% CI 1.12–3.37]). Simultaneous decrease in the expression levels of miRNA-101 and miRNA-27 below the determined threshold values increases the likelihood of acute graft rejection by 2.0 times (RR = 2.0 [95% CI 1.16–3.36]). **Conclusion.** The serum miRNA-101 and miRNA-27 expression levels are of diagnostic value for acute graft rejection in heart recipients.

Keywords: heart transplantation, miRNA-101, miRNA-27, acute rejection, biomarkers.

Острое отторжение трансплантата является одним из основных факторов, ограничивающих выживаемость реципиентов сердца. Риск развития острого отторжения трансплантированного сердца более высок в раннем послеоперационном периоде, хотя кризы острого отторжения могут возникать в любые сроки после трансплантации. Поздние кризы отторжения чаще возникают при назначении недостаточных доз иммуносупрессивной терапии и несоблюдении реципиентами предписанного врачом режима приема лекарственных средств, а также возникшими вирусными инфекциями, приводящими к активации иммунной системы пациента [1, 2].

Эндомиокардиальная биопсия, которая используется для верификации и контроля лечения острого отторжения, является инвазивным вмешательством, достаточно трудоемким и сопряженным с риском для пациентов. На результаты биопсии могут оказывать влияние ошибки в выборе образцов и вариабельность при оценке получаемых препаратов [3]. С целью улучшения доклинической диагностики и необходимостью сокращения количества многократно повторяемых инвазивных диагностических вмешательств последние годы ведется активная разработка малоинвазивных методов диагностики посттрансплантационных осложнений, которые могут не только выявить наличие острого отторжения трансплантата, но и контролировать эффективность лечения реципиента [4].

Для решения этой задачи во всем мире активно изучается связь различных биомаркеров, среди которых факторы и медиаторы воспаления, неоангиогенеза, деструкции тканей, тромбообразования и др., с риском развития сердечно-сосудистых заболеваний и посттрансплантационных осложнений [5–9]. Отдельным предметом исследований, направленных на понимание патогенеза патологических процессов в миокарде, поиск и валидацию новых биомаркеров для их диагностики, является изучение микроРНК – малых некодирующих РНК, регулирующих экспрессию генов. Благодаря разнообразию регуляторных функций микроРНК являются перспективной группой биомаркеров, потенциально значимой как для диагностики, так и мониторинга прогрессирования посттрансплантационных осложнений [10–12]. При сравнительном анализе экспрессии микроРНК у реципиентов сердца, выполненном в нашей предыдущей работе, было установлено, что уровень экспрессии микроРНК-101 и микроРНК-27 достоверно различается у реципиентов с острым отторжением трансплантата и без отторжения [13].

Целью настоящей работы явилось определение диагностической эффективности микроРНК-101 и микроРНК-27 в отношении острого отторжения трансплантата у реципиентов сердца.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 46 пациентов, 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 – 36 (78,3%); средний возраст реципиентов составил 47,7 ± 10,8 (от 16 до 67) года. У 29 (63%) реципиентов до ТС была диагностирована дилатационная кардиомиопатия (ДКМП), у 12 (26%) – ишемическая болезнь сердца (ИБС) и у 5 (11%) – прочие патологии. Максимальная длительность наблюдения реципиентов после ТС составила 2215 суток (медиана 264,5 [32; 785,3]).

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 цитостатиков (микофенолата мофетил или микофенолоновая 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 1,22). Об-

разцы периферической крови пациентов собирали в одноразовые пробирки с антикоагулянтом этилендиаминуксусной кислотой (ЭДТА), центрифугировали в течение 10 минут при 3000 оборотах в минуту, после чего плазма крови отделялась от клеточного осадка и незамедлительно замораживалась при –20 °С. 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 $2^{-\Delta CT}$ методу [14] и выражалась в относительных единицах, эквивалентных $\log_2(2^{-\Delta Ct})$, где ΔCt – рабочие значения изменения цикла получения продукта относительно внутреннего контроля экспрессии микроРНК cel-miR-39.

Верификацию острого клеточного и гуморального отторжения трансплантата производили на основании исследования образцов эндомиокардиальных биоптатов. Для гистологического исследования кусочки эндомиокарда фиксировали в 10% формалине, затем промывали водой, обезвоживали и заливали в парафин. На микротоме приготавливали срезы толщиной 3–4 мкм. Для диагностики острого клеточного отторжения (ОКО) срезы окрашивали гематоксилином и эозином, для диагностики гуморального отторжения (AMR) использовали иммуногистохимический метод исследования. Степень острого клеточного и гуморального отторжения трансплантата оценивали по рекомендованным классификациям, принятым Международным обществом трансплантации сердца и легких (ISHLT-2004 и ISHLT-2013).

Статистическая обработка данных

Определение чувствительности и специфичности проводили при помощи ROC-анализа. Для оценки диагностической значимости микроРНК-101 и микроРНК-27 использовали показатель относительного риска. Для определения порогового уровня экспрессии микроРНК рассчитывался индекс Юдена. Чувствительность теста (Se) представлена долей истинно положительных случаев, а специфичность (Sp) – долей истинно отрицательных случаев. Диагностическая эффективность теста (De) выражена процентным соотношением суммы всех истинных случаев к общему числу полученных результатов. Статистический анализ полученных результатов проведен при помощи программного обеспечения и стандартных методов статистической обработки пакета прикладных программ «Statistica» v.13.0, StatSoftInc. (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. Критический уровень значимости принимался равным 5%, т. е. нулевая гипотеза отвергалась при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Показатели экспрессии микроРНК-101 и микроРНК-27 у реципиентов сердца представлены в виде медианы концентраций [интерквартильного размаха] с указанием достоверности различий, что обусловлено распределением значений, отличным от нормального.

В течение всего периода наблюдения после трансплантации признаки острого отторжения были верифицированы у 27 реципиентов в 31 образце эндомиокардиальных биоптатов. Среди них: острое клеточное отторжение (R1G–R3G степеней по классификации ISHLT-2004) наблюдалось у 23 реципиентов в 24 образцах, гуморальное – у 6 реципиентов в 6 образцах и смешанное – в 1 образце.

На рис. 1 представлена морфологическая картина образцов эндомиокардиальных биоптатов трансплантированного сердца, в которых были обнаружены признаки острого клеточного и гуморального отторжения.

Реципиенты с острым отторжением трансплантата и без такового значимо не различались по возрасту ($p = 0,84$), полу ($p = 0,07$) и диагнозу до трансплантации ($p = 0,51$). При анализе концентрации такролимуса в крови реципиентов сердца не было выявлено достоверных различий в группе пациентов с острым отторжением и без такового, концентрация составила 8,1 [6,7; 10,7] и 9,9 [6,1; 12] нг/мл соответственно ($p = 0,75$).

Установлено, что уровень экспрессии микроРНК-101 и микроРНК-27 у реципиентов с острым отторжением трансплантата достоверно ниже по сравнению с реципиентами без отторжения ($p = 0,04$ и $p = 0,03$ соответственно, рис. 2). Полученные результаты согласуются с имеющимися данными об ингибирующем влиянии микроРНК-101 [15–17] и микроРНК-27 [18, 19] на развитие процессов фиброзирования в сердце и других органах.

При определении диагностической значимости микроРНК-101 и микроРНК-27 в качестве маркера острого отторжения трансплантированного сердца использовали анализ ROC-кривой (рис. 3).

Расчеты показали, что площадь под ROC-кривой микроРНК-101 и микроРНК-27 у реципиентов сердца с острым отторжением трансплантата составляет 0,676 и 0,719 ($p = 0,02$ и $p = 0,002$ соответственно).

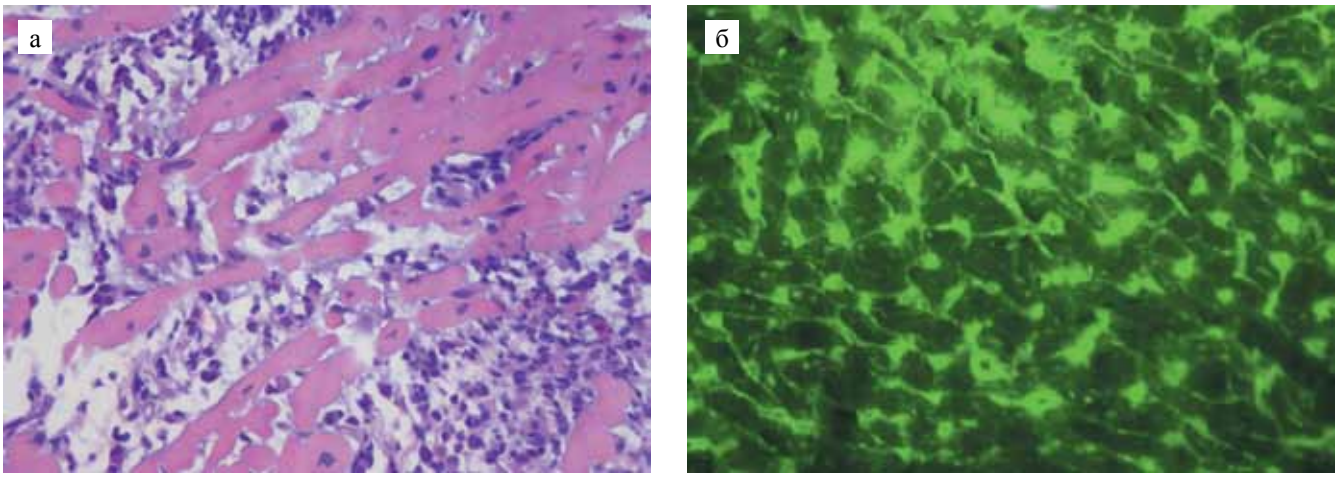

Рис. 1. Исследование образцов эндомиокардиальных биоптатов: а – многоочаговое умеренное острое клеточное отторжение трансплантата сердца (R2G степень по классификации ISHLT-2004). Окраска гематоксилином и эозином. ×400; б – фиксация C4d фрагмента комплемента в стенке капилляров миокарда при остром гуморальном отторжении. Иммуногистохимическое исследование

Fig. 1. Study of endomyocardial biopsy specimens: a – multifocal moderate acute cellular rejection of a heart transplant (R2G grade according to ISHLT-2004 classification). H&E stain. ×400; б – fixation of the C4d fragment of the complement in the myocardial capillary wall in acute humoral rejection. Immunohistochemistry analysis

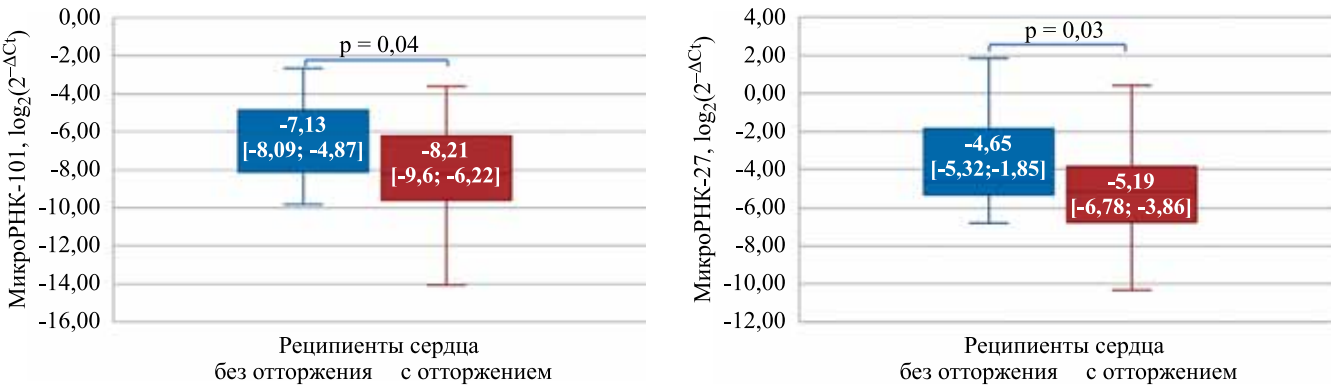

Рис. 2. Уровень экспрессии микроРНК-101 и микроРНК-27 у реципиентов сердца с отторжением трансплантата и без отторжения, $\log_2(2^{-\Delta Ct})$

Fig. 2. Expression levels of miRNA-101 and miRNA-27 in heart recipients with and without graft rejection, $\log_2(2^{-\Delta Ct})$

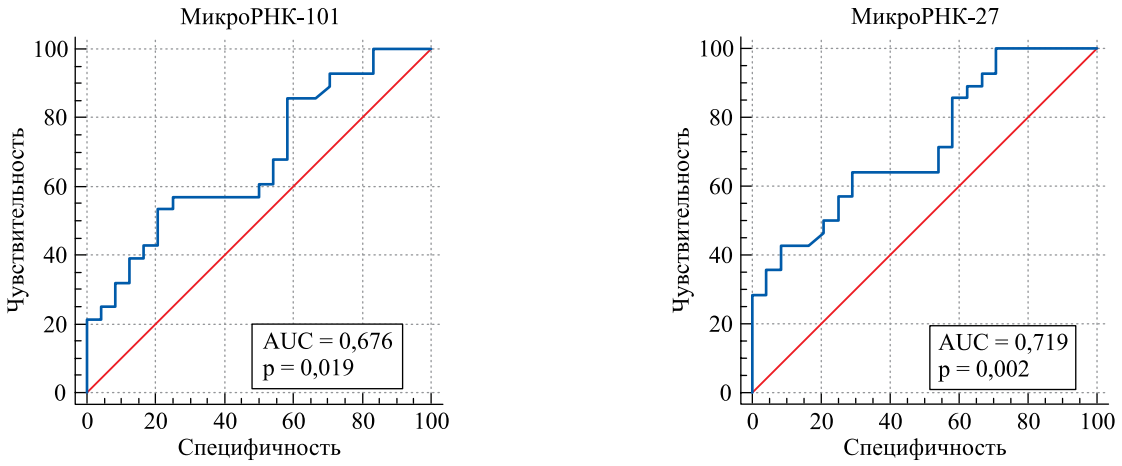

Рис. 3. ROC-кривая микроРНК-101 и микроРНК-27 у реципиентов сердца с острым отторжением трансплантата

Fig. 3. ROC curves of miRNA-101 and miRNA-27 in heart recipients with acute transplant rejection

Пороговые уровни экспрессии микроРНК-101 и микроРНК-27, значимые для диагностики острого отторжения трансплантата у реципиентов сердца, определяли по оптимальному сочетанию значений чувствительности и специфичности, соответствующему наибольшему показателю индекса Юдена [20].

На рис. 4 изображен график зависимости чувствительности и специфичности от уровня экспрессии микроРНК-101 и микроРНК-27 в плазме крови в отношении острого отторжения трансплантата у реципиентов сердца.

Пороговое значение экспрессии микроРНК-101, значимое для диагностики острого отторжения трансплантата у реципиентов сердца, составило –8,36. При уровне экспрессии микроРНК-101 ниже найденного порогового значения вероятность риска развития ост-

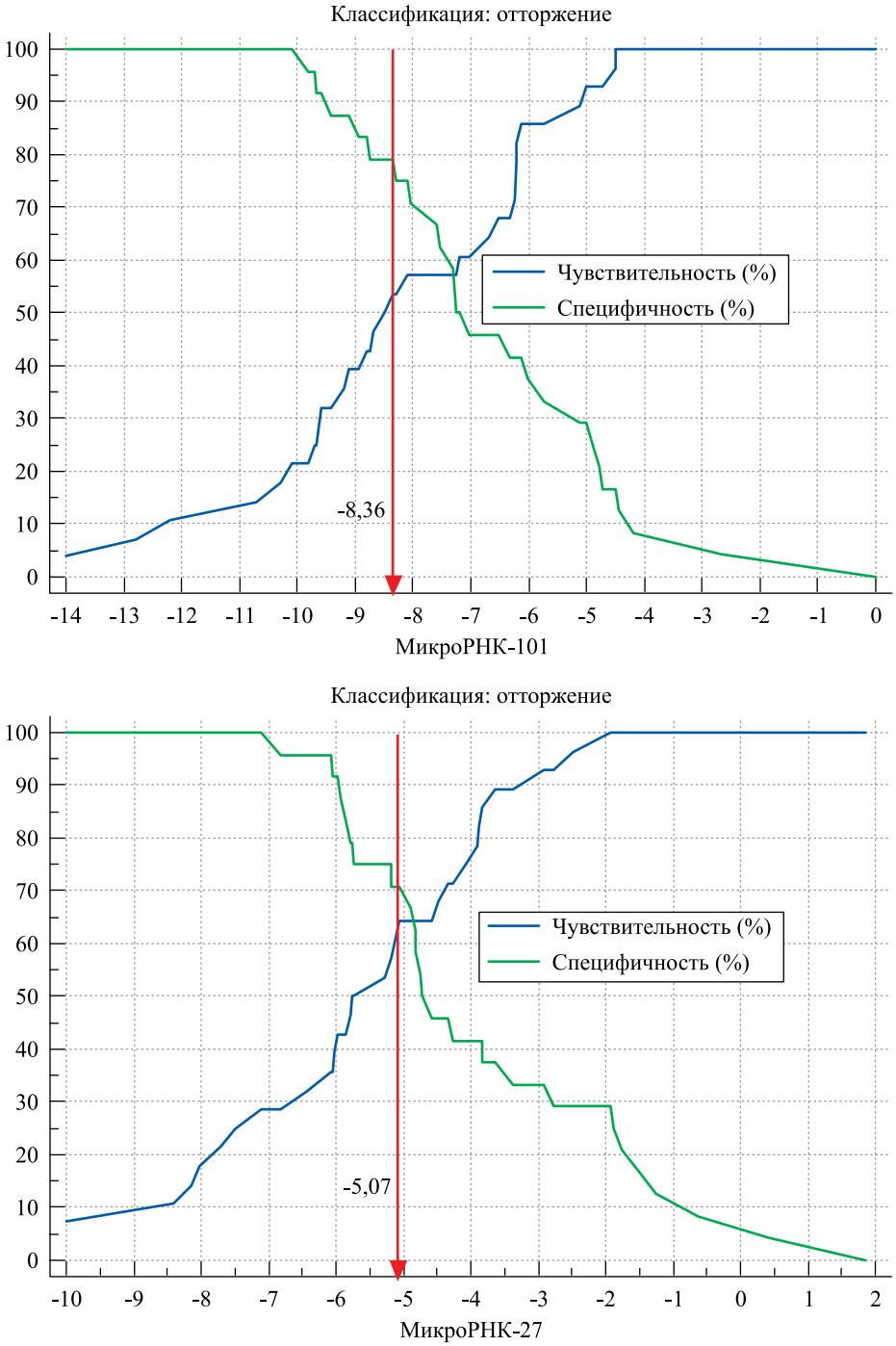

Рис. 4. Диагностически значимые пороговые значения уровня экспрессии микроРНК-101 и микроРНК-27 у реципиентов сердца с острым отторжением трансплантата

Fig. 4. Diagnostically significant threshold values of the expression levels of miRNA-101 and miRNA-27 in heart recipients with acute transplant rejection

Таблица

Диагностическая значимость уровня экспрессии микроРНК-101 и микроРНК-27 ниже пороговых значений у реципиентов сердца с острым отторжением трансплантата

The diagnostic significance of the expression levels of miRNA-101 and miRNA-27 is below the threshold values in heart recipients with acute transplant rejection

МикроРНК	RR	Границы 95% ДИ	Se	Sp	De
МикроРНК-101	1,8	[1,132–3,012]	53,6%	79,2%	65,4%
МикроРНК-27	1,9	[1,122–3,367]	64,3%	70,8%	67,3%
МикроРНК-101 + МикроРНК-27	2,0	[1,158–3,364]	60,0%	78,9%	68,2%

рого отторжения трансплантата в 1,8 раза выше, чем у реципиентов с уровнем экспрессии микроРНК-101 выше этого порогового значения (чувствительность – 53,6%, специфичность – 79,2%). Диагностическая эффективность теста составляет 65,4%. Пороговое значение экспрессии микроРНК-27, значимое для диагностики острого отторжения трансплантата у реципиентов сердца, составило –5,07. При уровне экспрессии микроРНК-27 ниже найденного порогового значения вероятность риска развития острого отторжения трансплантата в 1,9 раза выше, чем у реципиентов с уровнем экспрессии микроРНК-27 выше этого порогового значения (чувствительность – 64,3%, специфичность – 70,8%). Диагностическая эффективность теста составляет 67,3% (табл.).

При оценке диагностической значимости совместного определения микроРНК-101 и микроРНК-27 в отношении острого отторжения трансплантата у реципиентов сердца было установлено, что при уровне экспрессии указанных микроРНК ниже найденных пороговых значений вероятность риска развития острого отторжения трансплантата в 2 раза выше (чувствительность – 60,0%, специфичность – 78,9%). Диагностическая эффективность теста составляет 68,2%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У реципиентов сердца уровни экспрессии микроРНК-101 и микроРНК-27 обладают диагностической значимостью в отношении острого отторжения трансплантата. При уровне экспрессии микроРНК-101 ≤–8,63 отн. ед. ($\log_2(2^{-\Delta Ct})$) риск развития острого отторжения трансплантата у реципиентов сердца выше в 1,8 раза, чем у реципиентов с уровнем экспрессии микроРНК-101 выше порогового значения. При уровне экспрессии микроРНК-27 ≤–5,07 отн. ед. ($\log_2(2^{-\Delta Ct})$) риск развития острого отторжения трансплантата у реципиентов сердца выше в 1,9 раза, чем у реципиентов с уровнем экспрессии микроРНК-27 выше порогового значения. При одновременном уровне экспрессии микроРНК-101 и микроРНК-27 ниже пороговых значений риск развития острого отторжения трансплантата возрастает в 2 раза.

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 transplantirovannym serdcem: rukovodstvo dlya vrachej po vedeniyu pacientov, perenesshih transplantaciyu serdca. M.: Triada, 2014. 144.
2. *Шевченко АО, Никитина ЕА, Колоскова НН, Шевченко ОП, Готье СВ*. Контролируемая артериальная гипертензия и выживаемость без нежелательных событий у реципиентов сердца. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2018; 17 (4): 4–11. *Shevchenko AO, Nikitina EA, Koloskova NN, Shevchenko OP, Gautier SV*. Kontroliruemaja arterial'naja gipertenzija i vyzhivaemost' bez nezhelatel'nyh sobytij u recipientov serdca. *Kardiovaskuljarnaja terapija i profilaktika*. 2018; 17 (4): 4–11. [In Russ, English abstract].
3. *Stehlik J, Starling RC, Movsesian MA, Fang JC, Brown RN, Hess ML et al.* Cardiac Transplant Research Database Group. Utility of long-term surveillance endomyocardial biopsy: a multi-institutional analysis. *J Heart Lung Transplant*. 2006; 25 (12): 1402–1409.
4. *Crespo-Leiro MG, Barge-Caballero G, Couto-Mallon D*. Noninvasive monitoring of acute and chronic rejection in heart transplantation. *Curr Opin Cardiol*. 2017; 32 (3): 308–315.
5. *Шумаков ВИ, Шевченко ОП, Хубутия МШ, Орлова ОВ, Казаков ЭН, Кормер АЯ, Олефиренко ГА*. Васкулопатия трансплантированного сердца: синергизм провоспалительных, проатерогенных факторов и вирусной инфекции. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2006; 11: 8–14. *Shumakov VI, Shev-*

chenko OP, Hubutiya MSh, Orlova OV, Kazakov EN, Kormer AYa, Olefirenko GA. Vaskulopatiya transplantirovannogo serdca: sinergizm provospalitel'nyh, proaterogennyh faktorov i virusnoj infekcii. *Vestnik Rossijskoj akademii medicinskih nauk*. 2006; 11: 8–14.

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. *Kransdorf EP, Kobashigawa JA*. Novel molecular approaches to the detection of heart transplant rejection. *Per Med*. 2017 Jul; 14 (4): 293–297.
8. *van Gelder T*. Biomarkers in solid organ transplantation. *Br J Clin Pharmacol*. 2017 Dec; 83 (12): 2602–2604.
9. *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.
10. *Di Francesco A, Fedrigo M, Santovito D, Natarelli 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.
11. *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.
12. *Khush K, Zarafshar S*. Molecular Diagnostic Testing in Cardiac Transplantation. *Curr Cardiol Rep*. 2017 Oct 13; 19 (11): 118.
13. *Великий ДА, Гичкун ОЕ, Шарапченко 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.
14. *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.
15. *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.
16. *Huang C, Xiao X, Yang Y, Mishra A, Liang Y, Zeng X et al*. MicroRNA-101 attenuates pulmonary fibrosis by inhibiting fibroblast proliferation and activation. *J Biol Chem*. 2017 Oct 6; 292 (40): 16420–16439.
17. *Meroni M, Longo M, Erconi V, Valenti L, Gatti S, Fracanzani AL, Dongiovanni P.* Mir-101-3p Downregulation Promotes Fibrogenesis by Facilitating Hepatic Stellate Cell Transdifferentiation During Insulin Resistance. *Nutrients*. 2019 Oct 29; 11 (11): 2597.
18. *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.
19. *Wang Y, Cai H, Li H, Gao Z, Song K*. Atrial overexpression of microRNA-27b attenuates angiotensin II-induced atrial fibrosis and fibrillation by targeting ALK5. *Hum Cell*. 2018 Jul; 31 (3): 251–260.
20. *Hughes G*. Youden's Index and the Weight of Evidence Revisited. *Methods Inf Med*. 2015; 54 (6): 576–577.

Статья поступила в редакцию 9.10.2020 г.
The article was submitted to the journal on 9.10.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-4-27-31

МОДЕЛЬ ОЦЕНКИ ДОНОРСКОГО СЕРДЦА, ПРОГНОЗИРУЮЩАЯ ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЛЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ

Э.А. Тенчурина[1], М.Г. Минина[1, 2]

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

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

Селекция доноров сердца – важнейший этап, от которого зависит успех трансплантации сердца. **Цель** исследования – создание модели оценки донорского сердца, основанной на ряде характеристик донора. **Материалы и методы**. В исследовании использованы 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. В биноминальной логистической регрессии в качестве зависимой переменной использовался отказ от донорского сердца, в качестве факторных признаков использовались характеристики донора. В регрессионной модели для каждого донорского фактора определена величина ОШ, которая трансформирована в баллы, и сумма баллов каждого из донорских факторов, вошедших в модель, являлась оценкой донорского сердца. Предложенная модель валидизирована на выборке доноров за период с 1 января 2019 года по 31 декабря 2019 года, общим количеством 218. **Результаты.** В модель включены характеристики доноров – возраст, причина смерти (ЧМТ/ОНМК), ГБ и СД в анамнезе, остановка сердечной деятельности с последующим ее восстановлением, собственная патология и травматические повреждения сердца, а также показатели ЧСС, САД, лактата артериальной крови, потребности в норадреналине непосредственно перед изъятием органов. Основываясь на среднем значении суммы баллов, определены доноры низкого риска (ДНР ≤17 баллов) и доноры высокого риска (ДВР ≥18 баллов). В валидационном пуле доноров удельный вес отказов от сердца среди ДНР составил 4,1% и среди ДВР – 78,6%, $p < 0,0001$, χ^2 Пирсона – 130,9. **Заключение.** Представленная модель по оценке донорского сердца достаточно точно отражает вероятность использования сердца донора для трансплантации и создает условия для оптимального распределения сердечных трансплантатов, особенно от доноров высокого риска.

Ключевые слова: модель оценки донорского сердца, донорские факторы риска трансплантации сердца.

A DONOR HEART SCORING MODEL TO PREDICT TRANSPLANT OUTCOMES

E.A. Tenchurina[1], M.G. Minina[1, 2]

[1] Botkin City Clinical Hospital, Moscow, Russian Federation

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

Selection of heart donors is the most important stage on which the success of heart transplantation depends. **Objective**: to create a donor heart scoring model based on a number of donor characteristics. **Materials and methods**. The study used data from 650 brain-dead donors who underwent organ explantations between January 1, 2012 and December 31, 2017. In binomial logistic regression, non-selection of heart donor was used as a dependent variable, while donor characteristics were used as factor features. In regression model, the odds ratio was determined for each donor factor, which was transformed into points. The sum of the points of each of the donor factors included in the model was taken as the score of the donor heart. The proposed model was validated on a sample of donors

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 Proezd, Moscow, 125284, Russian Federation. Phone: (967) 113-87-64. E-mail: arimle@inbox.ru

for the period from January 1, 2019 to December 31, 2019; n = 218. **Results.** The model includes donor characteristics, such as age, cause of death (traumatic brain injury (TBI)/stroke), history of hypertension and diabetes, cardiac arrest with subsequent recovery, own pathology and traumatic heart disease, as well as heart rate, systolic blood pressure, arterial lactate, and need for norepinephrine immediately before organ harvesting. Based on the average value of the sum of points, low-risk donors (LRD ≤17 points) and high-risk donors (HRD ≥18 points) were identified. In the validation pool of donors, the proportion of heart failure among LRD and HRD was 4.1% and 78.6%, respectively, p < 0.0001, Pearson's χ^2 – 130.9. **Conclusion.** The presented donor heart scoring model accurately reflects the probability of using a donor's heart for transplantation and creates conditions for optimal distribution of heart transplants, especially from high-risk donors.

Keywords: donor heart scoring model, donor heart risk factors.

ВВЕДЕНИЕ

В процессе принятия решения о пригодности донорского сердца для трансплантации специалистам необходимо учитывать большое количество как факторов донора, так и факторов реципиента для достижения оптимальных результатов. Зачастую сложно субъективно определить суммарный риск трансплантации сердца, особенно в случае работы с донорами, имеющими расширенные критерии. В мире существует практика использования статистических моделей, определяющих взаимосвязь между исходными факторами и конечным результатом, для принятия объективного решения. В подобных моделях оценка донорского сердца, как правило, измеряется суммой баллов, определяемой каждым из факторов. Наиболее известными моделями такого рода являются европейская модель [1] и модель, созданная американскими исследователями с использованием базы данных UNOS [2]. Совершенствование оценки состояния донорского сердца, а также стандартизация факторов риска чрезвычайно актуальны для повышения эффективности трансплантации сердца [3].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использованы данные 650 доноров со смертью головного мозга (СМ), у которых были выполнены эксплантации органов в период с 1 января 2012 года по 31 декабря 2017 года. В 198 (30,5%) донорских случаях было принято решение не использовать донорское сердце для трансплантации. На начальном этапе проведен общий анализ причин отказов от донорского сердца с учетом возрастной категории доноров, сравнительный анализ показателей между группами доноров, умерших от черепно-мозговой травмы (ЧМТ) и острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК). Для оценки суммарного риска использования донорского сердца для трансплантации использовали бинарную логистическую регрессию, конечной точкой которой являлся отказ от донорского сердца, а независимыми факторами стали характеристики донора – возраст, пол, причина смерти, гипертоническая болезнь (ГБ), сахарный диабет (СД), остановка кровообращения, прижизненная патология сердца и острые травматические повреждения сердца; следующие показатели учитывались в двух значениях – среднее артериальное давление (САД), частота сердечных сокращений (ЧСС), гемоглобин, pH, лактат, Na, глюкоза, потребность в норадреналине, креатинин. Значение отношения шансов (ОШ), полученное в регрессионной модели, присвоено, в виде количества баллов, каждому донорскому фактору, вошедшему в модель. Оценка донорского сердца получена путем суммирования баллов факторов, встречающихся у конкретного донора. На основании среднего значения суммы баллов определены доноры низкого риска (ДНР ≤17 баллов) и доноры высокого риска (ДВР ≥18 баллов). Для валидизации представленной модели использовали пул доноров в количестве 218 за период с 1 января по 31 декабря 2019 г. Верификация модели выявила достоверную разницу в удельном весе отказов от донорского сердца в зависимости от оценки донорского сердца.

Обработка данных выполнялась с использованием компьютерной программы SPSS 23.0 для Windows.

ОБСУЖДЕНИЕ И РЕЗУЛЬТАТЫ

Происхождение количественной оценки сердца донора для трансплантации

Изучены клинические характеристики 650 доноров (рис. 1), период с 1 января 2012 года по 31 дека-

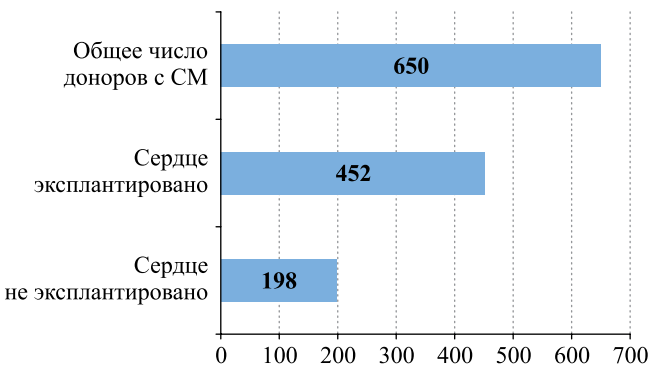

Рис. 1. Распределение пула доноров со смертью мозга, включенных в исследование

Fig. 1. Distribution of pool of brain-dead donors included in the study

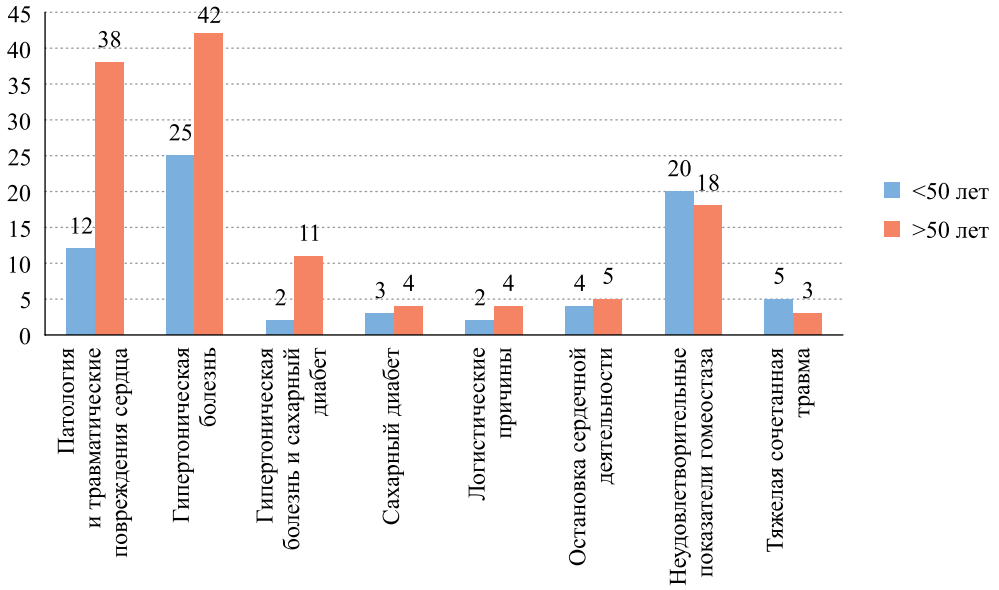

Рис. 2. Причины отказа от донорского сердца

Fig. 2. Reasons for non-selection of donor heart

Таблица 1

Сравнительный анализ показателей доноров, чьи сердца не использованы для трансплантации

Comparative analysis of donors whose hearts were not used for transplantation

Фактор	ЧМТ (n = 60)		ОНМК (n = 138)		p
	Среднее значение	Min–Max	Среднее значение	Min–Max	
Возраст, лет	46,4 (n = 60)	19–64	52,5 (n = 138)	27–67	<0,0001
pH	7,38 (n = 49)	6,97–7,60	7,39 (n = 129)	6,90–7,62	0,47
Лактат, ммоль/л	4,72 (n = 34)	0,7–22	2,74 (n = 94)	0,2–9,2	0,001
Na, ммоль/л	149,7 (n = 49)	123–178	144,8 (n = 130)	131–183	0,007
Hb, г/л	102,9 (n = 48)	56–156	136,5 (n = 128)	48–186	<0,0001
Глюкоза, ммоль/л	11,5 (n = 48)	6,0–31,0	10,3 (n = 127)	3,0–22,8	0,082
Креатинин, мкмоль/л	99,9 (n = 60)	47,0–239,0	103,0 (n = 136)	37,0–549,0	0,676
НА, нг/кг/мин	560,4 (n = 60)	0,0–2000	442,9 (n = 134)	0,0–2500	0,125

бря 2017 года. У 452 (69,5%) доноров выполнена эксплантация сердца, в 198 (30,5%) случаях сердце не использовалось для трансплантации. Распределение причин отказа от донорского сердца представлено на рис. 2, обращает на себя внимание, что в группе доноров старшей возрастной группы в качестве причин отказа от донорского сердца на первое место выходят собственная патология и травмы сердца, наличие ГБ, СД в анамнезе. У группы доноров до 50 лет преобладают отказы по причине тяжелых сочетанных травм (ТСТ), распространяющихся в том числе на органы грудной клетки. Количество отказов, связанных с неудовлетворительным гомеостазом доноров, оказалось сопоставимым в обеих возрастных группах.

Среди всех доноров, чьи сердца не использовались для трансплантации, количество доноров, умерших от ОНМК, в 2,3 раза больше, чем умерших вследствие травмы. Доноры с ОНМК значимо старше доноров с травматическим повреждением мозга ($p < 0,0001$), вместе с тем доноры с травмой имеют худшие показатели гомеостаза в сравнении с донорами с сосудистыми поражениями, что объясняется более высокой частотой симптомов травматического и геморрагического шока и тяжелых нарушений гемодинамики у доноров с травмой (табл. 1).

Многомерная регрессионная модель оценки донорского сердца

В табл. 2 представлены факторы донора, значимо влияющие на решение об отказе от донорского сердца. Факторы, не продемонстрировавшие статистически значимого влияния на принятие решения об отказе, исключены из модели – пол донора, а также показатели САД, ЧСС, гемоглобина, pH, лактата, Na, глюкозы и креатинина крови, потребности в норадреналине, зафиксированные при первичном осмотре специалистами потенциального донора сердца. Два

Таблица 2

Регрессионная модель оценки донорского сердца, зависимая переменная – отказ от донорского сердца, число доноров 650, период с 1 января 2012 года по 31 декабря 2017 года

Regression model for evaluating donor heart. Dependent variable – non-selection of donor heart; 650 donors; January 1, 2012 to December 31, 2017

Факторы		ОШ	Доверительный интервал	Баллы*	p
Возраст	<45	0,35	0,237–0,504	1	<0,0001
	45–54	1,22	0,86–1,74	1	
	55–59	1,85	1,24–2,77	2	
	≥60	2,81	0,86–1,74	3	
Причина смерти	ОНМК	1,51	1,06–2,16	2	0,024
	ЧМТ	0,66	0,46–0,95	1	
ГБ	Да	1,96	1,39–2,8	2	0,001
	Нет	0,506	0,36–0,72	1	
СД	Да	1,97	1,19–3,26	2	0,009
	Нет	0,51	0,31–0,843	1	
Остановка кровообращения**	Да	23,99	3,05–188,72	24	<0,0001
	Нет	0,042	0,005–0,33	1	
Патология и травматические повреждения сердца***	Да	14,61	6,39–33,43	15	<0,0001
	Нет	0,68	0,30–0,157	1	
ЧСС-2, уд/мин	<60	7,45	0,77–72,1	7	<0,0001
	60–90	0,51	0,36–0,74	1	
	>90	1,83	1,27–2,63	2	
САД-2, мм рт. ст.	<70	0,57	0,06–5,12	1	<0,0001
	70–110	0,63	0,44–0,91	1	
	111–150	1,42	0,97–2,10	1	
	>150	3,03	1,11–8,25	3	
Лактат-2, ммоль/л	<2	0,58	0,37–0,89	1	0,060*
	>2	1,72	1,13–2,64	2	
Норадреналин-2, нг/кг/мин	<100	1,23	0,85–1,77	1	0,061**
	100–600	0,785	0,56–1,10	1	
	601–1000	0,813	0,45–1,46	1	
	>1000	2,615	1,09–6,26	3	

Примечание. * – Максимум – 63 балла, минимум – 10 баллов. Донор низкого риска ≤17 баллов, донор высокого риска ≥18 баллов. ** – Остановка кровообращения на догоспитальном или госпитальном этапах. *** – ИБС, нарушения ритма, патология и протезирование клапанов, травматические повреждения сердца.

Note. * – Maximum 63 points, minimum 10 points. Low-risk donor ≤17 points, high risk donor ≥18 points. ** – Circulatory arrest at pre-hospital or hospital stages. *** – CHD, rhythm disturbances, pathology and valve replacement, traumatic heart injury.

фактора показали стремление к достоверности, лактат – 2 (p = 0,060) и потребность в норадреналине – 2 (0,061), и мы посчитали возможным включить их в регрессионную модель.

Степень влияния каждого из факторов, определяемая значением ОШ, преобразована в баллы. Полученные ОШ из регрессионной модели отражают вероятность донорства в зависимости от наличия/отсутствия того или иного фактора у донора в сравнении с базовыми значениями донорских факторов. Так, например, шанс отказа от использования сердца для трансплантации от донора в возрасте 56 лет был в 1,85 раза больше, чем для донора 46 лет, у которого значение ОШ принято за базовое и составляет 1 балл (табл. 2). В табл. 3 представлен пример расчета баллов для доноров сердца. Донор 46 лет, умерший от сосудистого заболевания мозга и имеющий сопутствующие заболевания по сумме баллов 19, отнесен нами к ДВР, при этом донор 56 лет без сопутствующих заболеваний, причиной смерти которого явилось травматическое повреждение головы, в соответствии с предложенной моделью расценивается как донор сердца низкого риска. Отказ от доноров, набравших 19 и 13 баллов, в проверочном пуле составил 100 и 2,8% соответственно.

Оценка функциональности предложенной модели проведена на валидационном пуле доноров. Удельный вес (%) отказов от донорского сердца значительно возрастал при суммарном достижении донорами 18 баллов и более (рис. 3). Отказы для ДНР составили 4,1%, для ДВР – 78,6%, разница статистически достоверна ($p < 0,0001$), χ^2 Пирсона равен 130,9.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате представленного научного исследования мы получили объективный инструмент для первичной оценки донорского сердца в контексте факторов риска донора. Регрессионная модель отражает эволюцию в оценке доноров сердца, наблюдаемую в Москве последние 10 лет. Вместо субъективной оценки каждого из донорских факторов и связанных с ними рисков неудовлетворительного результата трансплантации мы разработали систему оценки, основанную на фактических данных по отказам от донорского сердца. Регрессионная модель может быть использована на самых ранних этапах оценки доноров сердца как инструмент, выявляющий доноров высокого риска. Бесспорно, окончательное решение о пригодности донорского сердца для трансплантации принимают специалисты, оказывающие трансплантологическую помощь, исходя, в том числе, из результатов инвазивных высокотехнологичных инструментальных исследований при необходимости, однако на начальном этапе селекции донорского сердца для трансплантации необходим простой и доступный инструмент, позволяющий оперативно представить объективную информацию о доноре всем заинтересованным центрам трансплантации для предварительной селекции реципиента.

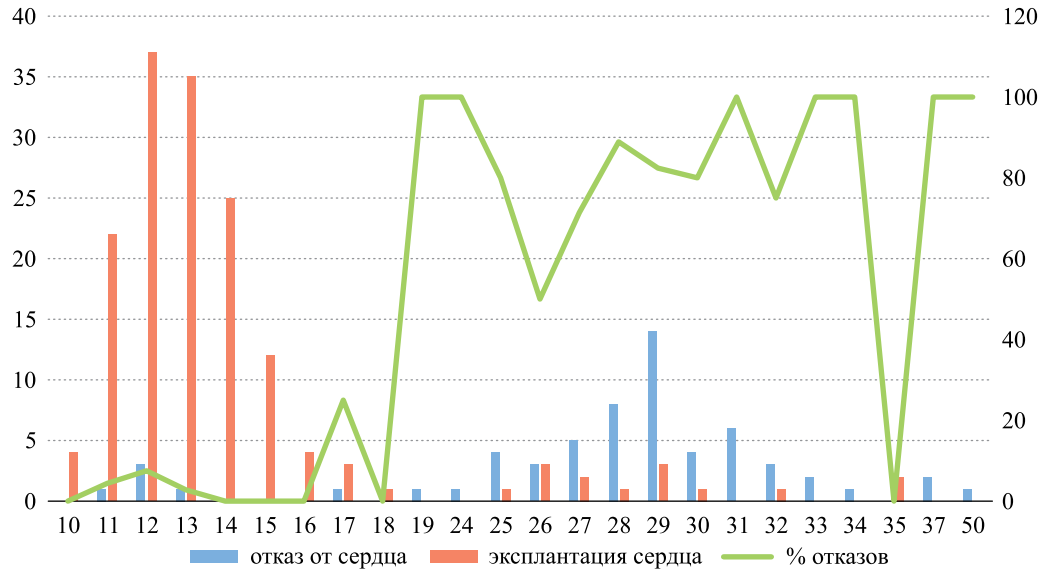

Рис. 3. Оценка доноров сердца в баллах и удельный вес отказа (%) в валидационном пуле доноров со смертью мозга

Fig. 3. Heart donor scores and proportion of rejection (%) in the validation pool of brain-dead donors

Таблица 3

Пример расчета баллов донора сердца

Example of how scores for heart donors are calculated

Фактор	Донор 1	Баллы	Донор 2	Баллы
Возраст	46	1	56	2
Причина смерти	ОНМК	2	ЧМТ	1
ГБ	Да	2	Нет	1
СД	Да	2	Нет	1
Остановка кровообращения	Нет	1	Нет	1
Патология и травматические повреждения сердца	Нет	1	Нет	1
ЧСС-2, уд/мин	56	7	96	2
САД-2, мм рт. ст.	103	1	89	1
Лактат-2, ммоль/л	0,8	1	2,1	2
Норадреналин-2, нг/кг/мин	270	1	100	1
Сумма баллов		19		13

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *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: 387–397.
2. *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.
3. *Dorent R, Gandjbakhch E, Goéminne C et al.* Assessment of potential heart donors: A statement from the French heart transplant community. *Arch Cardiovasc Dis*. 2018 Feb; 111 (2): 126–139.

Статья поступила в редакцию 9.09.2020 г.
The article was submitted to the journal on 9.09.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-4-32-42

ОСОБЕННОСТИ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ ГЕМОФИЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ ТИПА *b* ПАЦИЕНТОВ ЛИСТА ОЖИДАНИЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ЛЕГКИХ

В.Б. Полищук[1], М.П. Костинов[1, 2], А.А. Рыжов[1], О.О. Магаршак[1], Н.Е. Ястребова[1], Н.А. Карчевская[3], Е.А. Тарабрин[3], Т.Э. Каллагов[3], А.Е. Власенко[4]

[1] ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Российская Федерация

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

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

[4] Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Новокузнецк, Российская Федерация

Цель: оценка иммунологической эффективности вакцинации против гемофильной инфекции типа b *(Hib)* пациентов с тяжелой бронхолегочной патологией, включенных в лист ожидания трансплантации легких. **Материалы и методы.** Пациенты с тяжелыми бронхолегочными заболеваниями (n = 16, возраст 22–61 год) были вакцинированы однократно против *Hib.* Уровень IgG-антител к капсульному полисахариду *Hib* до вакцинации и через 1 месяц определяли методом ИФА с использованием тест-системы, разработанной в ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова. Статистическая обработка данных проводилась с применением пакетов stats (v.3.6.2), lme4 (v.1.1 – 21), lmerTest (v.3.1 – 1). **Результаты.** Введение вакцины против *Hib* у пациентов с тяжелой бронхолегочной патологией не сопровождалось развитием местных и системных реакций. Доля пациентов, имевших уровень антител к капсульному полисахариду *Hib*, превышавший порог долгосрочной защиты, составила до и после вакцинации 69 и 100% соответственно (p = 0,02). Выявлены различия в формировании поствакцинального иммунитета в зависимости от нозологических форм заболеваний пациентов. В группе больных с обструктивными заболеваниями легких средний геометрический уровень антител к капсульному полисахариду *Hib* после вакцинации вырос по сравнению с исходным: с 1,3 [0,6–2,8] до 5,5 [1,9–15,4] у. е./мл (p = 0,05), а в группе пациентов с рестриктивными заболеваниями легких не изменился и составил 2,8 [0,6–14,1] у. е./мл до вакцинации и 3,4 [1,3–8,5] у. е./мл через 1 месяц после нее. В группе пациентов, принимавших глюкокортикостероиды, не отмечено прироста уровня антител к капсульному полисахариду *Hib* (2,7 [0,8–9,3] у. е./мл до и 2,8 [1,2–6,5] у. е./мл после вакцинации). В группе пациентов, не принимавших гормоны, уровень к капсульному полисахариду *Hib* вырос с 1,2 [0,7–2,1] до 4,8 [2,2–10,1] у. е./мл (p = 0,006). **Заключение.** Вакцинация пациентов с тяжелой бронхолегочной патологией, находящихся в листе ожидания трансплантации легких, против гемофильной инфекции типа *b* является безопасной и иммунологически эффективной.

Ключевые слова: Haemophilus influenzae tuna b, IgG, вакцинопрофилактика, взрослые, бронхолегочные заболевания.

Для корреспонденции: Полищук Валентина Борисовна. Адрес: 105064, Москва, Малый Казенный переулок, д. 5а. Тел. (495) 917-41-49. E-mail: polischook@mail.ru

Corresponding author: Valentina Polishchuk. Address: 5a, Malyj Kazennyj pereulok, Moscow, 105064, Russian Federation. Phone: (495) 917-41-49. E-mail: polischook@mail.ru

FEATURES OF HAEMOPHILUS INFLUENZAE TYPE *b* VACCINE IN PATIENTS WAITLISTED FOR LUNG TRANSPLANTATION

V.B. Polishchuk[1], M.P. Kostinov[1, 2], A.A. Pyzhov[1], O.O. Magarshak[1], N.E. Yastrebova[1], N.A. Karchevskaya[3], E.A. Tarabrin[3], T.E. Kallagov[3], A.E. Vlasenko[4]

[1] Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation
[2] Sechenov University, Moscow, Russian Federation
[3] Sklifosovsky Research Institute of Emergency Care, Moscow, Russian Federation
[4] Novokuznetsk State Institute for Advanced Training of Physicians, Novokuznetsk, Russian Federation

Objective: to evaluate the immunological efficacy of haemophilus influenzae type b (*Hib*) vaccine in patients with severe bronchopulmonary condition waitlisted for lung transplantation. **Materials and methods.** 16 patients (age 22–61 years) with severe bronchopulmonary diseases were vaccinated once against *Hib* infection. IgG antibody concentrations to *Hib* capsular polysaccharide before vaccination and 1 month after was measured by ELISA using a test system developed at Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera. Statistical data processing was carried out using stats (v.3.6.2), lme4 (v.1.1 – 21), and lmerTest (v.3.1 – 1) packages. **Results.** *Hib* vaccine in patients with severe bronchopulmonary condition did not elicit any local or systemic reactions. The proportion of patients whose antibody (Ab) concentrations to *Hib* capsular polysaccharide exceeded the long-term protection threshold was 69% and 100% before and after vaccination, respectively (p = 0.02). There were differences in the formation of post-vaccination immunity depending on the nosological forms of patients' diseases. In the group of patients with obstructive pulmonary diseases, the geometric mean level of antibodies to the *Hib* capsular polysaccharide after vaccination increased as compared to the baseline value – from 1.3 [0.6–2.8] to 5.5 [1.9–15.4] AU/mL, (p = 0.05). In the group of patients with restrictive lung diseases, the level did not change – 2.8 [0.6–14.1] AU/mL before vaccination and 3.4 [1.3–8.5] AU/mL 1 month after vaccination. In the group of patients taking glucocorticosteroids, there was no increase in the level of antibodies to *Hib* capsular polysaccharide (2.7 [0.8–9.3] AU/mL before and 2.8 [1.2–6.5] AU/mL after vaccination). In the group of patients who did not take hormones, antibody concentrations to *Hib* capsular polysaccharide increased from 1.2 [0.7–2.1] AU/mL to 4.8 [2.2–10.1] AU/mL (p = 0.006). **Conclusion.** *Hib* vaccination of waitlisted patients with severe bronchopulmonary disease is safe and immunologically effective.

Keywords: Haemophilus influenzae muna b, IgG, vaccine prophylaxis, adults, bronchopulmonary diseases.

Вакцинация против гемофильной инфекции типа *b (Hib)* является показательным примером эффективности данного метода профилактики инфекционных болезней. Введение вакцинации с использованием сначала полисахаридной, а в дальнейшем конъюгированной вакцины позволило значительно снизить заболеваемость данной инфекцией, особенно у детей первых 5 лет жизни. Именно в этой возрастной категории наиболее часто отмечались тяжелые инвазивные формы заболевания, такие как менингит и пневмония, которые во многих случаях заканчивались летальным исходом или инвалидизацией [1–3]. В настоящее время ВОЗ рекомендует включение вакцинации против *Hib* в программы рутинной профилактики детей, и в 2018 г. вакцинация против данной инфекции включена в национальные календари по вакцинопрофилактике в 191 стране мира [4, 5].

Вакцинация здоровых взрослых против *Hib* не предусмотрена, так как у них в большинстве случаев имеет место бактерионосительство или заболевание протекает в виде острых респираторных инфекций, преимущественно в легких и клинически не выраженных формах. В группу риска возникновения инвазивных форм *Hib* относятся прежде всего пациенты с функциональной и анатомической асплением. Однако, по данным исследования, проведенного D.C. Cassimos et al., из 42 европейских стран только 5 включили в свои национальные календари прививок вакцинацию против данной инфекции взрослых группы риска, причем в 3 странах она является рекомендуемой и только в 2 – обязательной [6]. При этом к группам риска развития тяжелых форм *Hib* в отдельных странах относят пациентов с ВИЧ-инфекцией, со злокачественными новообразованиями, реципиентов солидных органов [7].

Целью исследования явилась оценка иммунологической эффективности вакцинации против гемофильной инфекции типа *b* пациентов с тяжелой бронхолегочной патологией, включенных в лист ожидания трансплантации легких.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под наблюдением находилось 16 пациентов с тяжелой бронхолегочной патологией в возрасте от 22 до 61 года (медиана 42 [41–47] года). Среди обследованных было 81,3% (13/16) женщин и 18,8% (3/16) мужчин. С обструктивными заболеваниями

легких (ХОБЛ, лимфангиолейомиоматоз, эмфизема) было 44% (7/16) пациентов, с рестриктивными (идеопатический легочный фиброз, фиброз в результате экзогенного аллергического альвеолита, неспецифическая интерстициальная пневмония) – 31% (5/16), 3 пациента были с сосудистыми заболеваниями легких (легочная гипертензия различного генеза) и один – с муковисцидозом. Пациенты с обструктивными заболеваниями получали терапию бронхолитиками, муколитиками, пациент с муковисцидозом получал также антибактериальную терапию. Пациенты с идиопатическим легочным фиброзом находились на терапии фибростатиками. При других видах интерстициального поражения легких (фиброз в результате экзогенного аллергического альвеолита, неспецифическая интерстициальная пневмония) пациенты получали небольшие дозы системных глюкокортикостероидов (ГКС). Пациенты с легочной гипертензией находились на ЛАГ-специфической терапии антагонистами эндотелиновых рецепторов, стимуляторах гуанилатциклазы, препаратах простациклина. На момент вакцинации 38% (6/16) пациентов принимали ГКС. Ранее пациенты не были вакцинированы против *Hib*.

Вакцинация против *Hib* проводилась при отсутствии у пациента обострения основного заболевания и признаков респираторной инфекции. Для вакцинации была использована вакцина Хиберикс (производитель GlaxoSmithKline), однократно в/м в дозе 0,5 мл. Перед вакцинацией и через 1 месяц после ее проведения производился забор крови с последующим определением уровня IgG антител (АТ) к капсульному полисахариду *Hib*.

Уровень АТ (у. е./мл) в сыворотке обследованных определяли методом ИФА с использованием тест-системы, разработанной в ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» [8]. Концентрация ≥0,15 у. е./мл условно расценивалась как уровень АТ, обеспечивающий кратковременную защиту, уровнем АТ долгосрочной защиты считали ≥1 у. е./мл.

СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Описательная статистика количественных признаков представлена средним геометрическим и 95% доверительным интервалом (95% ДИ) для АТ и медианой и интерквартильным размахом для возраста исследуемых. Качественные признаки представлены долей с указанием 95% ДИ, рассчитанного по методу Клоппера–Пирсона, и абсолютным числом исследуемых с изучаемым признаком в общей численности группы (n/N). Исходные количественные данные были предварительно прологарифмированы и проверены на соответствие нормальному распределению (применялся критерий Шапиро–Уилка). Проверка показала, что все прологарифмированные признаки соответствуют нормальному распределению. Все расчеты проводились на преобразованных данных, с проведением обратного преобразования полученных результатов.

Сравнение двух связанных выборок (до/после вакцинации) по количественному признаку проводилось критерием Стьюдента для связанных выборок, по качественному признаку – критерием Мак-Немара. Сравнение двух независимых выборок по качественному признаку проводилось точным критерием Фишера. Для анализа изменения уровня АТ в зависимости от периода и группы исследования применялась модель смешанных эффектов. Предпосылки применения проверялись тестом Ливиня (гомоскедастичности остатков) и тестом Шапиро–Уилка (нормальности распределения стандартизированных остатков). Апостериорные тесты проводились с помощью критерия Тьюки. Взаимосвязь между двумя количественными признаки рассчитывалась с помощью коэффициента корреляции Спирмена. Все расчеты проводились в свободно распространяемой статистической среде R (v.3.6, лицензия GNU GPL2), применялись пакеты stats (v.3.6.2), lme4 (v.1.1 – 21), lmerTest (v.3.1 – 1).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Введение вакцины против гемофильной инфекции типа b пациентам с тяжелой бронхолегочной патологией не сопровождалось развитием местных и системных реакций, хотя в практике вакцинации детей она может в редких случаях приводить к возникновению таких явлений.

У всех пациентов, включенных в исследование, уровень АТ к капсульному полисахариду *Hib* до вакцинации превышал 0,15 у. е./мл. Доля исследуемых с уровнем АТ, превышающим порог долгосрочной защиты, до вакцинации составила 69 [41–89] % (11/16), после вакцинации – 100 [79–100] % (16/16), различия имеют тенденцию к статистической значимости ($p = 0,06$ – точный тест Мак-Немара).

Средний геометрический уровень АТ к капсульному полисахариду *Hib* до вакцинации составил 1,7 [1,0–2,8] у. е./мл, а после вакцинации – 3,9 [2,3–6,6] у. е./мл. Таким образом, показатель вырос в 2,3 [1,2–4,6] раза, и этот прирост является статистически значимым ($p = 0,02$) (рис. 1).

Среди включенных в исследование пациентов 7 имели обструктивные заболевания легких, 5 – рестриктивные заболевания легких, 3 человека были с сосудистыми заболеваниями легких и один – с муковисцидозом. Среди пациентов с сосудистыми заболеваниями легких защитный уровень АТ к капсульному полисахариду *Hib*, необходимый для долгосрочной защиты от инфекции, до вакцинации имели 2 человека из 3, после вакцинации у всех 3 пациентов отмечается защитный уровень АТ. У пациента с муковисцидозом исходно уровень антител к капсульному

полисахариду *Hib* превышал порог, необходимый для долгосрочной защиты от инфекции. Доля исследуемых пациентов с уровнем АТ к капсульному полисахариду *Hib,* необходимым для долгосрочной защиты от инфекции, среди пациентов с обструктивными и рестриктивными заболеваниями легких до и после вакцинации приведена в табл. 1.

Результаты проведенного исследования выявили рост в обеих группах после вакцинации доли больных, имеющих АТ к капсульному полисахариду *Hib* на уровне, необходимом для долговременной защиты. Данный прирост статистически не значим, что может быть следствием небольшого объема выборки.

Для анализа изменения уровня АТ к капсульному полисахариду *Hib* в зависимости от периода и группы исследования применялась модель смешанных эффектов (linear mixed effect model). В качестве фиксированных факторов (fixed effects) выступали период исследования и группа, в качестве случайных факторов (random effects) учитывались индивидуальные изменения для каждого исследуемого. Предпосылки применения метода были соблюдены: проверка гомоскедастичности остатков проводилась тестом Ливиня (p = 0,15), нормальности распределения стандартизированных остатков – тестом Шапиро–Уилка (p = 0,59). В результате анализа выявлено, что в среднем уровень АТ к капсульному полисахариду *Hib* не отличается между больными с обструктивными и рестриктивными заболеваниями легких (p = 0,22). Период исследования (до/после вакцинации) оказывает статистически значимое влияние (p = 0,01), причем изменение уровня АТ к капсульному полисахариду *Hib* в результате вакцинации может отличаться между группами исследуемых с разными заболеваниями (p = 0,07 – тенденция к статистической значимости). Средний геометрический уровень АТ к капсульному полисахариду *Hib* в группах исследования до и после вакцинации, а также результаты апостериорных тестов, приведены в табл. 2.

Наглядно индивидуальные данные по динамике уровня АТ к капсульному полисахариду *Hib* до и после вакцинации у вакцинированных пациентов представлены на рис. 2.

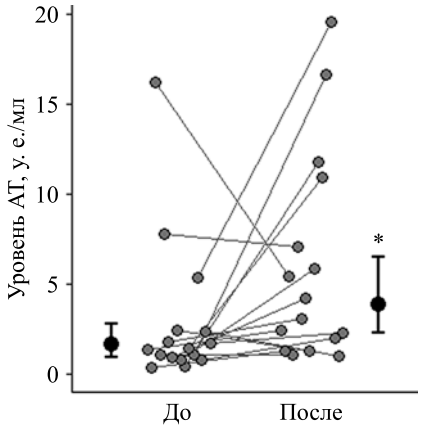

Рис. 1. Средний геометрический уровень АТ к капсульному полисахариду *Hib* до и после вакцинации; приведены индивидуальные значения, средний геометрический уровень и его 95% ДИ

Fig. 1. Geometric mean of antibody concentrations to *Hib* capsular polysaccharide before and after vaccination. Individual values, geometric mean and 95% CI are shown

В группе больных с обструктивными заболеваниями легких средний геометрический уровень АТ к капсульному полисахариду *Hib* после вакцинации вырос в 4,1 [1,1–14,7] раза по сравнению с исходным: с 1,3 [0,6–2,8] до 5,5 [1,9–15,4] у. е./мл, прирост статистически значим (p = 0,05). В группе с рестриктивными заболеваниями средний геометрический уровень АТ к капсульному полисахариду *Hib* после вакцинации статистически значимо не изменился (p = 0,99), значение показателя составило 2,8 [0,6–14,1] у. е./мл до вакцинации и 3,4 [1,3–8,5] у. е./мл через 1 месяц после ее проведения. Между группами исследуемых с разными заболеваниями легких не было выявлено статистически значимых различий как до вакцинации (p = 0,63), так и после ее проведения (p = 0,89).

Таблица 1

Доля пациентов с уровнем АТ к капсульному полисахариду *Hib*, необходимым для долгосрочной защиты от инфекции, до и после вакцинации в зависимости от группы исследования

Percentage of patients with *Hib* capsular polysaccharide antibodies required for long-term protection against infection, before and after vaccination, depending on the study group

Группы исследования	До вакцинации		Через месяц после вакцинации		Анализ динамики[1]
	Абс.	%	Абс.	%	
Обструктивные заболевания	4	57,1 [18–90]	7	100 [59–100]	p = 0,25
Рестриктивные заболевания	4	80,0 [28–99]	5	100 [48–100]	p = 1,00
Различия между группами[2]	p = 0,58		p = 1,00		–

Примечание. [1] – применялся критерий Мак-Немара; [2] – применялся точный критерий Фишера.

Note. [1] – McNemar's test was used; [2] – Fisher's exact test was used.

Таблица 2

Средний геометрический уровень АТ к капсульному полисахариду *Hib* до и после вакцинации пациентов в зависимости от группы исследования

Geometric mean of IgG antibody concentrations to *Hib* capsular polysaccharide before and after vaccination, depending on the study group

Группы исследования	Средний геометрический уровень АТ и 95% ДИ		Анализ динамики[1]
	До вакцинации	Через месяц после вакцинации	
Обструктивные заболевания	1,3 [0,6–2,8]	5,5 [1,9–15,4]	p = 0,05
Рестриктивные заболевания	2,8 [0,6–14,1]	3,4 [1,3–8,5]	p = 0,99
Различия между группами[2]	p = 0,63	p = 0,89	–

Примечание. [1, 2] – применялся апостериорный тест Тьюки.

Note. [1, 2] – Tukey's post hoc test was used.

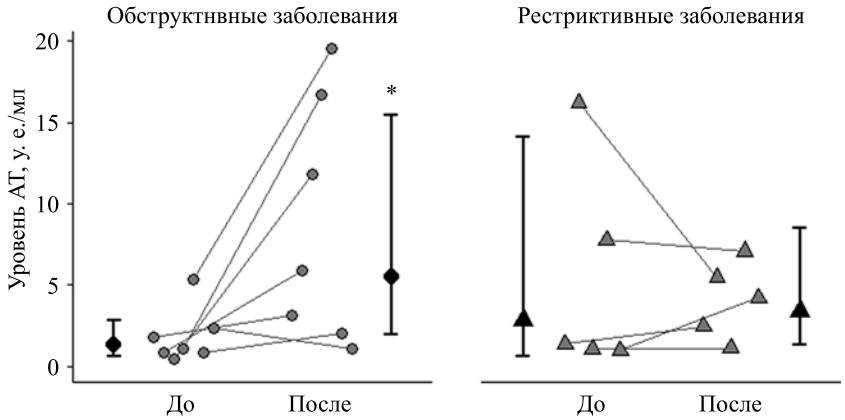

Рис. 2. Уровень АТ к капсульному полисахариду *Hib* до и после вакцинации пациентов в зависимости от заболевания; приведены индивидуальные значения, средний геометрический уровень и его 95% ДИ

Fig. 2. Antibody concentrations to *Hib* capsular polysaccharide before and after vaccination, depending on the disease. Individual values, geometric mean and 95% CI are shown

Следующим этапом исследования явилась оценка влияния приема глюкокортикостероидов на изменение уровня АТ к капсульному полисахариду *Hib* в процессе вакцинации. Применялась модель смешанных эффектов, в качестве фиксированных факторов выступали период исследования и факт наличия/отсутствия приема гормонов, в качестве случайных факторов учитывались индивидуальные изменения для каждого исследуемого. Предпосылки применения метода были соблюдены (тест Ливиня – p = 0,94, тест Шапиро–Уилка – p = 0,22). В результате выявлено, что в среднем уровень АТ к капсульному полисахариду *Hib* не зависит от приема гормонов (p = 0,12), после вакцинации уровень АТ статистически значимо изменяется (p = 0,002), но интенсивность этого изменения различается в зависимости от приема гормонов (p = 0,03). Средний геометрический уровень АТ к капсульному полисахариду *Hib* до и после вакцинации в зависимости от приема гормонов, а также результаты апостериорных тестов, приведены в табл. 3.

Наглядно индивидуальные данные изменения уровня АТ у вакцинированных пациентов на фоне гормональной терапии и без ее проведения представлены на рис. 3.

В группе пациентов, принимавших ГКС, отсутствует статистически значимый рост уровня АТ к капсульному полисахариду *Hib,* средний геометрический уровень составил 2,7 [0,8–9,3] у. е./мл до вакцинации и 2,8 [1,2–6,5] у. е./мл после (p = 1,00). В то время как в группе пациентов, не принимавших гормоны, средний геометрический уровень АТ в результате вакцинации вырос в 3,9 [1,7–9,0] раза: с 1,2 [0,7–2,1] у. е./мл до 4,8 [2,2–10,1] у. е./мл, изменение статистически значимо (p = 0,006). Между группами исследуемых статистически значимых различий не было выявлено ни до вакцинации (p = 0,39), ни после ее проведения (p = 0,73).

Стоит отметить, что прием гормонов очень сильно ассоциирован с рестриктивными заболеваниями легких: 83% (5/6) всех случаев приема гормонов приходится на пациентов этой группы.

Таблица 3

Средний геометрический уровень АТ к капсульному полисахариду *Hib* до и после вакцинации пациентов в зависимости от приема гормонов

Geometric mean of antibody concentrations to *Hib* capsular polysaccharide before and after vaccination, depending on hormone intake

Прием гормонов	Средний геометрический уровень АТ и 95%ДИ		Анализ динамики[1]
	До	После	
Нет	1,2 [0,7–2,1]	4,8 [2,2–10,1]	p = 0,006
Да	2,7 [0,8–9,3]	2,8 [1,2–6,5]	p = 1,00
Различия между группами[2]	p = 0,39	p = 0,73	–

Примечание. [1, 2] – применялся апостериорный тест Тьюки.

Note. [1, 2] – Tukey's post hoc test was used.

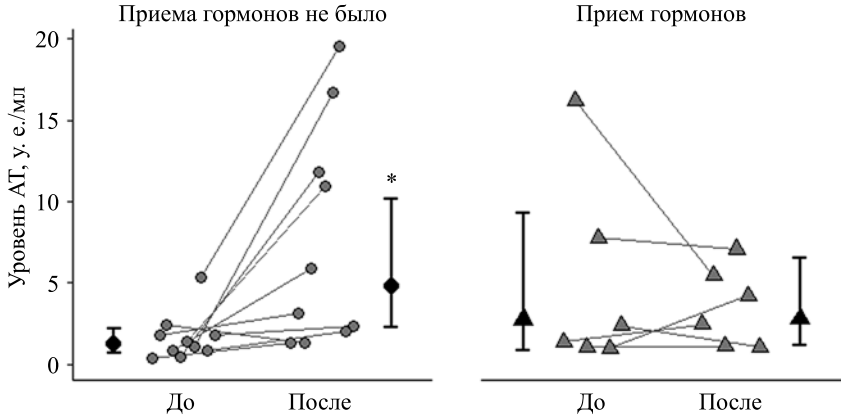

Рис. 3. Уровень АТ к капсульному полисахариду *Hib* до и после вакцинации пациентов в зависимости от приема ГКС; приведены индивидуальные значения, средний геометрический уровень и его 95% ДИ

Fig. 3. Antibody concentrations to *Hib* capsular polysaccharide before and after vaccination, depending on GCs intake. Individual values, geometric mean and 95% CI are shown

Далее мы проанализировали влияние возраста исследуемых на изменение уровня АТ к капсульному полисахариду *Hib* в процессе вакцинации. Применялась модель смешанных эффектов, в качестве фиксированных факторов выступали период исследования и возраст испытуемого, в качестве случайных факторов учитывались индивидуальные изменения для каждого исследуемого. Предпосылки применения метода были соблюдены (тест Ливиня – p = 0,83, тест Шапиро–Уилка – p = 0,51). Регрессионные кривые, характеризующие зависимость уровня АТ к капсульному полисахариду *Hib* от возраста исследуемого, оцененные с помощью модели смешанных эффектов (LMEM), приведены на рис. 4.

Выявлено статистически значимое увеличение уровня АТ к капсульному полисахариду *Hib* после вакцинации (p = 0,02), причем интенсивность прироста не зависит от возраста (p = 0,84). Также выявлена взаимосвязь уровня АТ и возраста исследуемого (p = 0,02), данная взаимосвязь проявляется только после вакцинации (коэффициент корреляции возраста и уровня АТ – r_s = 0,48, p = 0,05), до вакцинации взаимосвязь слабая и статистически не значимая (r_s = 0,26, p = 0,34). Это может быть следствием разного иммунного ответа на вакцинацию у исследуемых с разными заболеваниями легких, а также тем, что группа исследуемых с обструктивными заболеваниями несколько старше, чем с рестриктивными: 43 [41–49] года против 32 [32–43] лет (различия статистически не значимы p = 0,25).

В последующем был проведен анализ взаимосвязи возраста привитых и изменения уровня АТ к капсульному полисахариду *Hib* в результате вакцинации в рамках отдельных групп заболеваний легких. Для анализа применялось построение модели смешанных эффектов отдельно для пациентов с обструктивными и рестриктивными заболеваниями. В качестве фиксированных факторов выступал период и возраст исследуемых, случайные факторы были представлены индивидуальными изменениями каждого из членов группы. Предпосылки применения метода были соблюдены в обеих группах (p = 0,16 – критерий Ливиня, p = 0,41 – критерий Шапиро–Уилка в группе обструктивных заболеваний легких;

p = 0,45 – критерий Ливиня, p = 0,52 – критерий Шапиро–Уилка в группе рестриктивных заболеваний легких). Регрессионные кривые, характеризующие зависимость уровня АТ к капсульному полисахариду *Hib* от возраста исследуемого, оцененные с помощью модели смешанных эффектов (LMEM) отдельно для каждой группы заболеваний легких, приведены на рис. 5.

Результаты анализа показали, что ни в одной из групп не подтвердилась взаимосвязь возраста и уровня АТ к капсульному полисахариду *Hib* (p = 0,29 в группе с обструктивными заболеваниями легких, p = 0,15 в группе с рестриктивными заболеваниями легких). В группе с рестриктивными заболеваниями легких не выявлено статистически значимого изменения уровня АТ к капсульному полисахариду *Hib* в результате вакцинации (p = 0,14). При этом отсутствие изменения уровня АТ характерно для всех возрастов (нет взаимосвязи возраста и интенсивности изменения, p = 0,16). В то время как в группе исследуемых с обструктивными заболеваниями легких отмечается статистически значимый рост уровня АТ в результате вакцинации (p = 0,02), интенсивность прироста не зависит от возраста (p = 0,82).

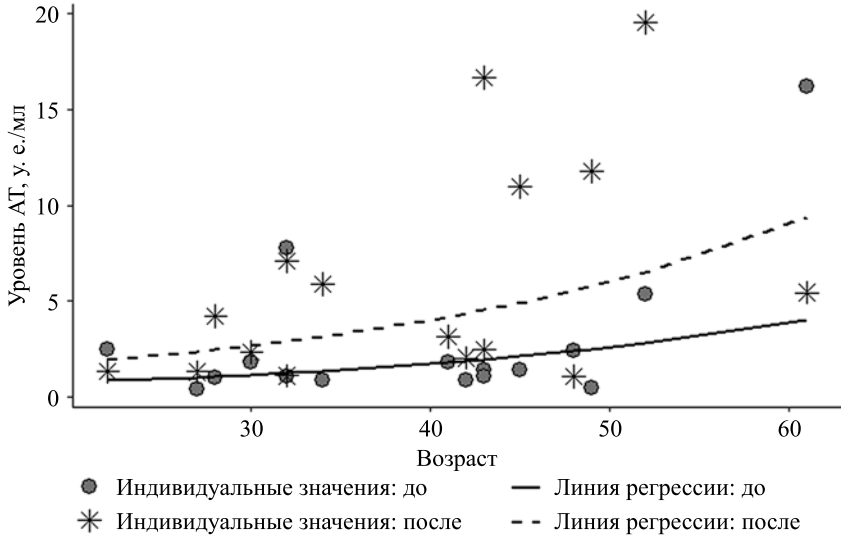

Рис. 4. Уровень АТ к капсульному полисахариду *Hib* до и после вакцинации пациентов в зависимости от возраста исследуемого; приведены индивидуальные значения и регрессионные кривые, оцененные с помощью LMEM

Fig. 4. Antibody concentrations to *Hib* capsular polysaccharide before and after vaccination, depending on the age of the subjects. Individual values and regression curves estimated using the LMEM are shown

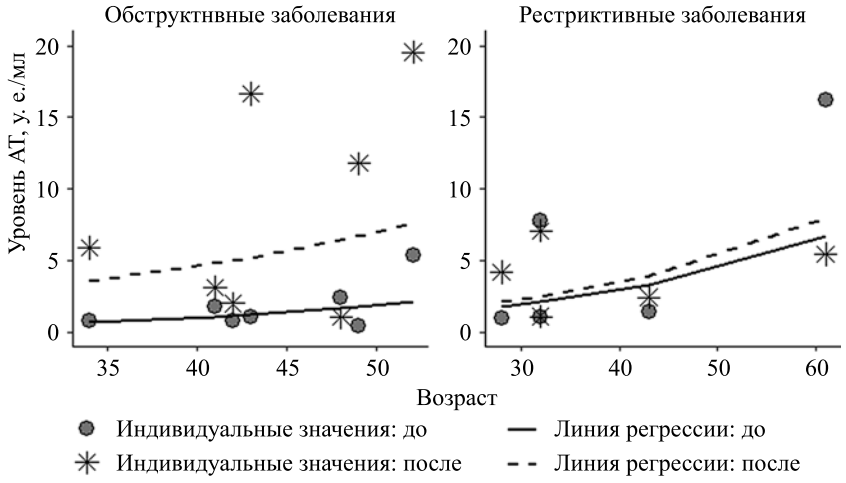

Рис. 5. Уровень АТ к капсульному полисахариду *Hib* до и после вакцинации пациентов в зависимости от возраста исследуемого и его заболевания; приведены индивидуальные значения и регрессионные кривые, оцененные с помощью LMEM

Fig. 5. Antibody concentrations to *Hib* capsular polysaccharide before and after vaccination, depending on the age of the subjects and their disease. Individual values and regression curves estimated using the LMEM are shown

ОБСУЖДЕНИЕ

Трансплантация легких является единственным методом лечения терминальных стадий заболеваний органов дыхания. В листе ожидания трансплантации легких находятся пациенты с тяжелой бронхолегочной патологией, для которых все другие методы лечения оказались неэффективными. Основные нозологии пациентов, включенных в лист ожидания трансплантации – обструктивные заболевания легких, муковисцидоз, рестриктивные заболевания и сосудистые заболевания легких. После проведения трансплантации легких больным пожизненно проводится иммуносупрессивная терапия, в большинстве случаев включающая в себя ингибиторы кальциневрина, ГКС и антиметаболиты, что резко повышает риск возникновения инфекционных осложнений [9]. Кроме того, предрасполагающими факторами к развитию инфекционных процессов у данной категории больных являются постоянное воздействие на аллографт факторов окружающей среды и нарушение естественных механизмов защиты (нарушение мукоцилиарного клиренса, денервация аллографта, угнетение кашлевого рефлекса) [10]. Как следствие, инфекционные осложнения после трансплантации легких встречаются в 2 раза чаще, чем после трансплантации сердца. Наиболее частой локализацией инфекции является само пересаженное легкое [11–12]. Все это указывает на важное место профилактики вакциноуправляемых, в первую очередь респираторных, инфекций в плане ведения пациентов листа ожидания трансплантации легких. Вакцинацию следует начинать как можно раньше, так как иммуносупрессивная терапия, проведение которой начинается после трансплантации, нарушает механизмы врожденного и приобретенного иммунитета и снижает эффективность поствакцинального иммунитета [13–16].

Вместе с пневмококковой, менингококковой инфекциями и гриппом гемофильная инфекция типа *b* является одной из инфекций, представляющих опасность для пациентов с заболеваниями легких [16–22]. В предвакцинальную эру наиболее уязвимой возрастной группой были дети первых 5 лет жизни, у которых заболевание в подавляющем числе протекало в форме менингита [23–25]. В настоящее время, после внедрения в национальные календари прививок большинства стран мира вакцинации детского населения против гемофильной инфекции типа b, инвазивные формы инфекции все чаще описываются у взрослых, при этом клинически заболевание в большинстве случаев протекает в виде пневмонии и преобладают неинкапсулированные типы возбудителя [26.]. Тем не менее доля гемофильной инфекции типа *b* при инвазивных формах заболевания составляет 1,6% всех выделенных штаммов гемофильной инфекции, при этом более 60% взрослых заболевших имеют хронические заболевания [27].

Несомненно, инвазивные формы гемофильной инфекции протекают особенно тяжело у иммунокомпрометированных пациентов, к которым относятся больные, включенные в лист ожидания трансплантации солидных органов, и в первую очередь легких. Необходимо отметить, что у пациентов с ХОБЛ около 75–80% обострений заболевания имеют инфекционную природу, при этом бактериальные возбудители выделяют из мокроты или бронхиального секрета пациентов в 40–50%, из них в 13–46% в посеве обнаруживают гемофильную палочку [28, 29]. Одновременно с этим большинство пациентов с рестриктивными заболеваниями легких в процессе терапии еще до трансплантации получают глюкокортикоиды, а также в отдельных случаях цитостатическую терапию, т. е. являются иммуносупрессированными, что значительно повышает риск развития инфекционных осложнений. Вакцинация против гемофильной инфекции типа *b* этих больных позволяет снизить риск инфекционных осложнений и увеличивает их шансы дожить до трансплантации.

Данные литературы об уровне антител к капсульному полисахариду *Hib* у здоровых лиц разнятся. В исследовании, проведенном S.N. Ladhani et al. в когорте лиц в возрасте от 25 до 85 лет, уровень АТ к капсульному полисахариду *Hib,* превышающий кратковременные и долговременные защитные пороги, был отмечен в 41–57 и 8–21% случаев соответственно [30]. Эти данные разнятся с результатами, полученными E.B. Nix et al., которые отмечали уровень АТ к капсульному полисахариду *Hib*, превышающий кратковременный защитный порог, у 97% лиц здорового контроля [31]. В проведенном нами исследовании все пациенты имели уровень АТ к капсульному полисахариду *Hib*, превышающий порог кратковременной защиты, а доля больных с уровнем АТ, превышающим порог долговременной защиты, составила 69%. Эти данные можно сравнить с результатами исследований, проведенными E.B. Nix et al., согласно которым доля пациентов, имеющих защитный уровень АТ (≥0,15 мкг/мл) среди больных с ХОБЛ составила 86%; среди пациентов с хронической почечной недостаточностью защитный уровень АТ имели 71% пациентов, с диабетом – 80%, с меланомой – 45% [31].

Через месяц после проведенной вакцинации доля пациентов с уровнем АТ долговременной защиты составила 100%, при этом выявлено статистически значимое нарастание среднего геометрического уровня АТ к капсульному полисахариду *Hib* по сравнению с исходными показателями в 2,3 раза ($p = 0,02$). При этом у 7 пациентов (44,8%) уровень АТ превышал 5 у. е./мл, что защищает также от бактерионоси-

тельства. Аналогичные данные были получены при вакцинации против гемофильной инфекции типа *b* как взрослых, так и детей с различной бронхолегочной патологией. Так, при сочетанной вакцинации больных ХОБЛ против гриппа, пневмококковой и гемофильной типа *b* инфекций через 3, 6 и 12 месяцев после вакцинации уровень поствакцинальных антител к капсульному полисахариду *Hib* оставался достоверно более высоким по сравнению с исходными значениями [32]. Аналогичные данные были получены при вакцинации детей с пороками развития легких и бронхиальной астмой [33–35].

Нами выявлено, что более выраженный прирост уровня АТ к капсульному полисахариду *Hib* был отмечен в группе пациентов с обструктивными заболеваниями легких по сравнению с группой с рестриктивными заболеваниями. Это обусловлено, вероятно, проводимой терапией, так как пациенты этой группы получали гормональную терапию. В связи с этим еще раз необходимо отметить важность ранней вакцинации, так как с прогрессированием заболевания доза гормонов увеличивается и это отрицательно влияет на формирование поствакцинального иммунитета. Возможно, что данной группе пациентов необходимо повторное введение вакцины против гемофильной инфекции типа *b*. Аналогичный подход имеет место в национальных рекомендациях Сербии по вакцинации против гемофильной инфекции типа *b* групп риска, согласно которым пациентам, вакцинируемым против *Hib* до операции, препарат вводится однократно, а в посттрансплантационном периоде (т. е. на фоне иммуносупрессивной терапии) – 2 и более раз [7].

В проведенном исследовании не было выявлено корреляции между возрастом пациентов и уровнем АТ к капсульному полисахариду *Haemophilus influenzae* типа *b*. Следовательно, на формирование АТ оказывает влияние проводимая терапия, которая находится в прямой зависимости с тяжестью течения заболевания.

Таким образом, вакцинацию против гемофильной инфекции типа *b* следует рассматривать как неотъемлемую часть профилактики инфекционных осложнений у пациентов с тяжелой бронхолегочной патологией. Введение вакцины не только безопасно, но и иммунологически эффективно у пациентов с тяжелой бронхолегочной патологией, включенных в лист ожидания трансплантации легких.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Эпидемиология и вакцинопрофилактика инфекции, вызываемой *Haemophilus influenzae* типа *b*: Методические рекомендации. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010. 32. Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika infektsii, vyzyvaemoy *Haemophilus influenzae* tipa b: Metodicheskie rekomendatsii. M.: Federal'nyy tsentr gigieny i epidemiologii Rospotrebnadzora, 2010. 32. [In Russ].
2. *Намазова ЛС, Костинов МП, Волкова ОН, Таточенко ВК, Галицкая МГ, Извольская ЗА и др.* Профилактика гриппа, ОРИ, пневмококковой, менингококковой и Hib-инфекции у часто болеющих детей (пособие для врачей). М.: Федеральное агентство по здравоохранению и социальному развитию, 2006. 43. *Namazova LS, Kostinov MP, Volkova ON, Tatochenko VK, Galitskaya MG, Izvol'skaya ZA et al.* Profilaktika grippa, ORI, pnevmokokkovoy, meningokokkovoy i Hib-infektsii y chasto boleyushchikh detey (posobie dlya vrachey). M.: Federal'noe agentstvo po zdravookhraneniyu i sotsial'nomu razvitiyu, 2006. 43. [In Russ].
3. *Костинов МП, Лавров ВФ.* Вакцины нового поколения в профилактике инфекционных заболеваний (издание 2-е, дополненное). М.: МДВ, 2010. 192. *Kostinov MP, Lavrov VF.* Vaktsiny novogo pokoleniya v profilaktike infektsionnykh zabolevaniy (izdanie 2-e, dopolnennoe). M.: MDV, 2010. 192. [In Russ].
4. *Haemophilus influenzae type b (Hib)* Vaccination Position Paper. *Weekly epidemiological record.* 2013; 88, 39: 413–428. http://www.who.int/wer.
5. WHO Immunization coverage. https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/ immunization-coverage
6. *Cassimos DC, Effraimidou E, Medic S, Konstantinidis T, Theodorido M, Maltezou HC.* Vaccination Programs for Adults in Europe, 2019. *Vaccines (Basel)*. 2020; 8 (1): 34. doi: 10.3390/vaccines8010034. doi: 10.3390/vaccines8010034.
7. Строчно-методолошко упутство за спровођење обавезне и препоручене активне имунизације становништва (2018), 103 [на сербском]. Professional methodical introduction for implementation mandatory and recommended immunization of active population [In Serbian]. http://www.batut.org.rs/download/publikacije/SMU%20imuinizacija.pdf 6.
8. *Ястребова НЕ, Ванеева НП, Маркина ОА, Орлова ОЕ, Елкина СИ, Костинов МП и др.* Способ определения антител к капсульному полисахариду *Haemophilus influenzae типа b.* Патент на изобретение RUS № 2331075. Заявка № 2006133787/15 от 22.09.2006. Опубл. 10.08.2008. *Yastrebova NE, Vaneeva NP, Markina OA, Orlova OE, Elkina SI, Kostinov MP et al.* Sposob opredeleniya antitel k kapsul'nomu polisakharidu *Haemophilus influenzae* tipa *b.* Patent na izobretenie RUS № 2331075. Zayavka № 2006133787/15 ot 22.09.2006. Opubl. 10.08.2008. [In Russ].
9. *Duchini A, Goss JA, Karpen S, Pockros PJ.* Vaccinations for Adult Solid-Organ Transplant Recipients: Current Recommendations and Protocols. *Clin Microbiol Rev*. 2003; 16 (3): 357–364. doi: 10.1128/CMR.16.3.357-364.2003.
10. *Speich R, van der Bij W.* Epidemiology and management of infections after lung transplantation. *Clin Infect Dis*. 2001; 33 Suppl 1: 58–65. doi: 10.1086/320906.

11. *Remund KF, Best M, Egan JJ.* Infections relevant to lung transplantation. *Proc Am Thorac Soc*. 2009; 6 (1): 94–100. doi: 10.1513/pats.200809-113GO.
12. *Arcasoy SM, Kotloff RM*. Lung transplantation. *N Engl J Med*. 1999; 340 (14): 1081–1091. doi: 10.1056/NEJM199904083401406.
13. *Костинов МП, Костинов АМ, Пахомов ДВ, Полищук ВБ, Костинова АМ, Шмитько АД и др.* Эффективность пневмококковой вакцины у иммунокомпетентных и иммунокомпрометированных пациентов. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2019; 5: 72–83. *Kostinov MP, Kostinov AM, Pakhomov DV, Polishchuk VB, Kostinova AM, Shmitko AD et al.* Efficacy of pneumococcal vaccine in immunocompetent and immunocompromised patients. *Journal of Microbiology Epidemiology Immunobiology.* 2019; 5: 72–83. [In Russ, English abstract]. doi: 10.36233/0372-9311-2019-5-72-83.
14. *Чучалин АГ, ред*. Респираторная медицина. Руководство в 3 томах. 2-е издание, переработанное и дополненное. Т. 2. М.: Литтерра, 2017. 544. *Chuchalin AG, ed.* Respiratornaya meditsina. Rukovodstvo v 3 tomakh. 2-e izdaniye, pererabotannoye i dopolnennoye. T. 2. M.: Litterra, 2017. 544. [In Russ].
15. *Костинов МП, Зверев ВВ, ред.* Вакцинация против гепатита В, гриппа и краснухи взрослых пациентов с хроническими заболеваниями. Практическое руководство. М.: МДВ, 2009. 196. *Kostinov MP, Zverev VV, eds.* Vaktsinatsiya protiv gepatita B, grippa i krasnukhi vzroslykh patsientov s khronicheskimi zabolevaniyami. Prakticheskoe rukovodstvo. M.: MDV, 2009. 196. [In Russ].
16. *Костинов МП, Чучалин АГ, ред.* Руководство по клинической иммунологии в респираторной медицине. (1-е изд.). М.: АТМО, 2016. 128. *Kostinov MP, Chuchalin AG, eds.* Rukovodstvo po klinicheskoj immunologii v respiratornoj medicine. 1st ed. M.: ATMO, 2016. 128. [In Russ].
17. *Брико НИ, Симонова ЕГ, Костинов МП, Жирова СН, Козлов РС, Муравьев АА.* Иммунопрофилактика пневмококковых инфекций. Учебно-методическое пособие. Н.Н.: Ремедиум Приволжье, 2013. 278. *Briko NI, Simonova EG, Kostinov MP, Zhirova SN, Kozlov RS, Murav'yev AA.* Immunoprofilaktika pnevmokokkovykh infektsiy. Uchebno-metodicheskoye posobiye. N.N.: Remedium Privolzh'ye, 2013. 278. [In Russ].
18. *Чучалин АГ, Биличенко ТИ, Осипова ГЛ, Курбатова ЕА, Егорова НБ, Костинов МП.* Вакцинопрофилактика болезней органов дыхания в рамках первичной медико-санитарной помощи населению. *Пульмонология. Приложение.* 2015; 2 (25): 1–19. *Chuchalin AG, Bilichenko TN, Osipova GL, Kurbatova EA, Egorova NB, Kostinov MP.* Vaccine prevention of respiratory diseases in the framework of primary health care to the population. Russian Pulmonology. Supplement. 2015; 2 (25): 1–19. [In Russ.].
19. *Рыжов АА, Костинов МП, Магаршак ОО.* Применение вакцин против пневмококковой и гемофильной типа b инфекций у лиц с хронической патологией. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2004; 6 (19): 24–27. *Ryzhov AA, Kostinov MP, Magarshak OO.* Primeneniye vaktsin protiv pnevmokokkovoy i gemofil'noy tipa b infektsiy u lits s khronicheskoy patologiyey. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika.* 2004; 6 (19): 24–27. [In Russ].
20. *Маркелова ЕВ, Гущина ЯС, Костинов МП, Журавлева НВ*. Клинико-иммунологический эффект вакцинации «Пневмо 23» детей с атопической бронхиальной астмой. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2005; 2: 83–85. *Markelova EV, Gushchina YaS, Kostinov MP, Zhuravleva NV.* Clinical and immunological effect produced by vaccination with «Pneumo 23» of children with atopic bronchial asthma. *Journal of Microbiology Epidemiology Immunobiology.* 2005; 2: 83–85. [In Russ, English abstract].
21. *Протасов АД, Жестков АВ, Лаврентьева НЕ, Костинов МП, Рыжов АА.* Эффект комплексной вакцинации против пневмококковой, гемофильной типа b инфекций и гриппа у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2011; 4: 80–84. *Protasov AD, Zhestkov AV, Lavrenteva NE, Kostinov MP, Ryzhkov AA.* Effect of complex vaccination against pneumococcal, haemophilus type b infections and influenza in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Journal of Microbiology Epidemiology Immunobiology.* 2011; 4: 80–84. [In Russ, English abstract].
22. *Костинов МП, ред.* Новое в клинике, диагностике и вакцинопрофилактике управляемых инфекций. М.: Медицина, 1997. 110. *Kostinov MP, ed.* Novoye v klinike, diagnostike i vaktsinoprofilaktike upravlyayemykh infektsiy. M.: Meditsina, 1997. 110.
23. *Гаращенко ТИ, Костинов МП, Ильенко ЛИ, Кытько ОВ, Гаращенко МВ, Фошина ЕП и др.* Профилактическое и терапевтическое использование гемофильной и пневмококковой вакцин у часто и длительно болеющих детей с рецидивирующими средними отитами. *Вопросы современной педиатрии*. 2006; 5 (5): 24–28. *Garashchenko TI, Kostinov MP, Ilienko LI, Kyt'ko OV, Garashchenko MV, Foshina YeP et al.* Preventive and therapeutic application of Hib and pneumococcal vaccines among children, who are prone to frequent and prolonged recurrent otitis media. *Current Pediatrics*. 2006; 5 (5): 24–28. [In Russ, English abstract].
24. *Ильенко ЛИ, Костинов МП, Гаращенко МВ, Кытько ОВ, Овечкина НВ, Кац ТП.* Иммунизация вакцинами для профилактики пневмококковой, гемофильной инфекции и гриппа у часто и длительно болеющих детей с хронической и часто рецидивирующей неспецифической инфекционной патологией бронхолегочной системы. *Вопросы современной педиатрии.* 2006; 5 (4): 27–30. *Ilienko LI, Kostinov MP, Garashchenko MV, Kyt'ko OV, Ovechkina NV, Kats TP.* Vaccine immunization for prevention of pneumococcal, haemophilus influenzae and flu among sickly children, who often suffer from persistent heterospecific infectious pathology of the bronchopulmonary system. *Current Pediatrics* 2006; 5 (4): 27–30. [In Russ, English abstract].

25. *Костинов МП, Малеев ВВ.* Hib-инфекция: вопросы вакцинопрофилактики. М.: Медицина для всех, 1998. 90. *Kostinov MP, Maleev VV.* Hib-infektsiya: voprosy vaktsinoprofilaktiki. M.: Meditsina dlya vsekh, 1998. 90. [In Russ].
26. *Livorsi DJ, MacNeil JR, Cohn AC, Bareta J, Zansky S, Petit S et al.* Invasive *Haemophilus influenzae* in the United States, 1999–2008: Epidemiology and Outcomes. *J Infect*. 2012; 65 (6): 496–504. doi: 10.1016/j.jinf.2012.08.005.
27. *Soeters HM, Blain A, Pondo T, Doman B, Farley MM, Harrison LH et al.* Current Epidemiology and Trends in Invasive Haemophilus Influenzae Disease-United States, 2009–2015. *Clin Infect Dis.* 2018; 67 (6): 881–889. doi: 10.1093/cid/ciy187.
28. Инфекционное обострение ХОБЛ: Практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике. Пособие для врачей. М., 2005. 37. Infektsionnoe obostrenie KhOBL: Prakticheskie rekomendatsii po diagnostike, lecheniyu i profilaktike. Posobie dlya vrachey. M., 2005. 37.
29. *Костинов МП, ред.* Вакцинация взрослых с бронхолегочной патологией. Руководство для врачей. М.: Созвездие, 2013. 112. *Kostinov MP, ed.* Vaktsinatsiya vzroslykh s bronkholegochnoy patologiey. Rukovodstvo dlya vrachey. M.: Sozvezdie, 2013. 112.
30. *Ladhani SN, Ramsay ME, Flood JS, Campbell H, Slack MP, Pebody R et al. Haemophilus influenzae serotype b (Hib)* seroprevalence in England and Wales in 2009. *Euro Surveill.* 2012; 17 (46): 20313. doi: 10.2807/ese.17.46.20313-en.
31. *Nix EB, Hawdon N, Gravelle S, Biman B, Brigden M, Malik S et al*. Risk of Invasive *Haemophilus influenza type b (Hib)* Disease in Adults with Secondary Immunodeficiency in the Post-Hib Vaccine Era. *Clin Vaccine Immunol*. 2012; 19 (5): 766–771. doi: 10.1128/CVI.05675-11.
32. *Kostinov MP, Protasov AD, Zhestkov AV, Pakhomov DV, Chebykina AV, Kostinova TA.* Post-vaccination Immunity to Pneumococcal, Haemophilus Influenzae type b Infection and Influenza in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD). *J Vaccines Vaccin.* 2014; 5: 2. doi: 10.4172/2157-7560.1000221.
33. *Костинов МП, ред.* Применение вакцин «ПНЕВМО 23» и «Акт-ХИБ» в комплексе лечебно-профилактических мероприятий при хронических воспалительных заболеваниях легких у детей: пособие для врачей. М.: Медицина для всех, 2004. 46. *Kostinov MP, red.* Primenenie vaktsin «PNEVMO 23» i «Akt-KhIB» v kompleksе lechebno-profilakticheskikh meropriyatiy pri khronicheskikh vospalitel'nykh zabolevaniyakh legkikh u detey: posobie dlya vrachey. M.: Meditsina dlya vsekh, 2004. 46.
34. *Костинов МП, ред.* Расширение комплекса лечебно-профилактических мероприятий при бронхиальной астме у детей с применением вакцин «ПНЕВМО 23» и «Акт-ХИБ». Пособие для врачей М.: Медицина для всех, 2004. 36. *Kostinov MP, ed.* Rasshirenie kompleksa lechebno-profilakticheskikh meropriyatiy pri bronkhial'noy astme u detey s primeneniem vaktsin «PNEVMO-23» i «Act-KhIB». Posobie dlya vrachey. M.: Meditsina dlya vsekh, 2004. 36. [In Russ].
35. *Коровкина ЕС, Краковская АВ, Костинов МП, Козлов ВК, Ястребова НЕ, Магаршак ОО и др*. Динамика уровней IgM и IgG к комплексу полисахаридов различных серотипов *S. pneumoniae* и *H. Influenzae* типа b у детей с хроническими воспалительными заболеваниями легких и бронхов, вакцинированных препаратами «Пневмо-23» и «Акт-ХИБ». *Инфекция и иммунитет*. 2019; 9 (5–6): 713–722. *Korovkina ES, Krakovskaya AV, Kostinov MP, Kozlov VK, Jastrebova NE, Magarshak OO et al.* Dynamics in IgM and IgG antibodies against a polysaccharide capsule-containing complex of various *S. pneumoniae* and *H. influenzae* type b serotypes in children with chronic lung and bronchial inflammatory diseases after vaccination with «Pneumo-23» and «Act-HIB». *Russian Journal of Infection and Immunity* (2019), 9 (5–6): 713–722. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15789/2220-7619-2019-5-6-713-722.

Статья поступила в редакцию 16.05.2020 г.
The article was submitted to the journal on 16.05.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-4-43-51

ИНДУКЦИЯ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ CD133+ СТВОЛОВЫХ ЛИМФОЦИТОВ, КОММИТИРОВАННЫХ К ТКАНИ ПЕЧЕНИ, У ПАЦИЕНТОВ ИЗ ЛИСТА ОЖИДАНИЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ

А.Н. Шутко[1], О.А. Герасимова[1, 2], Н.В. Марченко[1, 2], Ф.К. Жеребцов[1]

[1] ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

[2] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Исследования регенераторных возможностей тканей доказали восстановление поврежденной печени с помощью стволовых гемопоэтических клеток (СГК), которые способны не только замещать клетки в органе-мишени, но также могут доставлять трофические факторы, поддерживающие эндогенную регенерацию печени. Данных о том, как органопроизводные гуморальные сигналы вовлекают такие морфогенные/трофические клетки в циркуляцию, практически нет. **Цель:** исследовать роль неинвазивного вибро-механического чрескожного воздействия на печень при циррозе с помощью количественного учета в крови фракции CD133+ гемопоэтических стволовых клеток лимфоидного ряда со специфическим печеночным маркером альфа-фетопротеином (АФП) у больных, ожидающих трансплантацию печени. **Методы.** Для повышения в крови числа АФП-позитивной части CD133+ стволовых лимфоидных клеток механически активировали цирротическую печень пациента путем чрескожной микровибрации с помощью контактирующих с кожей электромагнитных виброфонов, генерирующих механические импульсы амплитудой 10 мкм и плавно меняющейся частотой от 0,03 Гц до 18 кГц и обратно в течение одного цикла продолжительностью 1 минута. Количество АФП-положительной фракции лимфоцитов в общем содержании CD133+ СГК в лимфоцитах потенциальных реципиентов контролировали методом проточной цитометрии до и во время ежедневного 15-минутного сонирования кожной зоны, соответствующей проекции печени, в течение трех недель, восемью синфазированными виброфонами. **Результаты.** Звуковое воздействие на зону проекции печени достоверно увеличило количество печеночно-специфических АФП-позитивных CD133+ лимфоцитов крови в 2–3 раза по сравнению с базовыми значениями. Повторное аналогичное сонирование той же зоны после трехнедельного перерыва показало статистически не значимое превышение исходного уровня. При аналогичном воздействии на проекцию позвоночника в контрольной группе больных циррозом печени из листа ожидания феномен увеличения альфа-фетопротеин-позитивных CD133+ лимфоцитов не возникал. **Вывод.** Механический стресс побуждает орган секретировать специфические гуморальные сигналы, провоцирующие костный мозг производить дополнительные коммитированные к печени стволовые лимфоидные клетки и рекрутировать их в циркуляцию.

Ключевые слова: стволовые гемопоэтические клетки, цирроз печени, регенерация, лист ожидания, механическая микровибрация.

Для корреспонденции: Герасимова Ольга Анатольевна. Адрес: 197758, Санкт-Петербург, п. Песочный, ул. Ленинградская, 70. Тел. (812) 439-66-40. E-mail: ren321@mail.ru

Corresponding author: Olga Gerasimova. Address: 70, Leningradskaya str., Pesochnyy town, St. Petersburg, 197758, Russian Federation. Phone: (812) 439-66-40. E-mail: ren321@mail.ru

INDUCTION OF CIRCULATING CD133+ STEM CELLS COMMITTED TO CIRRHOTIC LIVERS IN WAITLISTED PATIENTS

A.N. Shoutko[1], O.A. Gerasimova[1, 2], N.V. Marchenko[1, 2], F.K. Zherebtsov[1]

[1] Granov Russian Scientific Center of Radiology and Surgical Technology, St. Petersburg, Russian Federation

[2] St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

Studies on the regenerative capabilities of tissues have shown that damaged liver can recover using hematopoietic stem cells (HSCs), which are able not only to replace cells in the target organ, but can also deliver trophic factors that support endogenous liver regeneration. There is practically no data on how organ-derived humoral signals involve such morphogenic/trophic cells in circulation. **Objective**: to investigate the role of non-invasive vibromechanical percutaneous action on the liver in cirrhosis by quantification of CD133+ lymphoid HSCs with specific hepatic marker alpha-fetoprotein (AFP) in patients awaiting liver transplantation. **Materials and methods.** In order to increase the number of AFP+ part of CD133+ stem lymphoid cells in the blood, the patient's cirrhotic liver was mechanically activated by transcutaneous microvibration using electromagnetic vibrophones in contact with the skin. This generated mechanical impulses with a 10 μm amplitude and a smoothly varying frequency from 0.03 kHz to 18 kHz and back to within one cycle lasting 1 minute. The amount of AFP+ lymphocyte fraction in the total content of CD133+ HSCs in lymphocytes of potential recipients was monitored by flow cytometry before and during daily 15-minute sonication of the skin zone corresponding to the liver projection for three weeks with eight synphased vibraphones. **Results.** Sonication of the liver projection zone significantly increased the number of liver-specific CD133+ AFP+ lymphocytes by 2–3 times compared to the baseline values. Repeated similar sonication of the same site after a three-week break showed a statistically insignificant increase from the initial level. With a similar effect on the spinal projection in the control group of waitlisted patients with cirrhosis, there was no increase in CD133+ AFP+ lymphocytes. **Conclusion.** Mechanical stress prompts the organ to secrete specific humoral signals that provoke the bone marrow to produce additional lymphoid stem cells committed to the liver and recruit them into circulation.

Keywords: hematopoietic stem cells, cirrhosis, regeneration, waiting list, mechanical microvibration.

ВВЕДЕНИЕ

Кроветворение и нормальные ткани

Большинство примитивных мононуклеарных клеток в костном мозге и крови взрослых представлены маркерами CD133+CD34−, CD133+CD34+, CD133–CD34+, при этом маркер CD133 является более ранним по отношению к CD34. Интенсивно пролиферирующие CD133+-клетки способны дифференцироваться в клетки с характеристиками мезо-, эндо- и нейродермального слоев, а именно эндотелиальные клетки-предшественники, нервные клетки-предшественники, астроциты, олигодендроциты, клетки проксимальных канальцев почек, клетки протоков молочной железы, клетки предстательной железы, кожи, легких, кишечника, гепатоцитарные клетки и скелетные мышечные клетки, экспрессируя основные тканевые белки [1, 2]. Примитивные клетки костного мозга мигрируют через кровь в различные ткани и органы, особенно после их повреждения [3]. Имеются многочисленные доказательства усиления регенерации тканей в результате стимуляции примитивных клеток костного мозга или их введения в организм [4–6]. Таким образом, идея о костном мозге как источнике циркулирующих коммитированных к тканям морфогенных стволовых клеток находит свое подтверждение. Эндотелий сосудов обновляется с помощью циркулирующих CD133+-клеток-предшественников из костного мозга [7]. Даже если примитивные клетки костного мозга не трансдифференцируются, как предлагают некоторые исследователи, то они агрегируют с другими клетками хозяина (феномен «fusing») или выделяют регенераторные цитокины и питательные вещества [8], поддерживая, таким образом, регенерацию целевой ткани. Наиболее ранние лимфоциты, а также мононуклеарные стволовые и клетки-предшественники проникают через стенки капилляров в интерстиций нелимфоидных тканей, в т. ч. в печень, для того чтобы поддерживать динамическое пролиферативное равновесие, то есть гомеостаз в нормальных условиях [9]. Такие клетки жертвуют собой в поддержку функции окружающих клеток с другим фенотипом. Например, ТДТ+ пролимфоциты, γδ-Т-клетки (CD4−CD8–) [10] и CD3+CD31+CXCR4+ ангиогенные Т-лимфоциты [11] участвуют непосредственно в обновлении клеточного состава тканей путем производства факторов роста, питательных веществ и поддержания процессов ангиогенеза. Все эти клетки, согласно прогнозу Фидлера [12], являются не иммуноцитами, а скорее трофоцитами, питающимися лимфоцитами-фидерами.

Стволовые клетки и печень

Известно, что хроническое повреждение печени приводит к нефункциональной регенерации, которая контролируется взаимодействием между клетками тканей печени (гепатоциты, печеночные звездчатые клетки, воспалительные клетки, клетки билиарного эпителия, синусоидальные эндотелиальные клетки), в исходе формируется фиброз-цирроз [13]. Наряду с собственно печеночными клетками рекрутированные из циркуляции СГК из костного мозга также могут способствовать регенерации печени путем слияния с поврежденными гепатоцитами, или путем дифференцировки в гепатоцит-подобные клетки, или посредством их морфогенных и проангиогенных ростовых факторов [14–16]. Колониестимулирующие факторы лимфоцитов, модулирующие кроветворение, используют для мобилизации ГСК в кровоток с целью реверсии индуцированных хронических повреждений печени, однако подход имеет стандартные ограничения по количеству циклов и гематологической токсичности агентов [17]. Внутрипортальные инфузии аутологичных СГК, выделенных из предварительно аспирированного объема костного мозга, представляют собой еще один инвазивный подход к искусственному обогащению микроокружения цирротической печени клеточными элементами аутологичных СГК [18].

Трансплантат печени у больных циррозом может быть сам по себе естественным долгосрочным стимулом для рекрутирования в периферическую кровь дополнительных ГСК [19], подтверждая существование гуморального информационного пути (оси) между этими двумя тканями. Интересно, что СГК, продуцируемые во время эмбрионального развития печени, имеют способность к трафику между различными тканями, так же, как СГК у взрослых, и они в обоих случаях обеспечиваются гуморальными сигналами, регулируемыми достаточно жестко, чтобы достигать своих конечных пунктов назначения [20, 21].

В период ожидания трансплантации печени представляется крайне интересным найти возможность индуцировать прорегенераторные паракринные сигналы, исходящие от паренхимы органа в оси «печень – костный мозг».

Имея положительный опыт дистанционного неинвазивного рекрутирования СГК в кровь путем умеренной чрескожной механической микровибрации губчатых костей, содержащих активный («красный») костный мозг [22–24], мы предположили, что аналогичное механическое воздействие (стресс) на измененную ткань печени, возможно, откроет дополнительные возможности позитивного взаимодействия между АФП+ морфогенными ГСК и печеночными клетками.

Целью исследования явилось изучение воздействия чрескожной механической микровибрации на мобилизацию из костного мозга коммитированных к печени СГК посредством гуморальных сигналов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включили 9 пациентов в возрасте от 53 лет до 61 года с циррозом печени, ожидающих трансплантацию печени; 6 из 9 пациентов получили курсы механической вибрации через контактирующие с кожей виброфоны на проекционную зону печени; 3 пациента получили вибрацию в проекции позвоночника аналогичным способом. Сертифицированный серийный аппарат «Витафон-5» (ГОСТ 50444-92 а TU 9444-009-23138557-2009 РФ) был использован в качестве источника электромеханических колебаний для виброакустического воздействия. Кроме того, для сравнения использовали данные, полученные от 6 здоровых добровольцев, возраст которых не отличался от испытуемых. Стандартные виброфоны синхронно и синфазно производили механические колебания в циклическом режиме. В течение одного цикла (60 секунд) частота колебаний изменялась от 0,03 Гц до 18 кГц и в обратной последовательности при постоянной амплитуде колебаний около 10 мкм. Блок виброфонов (с диаметром 45 мм каждый) состоял из двух рядов (по четыре в ряду) с расстояниями между центрами рядов 75 мм и центрами виброфонов в пределах каждого ряда 55 мм. Таким образом, блок формировал активное прямоугольное поле механических микровибраций 12 × 22 см, удерживаемое плоской тканевой рамкой с восемью крепежными гнездами и мягкие крепления для плотной фиксации на теле человека.

До воздействия у всех пациентов осуществляли забор крови для проведения клинического и биохимического анализа. Вибрационное воздействие выполнялось один раз в день в течение 15 минут, в кресле (положение полулежа). Использовали две схемы воздействия: первая (I) включала 15 минут воздействия ежедневно, в течение трех недель, вторая (II) – по 15 минут ежедневно в течение трех недель, затем перерыв три недели и повторное воздействие.

Контрольная схема (III) состояла из механических микровибраций одновременно на 8 пар равноудаленных точек вдоль позвоночника с расстоянием между виброфонами в каждой паре по 0,5 см, в течение 3 недель (2-я, 3-я, и 4-я) по 15 минут ежедневно.

Один раз в неделю определяли доли циркулирующих лимфоцитов в синтетической фазе S+, CD133+, CD31+-клеток в лимфоидной фракции, доли двойных положительных клеток АФП+CD133+, АФП+CD31+, и производные соотношения (АФП+CD133+) / CD133+, (АФП+CD31+) / CD31+ и АФП+CD133+ / АФП+CD31+. Для этого из периферической крови выделяли фракцию мононуклеарных клеток (МНК)

путем классического разделения на градиенте плотности фиколла, опуская заключительный этап обогащения [25]. Жизнеспособность МНК оценивали с помощью теста исключения трипанового синего. Клетки из двух равных частей фракции МНК окрашивали для анализа на проточном цитометре LSR Fortessa (Becton-Dickinson). Окрашиваие Hoechst 33342 использовали для анализа клеточного цикла, как описано ранее [26], с небольшими изменениями.

Фенотипы циркулирующих клеток в лимфоцитарной части МНК оценивали с использованием моноклональных антител к маркерам CD133/2, CD31, АФП (α-фетопротеин), конъюгированным с аллофико-цианином (APC), флуоресцеин изотиоцианатом (FITC) и фикоэритрином (PE) соответственно.

Параметры оценивали статистически с расчетом среднего значения (M) и стандартной ошибки (SE). Значения M сравнивались с использованием t-критерия и вероятности p. Кинетические тенденции параметров до и после озвучивания характеризовали математическими функциями, генерируемыми автоматически с использованием нелинейных приближений в программе Excel. Коэффициент R2 использовался в качестве статистической меры добротности подгонки линии регрессии к данным. Удовлетворительные значения R2 были подтверждены с помощью уравнения для t-параметра: $t = R2 \times (n - 2)(1 - R2)$ [27].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Относительное уменьшение S+, CD31+-клеток и незначительное увеличение CD133+-клеток характерны для пациентов, ожидающих трансплантации печени, по сравнению со здоровыми добровольцами (табл., рис. 1).

В результате акустического воздействия на область печени по двум схемам к 4–5-й неделе нормализовалось содержание S+, CD31+ и CD133+ до

Таблица

Базовые показатели циркулирующих лимфоцитов у здоровых добровольцев

Baseline indicators of circulating lymphocytes in healthy volunteers

Параметры	CD133+	CD133+ АФП+	CD31+	CD31+ АФП+	s	CD133+/ CD31+	CD133+АФП+/ CD31+АФП+	CD133+АФП+/ CD133+	CD31+АФП+/ CD31+
M	0,037	0,0052	40,1	0,39	0,95	0,101*	1,64*	12,36*	0,97*
SD	0,012	0,0044	9,2	0,36	0,98	0,037	1,25	8,22	0,74
SE	0,004	0,0015	3,1	0,12	0,28	0,013	0,44	2,90	0,24
KV	0,32	0,84	0,23	0,92	1,03	0,37	0,76	0,66	0,76

Примечание. * – Получены путем усреднения личных коэффициентов.

Note. * – Obtained by averaging personal odds.

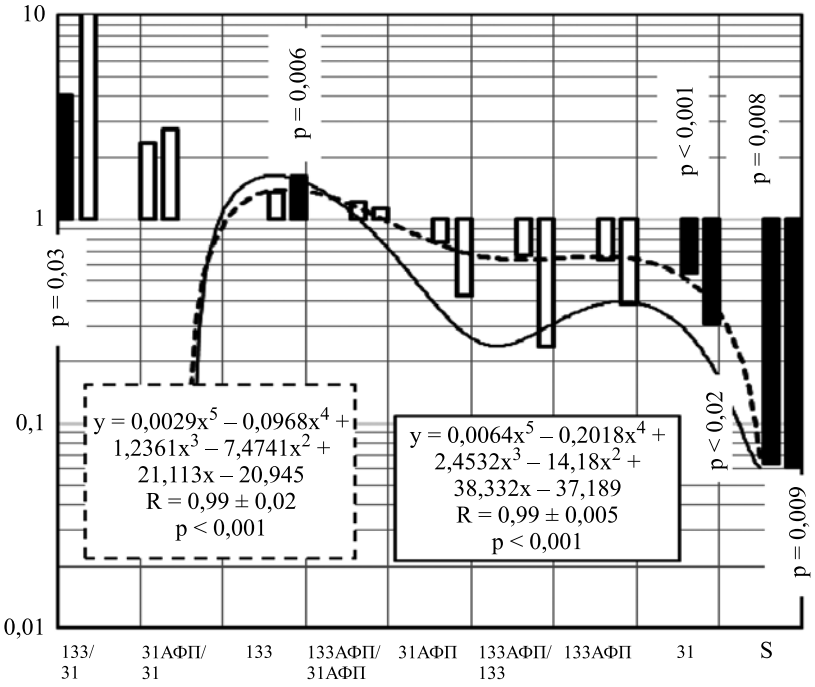

Рис. 1. Относительные изменения усредненных параметров (M) при циррозе печени к таковым для здоровых добровольцев, принятых за 1,0. Правые столбцы соответствуют данным, полученным в первую неделю до воздействия по схеме I (сплошная аппроксимирующая линия). Левые столбцы соответствуют данным, полученным до воздействия по схеме II и схеме III (пунктирная линия). Статистически достоверные отклонения показаны черным

Fig. 1. Changes in the mean parameters (M) in cirrhosis relative to those for healthy volunteers, taken as 1.0. The right-hand columns correspond to the data obtained in the first week before sonication according to Scheme I (solid approximation line). The left-hand columns correspond to the data obtained before sonication according to Scheme II and Scheme III (dashed line). Statistically significant deviations are shown in black

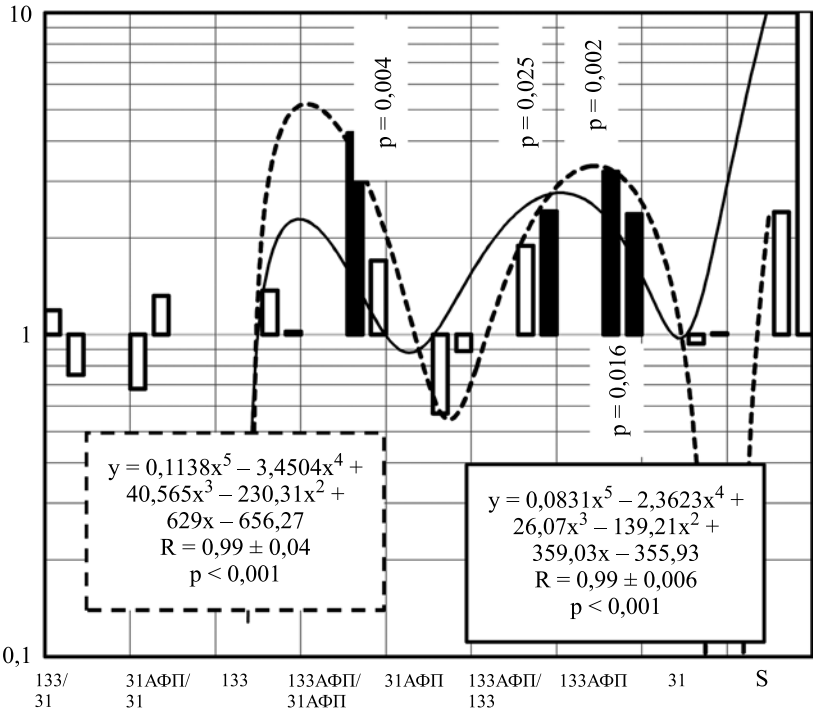

Рис. 2. Относительные изменения усредненных параметров (М) к 4–5 неделям воздействия на область печени в сравнении с данными для больных на рис. 1, принятыми за 1,0. Правые и левые столбцы показывают относительные данные, полученные к 4–6 неделям после начала воздействия по схеме I (сплошная линия, правые столбцы) и схеме II (пунктирная линия, левые столбцы). Статистически достоверные отклонения показаны черным

Fig. 2. Changes in the mean parameters (M) by 4–5 weeks of sonication compared to the liver area relative to the data for patients in Fig. 1, taken as 1.0. The right and left columns show the relative data obtained by 4–6 weeks after the start of sonication according to Scheme I (solid line, right columns) and Scheme II (dashed line, left columns). Statistically significant deviations are shown in black

лечения (рис. 2). Кроме того, увеличилось количество клеток с двойной позитивностью CD133+АФП+, коммитированных к ткани печени. Такое воздействие можно считать специфичным для воздействия на область печени, поскольку при использовании третьей схемы звукового воздействия в проекции позвоночника увеличивалась только популяция CD133+ (рис. 3). Вибрационный стресс позвоночника значительно увеличивал количество некоммитированных CD133+-клеток в циркуляции, превысив не только их количество до воздействия, но и уровень этих клеток после первого курса воздействия на печень (рис. 3).

Реальные концентрации, соответствующие рис. 2, равны 0,07 ± 0,022 ± 0,0125 (схема I) и 0,079 ± 0,037 ± 0,0099 (схема II). Эти средние значения возросли при воздействии на позвоночник по схеме III в 1,95 раза (p = 0,006) и 1,75 раза (p = 0,008) соответственно.

Каких-либо специфичных изменений на 10–12-й неделе при воздействии по сравнению данными до него не обнаружено (рис. 4). Полученное к 4–5-й неделям по схеме I увеличение количества

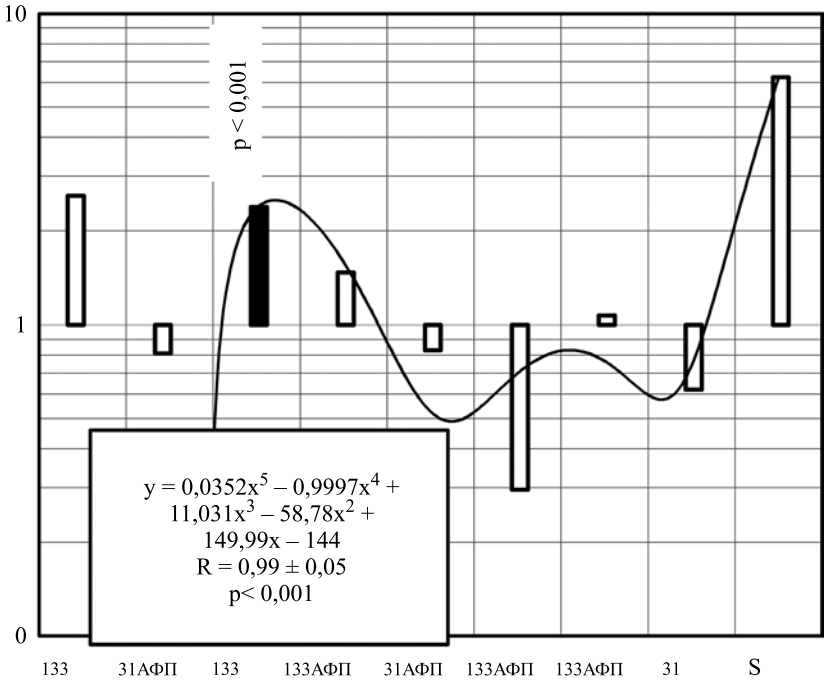

Рис. 3. Относительные изменения усредненных параметров клеток после воздействия на область позвоночника (схема III) к таковым у здоровых (рис. 1), принятым за 1,0. В колонках приведены относительные данные, полученные на 4–6-й неделе

Fig. 3. Changes in the mean cell parameters after sonication of the spine (Scheme III) relative to those in healthy people (Fig. 1), taken as 1.0. The columns show the relative data obtained at 4–6 weeks

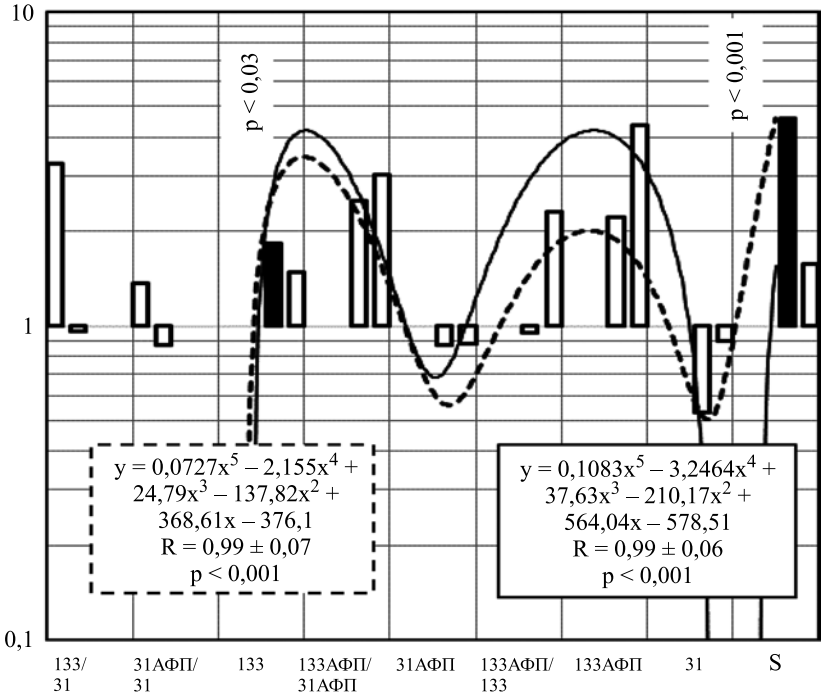

Рис. 4. Относительные изменения усредненных клеточных параметров (M) в течение 10–12 недель по сравнению с исходными (столбцы справа со сплошной линией аппроксимации). Графики показывают относительные данные, полученные на 10–12-й неделе после начала воздействия по схеме I (сплошная линия, правые столбцы) и схеме II (пунктирная линия, левые столбцы)

Fig. 4. Changes in mean cell parameters (M) over 10–12 weeks compared to baseline (right-hand columns with solid approximation line). The columns show the relative data obtained at 10–12 weeks after the start of sonication according to Scheme I (solid line, right columns) and Scheme II (dashed line, left columns)

CD133+АФП+-клеток и отношения CD133+АФП+ / CD133 (рис. 2) утрачивало статистическую достоверность к 10–12-й неделе (рис. 4). После повторного воздействия на зону печени по схеме II специфическое увеличение CD133+АФП+-клеток исчезало на 10–12-й неделе, но клетки замещались неспецифическими CD133+-клетками, повышенный уровень которых сохранялся (рис. 1, пунктирная линия, левый столбец для CD133+).

Таким образом, явление непрямой чрескожной механической мобилизации коммитированных к тканям печени CD133+АФП+ стволовых клеток в лимфоцитарном пуле возникает в течение 4–6 недель воздействия и ослабляется к 10–12 неделям, независимо от продолжения воздействия (схема II) или его прекращения (схема I).

ОБСУЖДЕНИЕ

Очевидно, что физические факторы играют важную роль в биологических процессах. Применение растягивающего ткани напряжения, напряжения сдвига, электромагнитных полей и ультразвука вызывает варианты усиления остеогенеза и хондрогенеза, вовлекая в процесс стволовые клетки человека. Поэтому прямое физическое вмешательство представляется потенциально привлекательным подходом и может использоваться для поддержания регенерации тканей.

Метод акустического неинвазивного воздействия на печень при компенсированном циррозе печени представляется перспективным. Ранее некоторые исследователи сообщали, что печень проявляет механический резонанс в пределах зарегистрированной частоты 30–400 Гц, в зависимости от нечетных гармоник 1–3 порядков [28]. Сама ткань печени имеет собственную частоту около 55–60 МГц [29]. Для неинвазивного воздействия на эту комплексную систему с малоизвестными физическими свойствами механические колебания казались обещающими, так как они принципиально могут производить стохастический резонанс (SR) в нелинейных биологических системах, усиливая подпороговые стимулы в метаболических путях [30, 31]. Мы ожидали, что гуморальные сигналы пока неизвестной природы от искусственного напряжения тканей печени достигнут лимфопоэтических ниш костного мозга и интенсифицируют естественную продукцию коммитированных к печени морфогенных CD133+АФП+-лимфоцитов или усилят их рекрутирование в циркуляцию на фоне их первоначального угнетения при циррозе. В случае правильности предположения мы бы смогли получить новый подход для неинвазивной и долгосрочной поддержки функции печени пациентов, ожидающих пересадку. Для повышения вероятности резонансных процессов в тканях печени мы выбрали источник механических колебаний в широком диапазоне частот [24].

Использование циркулирующих лимфоцитов в качестве объектов в данном исследовании обусловлено несколькими причинами. Во-первых, лимфоидные клетки обладают наиболее развитыми и гибкими механизмами навигации к различным тканям, или тропностью, а также содержат фракции морфогенных/трофических клеток, таких как стволовые CD133+, CD34+, лимфоидные стволовые TdT+-клетки, ангиогенные CD31 T+-клетки и другие

трофические лимфоциты промежуточной степени дифференцировки, которые обычно называют регуляторными. Во-вторых, лимфоцитопоэз является наиболее повреждаемым процессом, и лимфоидная ткань отличается самой высокой амортизацией, то есть потерей фактической и функциональной массы за время жизни организма [32]. В-третьих, при различных заболеваниях органов, в том числе печени, наихудшие прогнозы связаны с высоким отношением числа нейтрофилов к числу лимфоцитов крови (т. н. нейтрофильно-лимфоцитарный индекс), что акцентирует роль ослабления именно лимфопоэза в утрате жизнеспособности организма в целом [33].

В результате исследования образцов крови у больных с циррозом печени был зарегистрирован дефицит наивных CD31+-лимфоцитов с ангиогенными свойствами [11, 34], а также дефицит лимфоцитов, находящихся в S-фазе синтеза ДНК. Первый курс воздействия на печень или позвоночник нормализовал оба дефицита. Таким образом, это явилось аргументом против специфичности двух указанных эффектов.

Напротив, при первом воздействии на печень увеличивается количество коммитированных CD133+АФП+-клеток, что кажется вполне специфичным для тканей печени. Мы интерпретируем возрастающее число клеток CD133+АФП+ как отдаленный результат специфической паракринной стимуляции, возникающей дистанционно в результате механических резонансных напряженной паренхимы печени. Гуморальный стимул, направленный к репродуктивной системе костного мозга, специфически активирует ее, рекрутируя трофические/морфогенные стволовые клетки костного мозга лимфоидного ряда для целевого поддержания функции поврежденной печени [35]. Сигналами могут быть либо легко растворимые молекулярные вещества в плазме, либо циркулирующие внеклеточные везикулы размером десятых микрон, обнаруженные недавно [36]. В любом случае механическая вибрация, вероятно, имитирует повреждение печени, воспринимаемое исполнительным звеном физиологической оси «лимфопоэз – печень» как реальное.

Несколько типов клеток печени могут быть мишенью для такого взаимодействия с CD133+АФП+-лимфоцитами. Среди паренхиматозных клеток органа имеется популяция CD133+ овальных клеток с функцией примитивных, «*бипотентных*» стволовых клеток печени [37, 38], но они не несут маркер АФП [39]. Именно поэтому самый молодой тип печеночной стволовой клетки (HepSCs) едва ли является мишенью для АФП+CD133+-лимфоцитов. Незрелые «*унипотентные*» гепатобласты, которые возникают во время регенеративных процессов в печени, имеют антигенный профиль с сильно положительной экспрессией как CD133, так и печеночно-специфичного АФП-маркера [40,41]. Таким образом, они с большей вероятностью могут рассматриваться как мишени для CD133+АФП+-мигрантов [5].

Как бипотентные клетки (HepSCs), так и незрелые унипотентные гепатобласты лишены, по крайней мере, одного из двух маркерв – АФП или CD31 [40]. Мы не регистрировали никаких статистических доказательств реакции АФП+CD31+-лимфоцитов на воздействие вибраций. Это соответствие может быть дополнительным аргументом в пользу того, что гепатоциты являются наиболее вероятным индуктором гуморальных стимулов, равно как и мишенью для коммитированных клеток лимфоидного ряда. Примечательно, что второй курс воздействия на область печени (схема II) не изменял затухания эффекта от первого курса в CD133+АФП+ субпопуляции. Причины этого полностью не ясны, но общее торможение лимфоцитопоэза у пациентов с циррозом печени и связанная с ним нестабильность/турбулентность гемопоэза [5, 20] могут быть одной из возможных причин. С другой стороны, исходно истощенная/амортизированная природная способность цирротической паренхимы продуцировать паракринные сигналы также может быть причиной изменения чувствительности к механическому напряжению по сравнению с интактным органом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволяет подтвердить возможность косвенного и неинвазивного увеличения числа трофических лимфоидных стволовых клеток, коммитированных к печеночной ткани у пациентов с циррозом печени. Предложенная нами новая методика специфична и не имеет ограничений в повторном применении. Полученные результаты рассматриваются нами только как терапевтическая дорожная карта для неинвазивной поддержки регенерации печени при циррозе у больных из листа ожидания трансплантации печени. Для оценки клинических эффектов необходимы дальнейшие исследования.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Drapeau C*. Cracking the Stem Cell Code: Demystifying the most dramatic scientific breakthrough of our times. Sutton Hart Press, Hillsboro; 2010.
2. *Kucia M, Ratajczak J, Ratajczak MZ*. Bone marrow as a source of circulating CXCR4+ tissue-committed stem cells. *Biol Cell*. 2005; 97 (2): 133–146. doi: 10.1042/BC20040069.
3. *Stroo I, Stokman G, Teske GJ, Florquin S, Leemans JC*. Haematopoietic stem cell migration to the ischemic da-

maged kidney is not altered by manipulating the SDF-1/CXCR4-axis. *Nephrol Dial Transplant*. 2009; 24: 2082–2088. doi: 10.1093/ndt/gfp050.
4. *Kolvenbach R, Kreissig C, Cagiannos C, Afifi R, Schmaltz E.* Intraoperative adjunctive stem cell treatment in patients with critical limb ischemia using a novel point-of-care device. *Ann Vasc Surg*. 2010; 24: 367–372. doi: 10.1016/j.avsg.2009.07.018.
5. *Shoutko AN, Gerasimova OA, Ekimova LP, Zherebtsov FK, Mus VF, Granov DA.* Long-term activation of circulating liver-committed mononuclear cells after OLT. *Jacobs Journal of Regenerative Medicine*. 2016; 1 (3): 1–9. https://jacobspublishers.com/.
6. *Halin C, Mora J, Sumen C, von Andrian UH. In vivo* imaging of lymphocyte trafficking. *Ann Rev Cell Dev Biol*. 2005; 21: 581–603. doi: 10.1146/annurev.cellbio.21.122303.133159.
7. *Wassmann S, Werner N, Czech T, Nickenig G.* Improvement of endothelial function by systemic transfusion of vascular progenitor cells. *Circ Res*. 2006; 99: 74–83. doi: 10.1161/01.RES.0000246095.90247.d4.
8. *Burchfield JS, Dimmeler S.* Role of paracrine factors in stem and progenitor cell mediated cardiac repair and tissue fibrosis. *Fibrogenesis Tissue Repair*. 2008; 1: 1–11. doi: 10.1186/1755-1536-1-4.
9. *Strick-Marchand H, Masse GX, Weiss MC, Di Santo JP.* Lymphocytes support oval cell dependent liver regeneration. *J Immunol*. 2008; 181: 2764–2771. doi: 10.4049/jimmunol.181.4.2764.
10. *Roullet M, Gheith SMF, Mauger J, Junkins-Hopkins JM, Choi JK*. Percentage of {gamma} {delta} T cells in panniculitis by paraffin immunohistochemical analysis. *Am J Clin Pathol*. 2009; 13: 1820–1826.
11. *Hur J, Yang H-M, Yoon C-H, Lee C-S, Park K-W et al.* Identification of a novel role of T cells in postnatal vasculogenesis. Characterization of endothelial progenitor cell colonies. *Circulation*. 2007; 116: 1671–1682. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.694778.
12. *Shoutko A., Shatinina N.* Chronic cancer could it be? *Coherence Int J Integrated Med*. 1998; 2: 36–40.
13. *Ding B-S, Cao Z, Lis R, Nolan DJ, Guo P, Simons M et al.* Divergent Angiocrine Signals from vascular niche balance liver regeneration and fibrosis. *Nature*. 2014; 505: 97–102. doi: 10.1038/nature12681.
14. *Woo DH, Kim SK, Lim HJ, Heo J, Park HS, Kang GY et al.* Direct and indirect contribution of human embryonic stem cell-derived hepatocyte-like cells to liver repair in mice. *Gastroenterology*. 2012; 142: 602–611. doi: 10.1053/j.gastro.2011.11.030.
15. *Ratajczak J, Kucia M, Mierzejewska K, Marlicz W, Pietrzkowski Z, Wojakowski W et al.* Paracrine proangiopoietic effects of human umbilical cord blood-derived purified CD133+ cells – implications for stem cell therapies in regenerative medicine. *Stem Cells and Dev*. 2013; 22: 422–430. doi: 10.1089/scd.2012.0268.
16. *Liu W-H, Ren L-N, Wang T, Navarro-Alvarez N, Tang L-J.* The involving roles of intrahepatic and extrahepatic stem/progenitor cells (SPCs) to liver regeneration. *Int J Biol Sci*. 2016; 12: 954–963. doi: 10.7150/ijbs.15715.
17. *Tsolaki E, Athanasiou E, Gounari E, Zogas N, Siotou E, Yiangou M et al.* Hematopoietic stem cells and liver regeneration: differentially acting hematopoietic stem cell mobilization agents reverse induced chronic liver injury. *Blood Cells Mol Dis*. 2014; 53: 124–132. doi: 10.1016/j.bcmd.2014.05.003.
18. *Mohamadnejad M, Vosough M, Moossavi S, Nikfam S, Mardpour S, Akhlaghpoor S et al.* Intraportal infusion of bone marrow mononuclear or CD133+ cells in patients with decompensated cirrhosis: a double-blind randomized controlled trial. *Stem Cells Transl Med*. 2016; 5 (1): 87–94, doi: 10.5966/sctm.2015-0004
19. *Lemoli RM, Catani L, Talarico S, Loggi E, Gramenzi A, Baccarani U et al.* Mobilization of bone marrow-derived hematopoietic and endothelial stem cells after orthotopic liver transplantation and liver resection. *Stem Cells*. 2007; 24: 2817–2825. doi: 10.1634/stemcells.2006-0333.
20. *Shoutko AN, Gerasimova OA, Ekimova LP, Zherebtsov FK, Mus VF, Matyurin KS et al.* Lymphocyte reproductive activity normalized to numbers of hematopoietic stem cells in blood and rate of death in fatal diseases. *Int J of Genetics and Genomics*. 2017; 5: 54–62. doi: 10.11648/j.ijgg.20170505.12.
21. *Heinig K, Sage F, Robin C. Sperandio M*. Development and trafficking function of haematopoietic stem cells and myeloid cells during fetal ontogeny. *Cardiovasc Res*. 2015; 107 (3): 352–363. doi: 10.1093/cvr/cvv146.
22. *Karamullin M, Baback A, Ekimova L, Phedorov V, Kireeva E, Sosukin A et al.* The blood stem cell's pool modulation in remote period improved health status of Chernobyl clean-up workers. *Radioprotection*. 2008; 43: 89. doi: 10.1051/radiopro:2008667.
23. *Baback A, Karamullin M, Ekimova L, Phedorov V, Kireeva E, Sosukin A et al.* Exercise performance vs. growth of haemopoietic stem cells amount in CUWs blood after nonivasive modulation. *Radioprotection*. 2008; 43: 161. doi: 10.1051/radiopro:2008724.
24. *Шутко АН, Федоров ВА*. Способ обогащения крови стволовыми кроветворными клетками. Патент РФ № 2166924, 20.07.2008. *Shutko AN, Fedorov VA*. Sposob obogashcheniya krovi stvolovymi krovetvornymi kletkami. Patent RF № 2166924, 20.07.2008. http://rupatent.info/21/65-69/2166924.html.
25. *Eaker ShS, Hawley TS, Ramezani A, Hawley RG.* Detection and enrichment of hematopoietic stem cells by side population phenotype. *Hawley TS and Hawley RG, Eds., Methods in molecular biology: flow cytometry protocols*, 2nd Edition, Humana Press Inc., Totowa, 2008: 161–180. doi: 10.1385/1-59259-773-4:161.
26. *Sales-Pardo I, Avendaño A, Martinez-Muñoz V, García-Escarp M, Celis R, Whittle P et al.* Flow cytometry of the side population: tips and tricks. *Cellular Oncology*. 2006; 28: 37–53. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16675880.
27. *Loveland JL.* Mathematical justification of introductory hypothesis tests and development of reference materials. All graduate plan B and other reports. Utah State University, Logan, 14. 2013.
28. *Oldenburg AL, Boppart SA.* Resonant acoustic spectroscopy of soft tissues using embedded magnetomotive na-

notransducers and optical coherence tomography. *Physics in Medicine & Biology*. 2010; 55: 1189–1201. doi: 10.1088/0031-9155/55/4/019.

29. *Sharma A, Maurya AK.* Aggregate frequencies of body organs. *Int J of Electrical, Electronics and Data Communication*. 2017; 5: 94–98. http://iraj.in.
30. *Arredondo LT, Perez CA.* Spatially coincident vibrotactile noise improves subthreshold stimulus Detection. *PLoS One*. 2017; 12 (11): e0186932. doi: 10.1371/journal.pone.0186932.
31. *Milanese C, Cavedon V, Sandri M, Tam E, Piscitelli F, Boschi et al.* Metabolic effect of bodyweight whole-body vibration in a 20-min exercise session: a crossover study using verified vibration stimulus. *PLoS One*. 2018. 31; 13 (1): e0192046. doi: 10.1371/journal.pone.0192046.
32. *Richardson RB, Allan DS, Lea Y.* Greater organ involution in highly proliferative tissues associated with the early onset and acceleration of ageing in humans. *Experimental Gerontology*. 2014; 55: 80–91. doi: 10.1016/j.exger.2014.03.015.
33. *Agiasotelli D, Alexopoulou A, Vasilieva L, Kalpakou G, Papadaki S, Dourakis SP.* Evaluation of neutrophil/leukocyte ratio and organ failure score as predictors of reversibility and survival following an acute-on-chronic liver failure event. *Hepatology Research*. 2016; 46: 514–520. doi: 10.1111/hepr.12582.
34. *Ashman LK, Aylett GW.* Expression of CD31 epitopes on human lymphocytes: CD31 monoclonal antibodies differentiate between naïve (CD45RA+) and memory (CD45RA–) CD4-positive T cells. *Tissue Antigens*. 1991; 38: 208–212. doi: 10.1111/j.1399-0039.1991.tb01899.x.
35. *Huch M, Dolle L.* The plastic cellular states of liver cells: are EpCAM and Lgr5 fit for purpose? *Hepatology*. 2016; 64: 652–662. doi: 10.1002/hep.28469.
36. *Teixeira JH, Silva AM, Almeida MI, Barbosa MA, Santos SG.* Circulating extracellular vesicles: their role in tissue repair and regeneration. *Transfus Apher Sci*. 2016; 55 (1): 53–61. doi: 10.1016/j.transci.2016.07.015.
37. *Rountree CB, Barsky L, Ge SH, Zhu J, Senadheera SH, Crooks GM.* A CD133-expressing murine liver oval cell population with bilineage potential. *Stem Cells*. 2007; 25: 2419–2429. doi: 10.1634/stemcells.2007-0176.
38. *Corbeila D, Fargeasa CA, Jászaib J.* CD133 might be a pan marker of epithelial cells with dedifferentiation capacity. *PNAS*. 2014; 111: E1451–E1452. doi: 10.1073/pnas.1400195111.
39. *Turner R, Lozoya O, Wang Y, Cardinale V, Gaudio E, Alpini G et al.* Human hepatic stem cell and maturation liver lineage biology. *Hepatology*. 2011; 53: 1035–1045. doi: 10.1002/hep.24157.
40. *Haruna Y, Saito K, Spaulding S, Nalesnik MA, Gerber MA.* Identification of bipotential progenitor cells in human liver development. *Hepatology*. 1996; 23: 476–481. doi: 10.1002/hep.510230312.
41. *Liang OD, Korff T, Eckhardt J, Rifaat J, Baal N, Herr FT et al.* Oncodevelopmental alphafetoprotein acts as a selective proangiogenic factor on endothelial cell from the fetomaternal unit. *J of Clin Endocrinology & Metabolism*. 2004; 89: 1415–1422. doi: 10.1210/jc.2003-031721.

Статья поступила в редакцию 23.04.2020 г.
The article was submitted to the journal on 23.04.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-4-52-57

ХИМИОЭМБОЛИЗАЦИЯ ПЕЧЕНОЧНЫХ АРТЕРИЙ У БОЛЬНЫХ ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНЫМ РАКОМ НА ФОНЕ ЦИРРОЗА ПЕРЕД ТРАНСПЛАНТАЦИЕЙ ПЕЧЕНИ: ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ АЛЬФАФЕТОПРОТЕИНА

Д.А. Гранов[1], А.С. Полехин[2], П.Г. Таразов[1], И.О. Руткин[1], И.И. Тилеубергенов[1], В.В. Боровик[1]

[1] ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

[2] ГБУЗ «Ленинградский областной клинический онкологический диспансер», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Цель настоящего исследования: изучить собственные результаты ТП у больных ГЦР на фоне ЦП, получавших ХЭПА. **Материалы и методы.** С января 1998-го по апрель 2020 г. у 229 больных выполнены 245 ОТП, из них у 25 (10,2%) по поводу ГЦР на фоне ЦП. У 9 (36%) больных ТП выполнена без неоадъювантного лечения (группа 1). Группу 2 составили 16 (66%) больных, которым выполнили 49 циклов ХЭПА перед ТП. Под Миланские критерии попадали 10 (62,5%) пациентов, 6 (37,5%) вне их. По классификации BCLC (Barcelona Clinic Liver Cancer) стадии A_1–A_4 соответствовали 10, стадии B – 6 больных. У 11 (68,5%) из 16 пациентов до начала лечения была выявлена повышенная концентрация уровня АФП в сыворотке крови – от 20 до 2463 (в среднем 493,8) нг/мл. ХЭПА выполняли как классические, с липиодолом и гемостатической губкой, так и с лекарственно насыщаемыми сферами от 1 до 7 (в среднем 3) раз. Во всех случаях использовали доксорубицин. **Результаты.** Технический успех во 2-й группе составил 100%. Осложнений не было. У трех больных в качестве дополнения выполнили РЧА, у двух – лапароскопическую РЧА-ассистированную атипичную резекцию печени, у одного – последовательные резекцию и РЧА. По критериям m-Recist полный ответ наблюдали у 6 (37,5%), частичный – у 7 (43,75%), стабилизацию – у 3 (18,75%). Динамика АФП была следующей: у 5 из 11 больных с повышенным уровнем удалось достичь референтных значений, их отдаленные результаты сопоставимы с 1-й группой. У 4 отмечено снижение на 13–84%; выявлена прямо пропорциональная зависимость степени снижения АФП и времени до прогрессирования. У 2 отмечен рост концентрации АФП на 42 и 320%, время до прогрессирования составило 3 и 1 мес., оба не прожили 12 мес. В настоящее время живы 9 (56%) из 16 пациентов в сроки от 4 до 156 (в среднем 60,2) мес., из них прогрессирование опухоли наблюдается у 2. Умерли 7 (44%) больных в сроки от 9 до 54 мес. Показатели 1, 3, 5-летней актуариальной выживаемости составили 93, 50, 32%, два пациента прожили более 10 лет. Средняя продолжительность жизни составила 28,0 ± 3,0 мес. **Заключение.** Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что динамика концентрации АФП в сыворотке крови являлась важным прогностическим фактором, влиявшим на отдаленные результаты ТП. Хороший биологический ответ на ХЭПА может являться положительным фактором прогноза, результаты ТП у этих больных сопоставимы с таковыми у пациентов, соответствующих Миланским критериям. Снижение концентрации АФП менее чем на 50% после неоадъювантной ХЭПА являлось неблагоприятным фактором, а ее увеличение – крайне неблагоприятным.

Ключевые слова: гепатоцеллюлярный рак, цирроз печени, химиоэмболизация печеночных артерий, неоадъювантная терапия, трансплантация печени, альфафетопротеин.

Для корреспонденции: Полехин Алексей Сергеевич. 191014, Санкт-Петербург, Литейный пр., 37–39. Тел./факс: (812) 335-23-80. E-mail: polehin_aleksey@mail.ru

Corresponding author: Aleksey Polehin. Address: 37–39, Liteyny Prospekt, St. Petersburg, 191014, Russian Federation. Phone/fax: (812) 335- 23- 80. E-mail: polehin_aleksey@mail.ru

TRANSCATHETER HEPATIC ARTERIAL CHEMOEMBOLIZATION IN CIRRHOTIC PATIENTS WITH HEPATOCELLULAR CARCINOMA BEFORE LIVER TRANSPLANTATION: THE PROGNOSTIC VALUE OF ALPHA-FETOPROTEIN CONCENTRATIONS

D.A. Granov[1], A.S. Polehin[2], P.G. Tarazov[1], I.O. Rutkin[1], I.I. Tileubergenov[1], V.V. Borovik[1]

[1] Granov Russian Scientific Center of Radiology and Surgical Technology, St. Petersburg, Russian Federation

[2] Leningrad Regional Clinical Oncological Dispensary, St. Petersburg, Russian Federation

Objective: to study liver transplantation (LT) outcomes in cirrhotic patients with hepatocellular carcinoma (HCC), who underwent transcatheter hepatic arterial chemoembolization (THACE). **Materials and methods.** From January 1998 to April 2020, we performed 245 orthotopic liver transplantation (OLTs) in 229 patients of which 25 (10.2%) had HCC in cirrhosis. In 9 (36%) patients, LT was performed without neoadjuvant therapy (Group 1). Group 2 consisted of 16 (66%) patients who underwent 49 THACE cycles before LT. 10 (62.5%) patients fell within the Milan criteria, while 6 (37.5%) were outside. According to the BCLC (Barcelona Clinic Liver Cancer) classification, 10 patients had A_1–A_4 stage, while 6 were in B stage. In 11 (68.5%) of 16 patients, increased serum alpha-fetoprotein (AFP) concentrations from 20 to 2463 (on average 493.8) ng/mL was revealed before treatment. In performing THACE, both the classical method (with lipiodol and hemostatic sponge) and the method with drug-eluting beads were performed 1 to 7 (on average 3) times. Doxorubicin was used in all cases. **Results.** Group 2 recorded a 100% technical success. There were no complications. We performed radiofrequency ablation (RFA) in three patients as an adjunct. In two patients, we performed laparoscopic RFA-assisted atypical liver resection, and in one – sequential resection and RFA. Under the m-Recist criteria, complete response was observed in 6 (37.5%), partial response in 7 (43.75%), and stabilization in 3 (18.75%) patients. Change in AFP concentrations were as follows: in 5 out of 11 patients with increased concentrations, we were able to reduce their AFP concentrations to the reference values, their long-term outcomes are comparable to those of Group 1. Four patients showed a 13–84% decrease; a directly proportional relationship between the degree of AFP decrease and the time to tumor progression was revealed. In 2 patients, there were 42% and 320% increase in AFP concentrations, the time to tumor progression was 3 and 1 month, both did not live up to 12 months. Among 9 (56%) of the living 16 patients, a maximum of 156 months and a minimum of 4 months (60.2 average) have elapsed since the surgery. Two of these nine have tumor progression (cases 4 and 14). Seven (44%) patients died within 9 to 54 months. The 1, 3, 5-year actuarial survival rates were 93, 50, 32%, two patients lived more than 10 years. The average life expectancy was 28.0 ± 3.0 months. **Conclusion.** Serum AFP concentration is an important prognostic factor influencing the long-term outcomes of LT. Good biological response to THACE can be a positive predictor; LT outcomes in these patients are comparable to those in patients who meet the Milan criteria. A decrease in AFP concentrations by less than 50% after neoadjuvant THACE is an unfavorable factor, and its increase is extremely adverse.

Keywords: hepatocellular carcinoma, cirrhosis, hepatic arterial chemoembolization, neoadjuvant therapy, liver transplantation, alpha-fetoprotein.

ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация печени (ТП) является единственным радикальным методом лечения гепатоцеллюлярного рака (ГЦР) на фоне цирроза печени (ЦП). Однако, достигая компромисса между трансплантационными критериями и лечебными рекомендациями по ГЦР, ТП остается далеко не рутинной операцией и выполнима лишь у 10–15% больных [1]. По данным литературы, в течение года более 55% больных выбывают из листа ожидания из-за прогрессирования ГЦР [2, 3]. По данным официальных статистических отчетов за последние 10 лет, пик заболеваемости ГЦР в РФ еще не пройден [4–6]. Разработанные противовирусные препараты против ХВГ С могут значимо повлиять на статистику ГЦР, как это происходит в западных странах, но их доступность пока нельзя назвать широкой [7, 8].

С момента формулировки первых трансплантационных критериев прошло уже более 20 лет. Являясь основой и гарантом достижения наилучших показателей выживаемости (4-летняя выживаемость составляет 83%), Миланские критерии довольно строги [9]. И за это время в разных странах разрабатывались альтернативные рекомендации ТП при ГЦР на фоне ЦП. Помимо числа и размеров очагов в последнее время учитываются биологические маркеры опухоли, степень дифференцировки, ответ опухоли на проводимое лечение. На данный момент сфор-

мулировано более 20 расширенных критериев ТП. Все они направлены на увеличение числа операций с достижением приемлемых отдаленных результатов, которые у данной группы больных напрямую зависят от прогрессирования ГЦР [10, 11]. С целью сохранения пациента в листе ожидания ТП все более широко используются методы локального противоопухолевого лечения, которые помимо сдерживания опухолевого процесса могут снизить стадию ГЦР, создав более благоприятные условия для ТП [12, 13]. Наиболее часто применяется химиоэмболизация печеночной артерии (ХЭПА).

Цель настоящего исследования: изучить собственные результаты ТП у больных с ГЦР на фоне ЦП, получавших ХЭПА.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С 1998-го по май 2020 г. у 229 больных выполнены 245 ортотопических ТП от посмертного донора, из них у 25 – по поводу ГЦР на фоне ЦП. У 22 больных цирроз сформировался вследствие хронических вирусных гепатитов (B, C и D), у двух – из-за аутоиммунного гепатита; у одной пациентки был первичный билиарный цирроз. По классификации ЦП Child-Pugh два больных (8%) соответствовали стадии A, 18 (72%) – B и 5 (20%) – C [14].

Диагноз ГЦР у 9 (36%) пациентов был установлен только при гистологическом исследовании удаленных органов, и ХЭПА у них не выполняли. Все они ретроспективно попадали под Миланские критерии: максимальный диаметр узлов не превышал 2 см, не более трех очагов в каждом органе и стадия «0» по классификации BCLC (Barcelona Clinic Liver Cancer classification) [15]. Эти пациенты составили 1-ю группу.

У 16 (64%) больных 2-й группы в качестве неоадъювантной терапии выполнили 49 циклов ХЭПА в различных модификациях (табл.). Из них для 10 пациентов, попадавших под Миланские критерии, задачей ХЭПА было предотвращение прогрессирования опухоли с целью сохранения в листе ожидания. У 6 больных задачей ХЭПА являлось уменьшение объема опухоли до Миланских критериев и снижение ее биологической активности. На момент начала лечения стадии A_1–A_4 по BCLC соответствовали 10 (62,5%), стадии B – 6 (37,5%) больных [15]. У 11 (68,5%) из 16 пациентов до начала лечения была выявлена повышенная концентрация уровня альфафетопротеина (АФП) в сыворотке крови – от 20 до 2463 (в среднем 493,8) нг/мл.

ХЭПА выполняли по стандартной методике, с использованием 10–50 мг доксорубицина, смешанного с 5–10 мл сверхжидкого липиодола, мелко нарезанной гемостатической губки, или доксорубицин-насыщаемых сфер (Hepasphere, «Biosphere Medical»; DC Beads, Life Pearls, «Terumo»). Учитывая наличие у

Таблица

Характеристика группы 2

Group 2 characteristics

№/ возраст	АФП до ХЭПА	АФП после ХЭПА	BCLC	МК после ХЭПА (+/–)	Время ожидания (мес.)	Время до прогрессирования (мес.)	Результат (мес.)	
							Живы	Умерли
1. К., 28	N	N	B	–	7	12		26
2. Б., 58	N	N	B	+	15	–	62	–
3. Р., 45	20	N	A	+	2	–	77	–
4. З., 54	1300	1122 (<14%)	A	+	6	19	76	–
5. Е., 49	183	30 (<84%)	B	+	6	24	–	36
6. К., 52	346	111 (<68%)	A	+	26	–	–	54
7. К. А., 53	113	N	B	+	10	–	–	19
8. К. Б., 43	N	N	A	+	12	12	–	33
9. К., 53	59	N	A	+	7	–	138	–
10. С., 61	30	51 (>42%)	A	–	5	3	–	9
11. Т., 45	2463	8666 (>320%)	A	+	16	1	–	20
12. У., 48	N	N	B	+	12	–	168	–
13. Н., 55	31	N	B	+	23	–	62	–
14. П., 52	343	300 (<13%)	A	+	15	2	21	–
15. С., 47	N	N	A	+	12	–	30	–
16. Ш., 64	544	N	A	+	30	–	34	–

Примечание. BCLC – Barcelona Clinic Liver Cancer classification [14]; ХЭПА – химиоэмболизация печеночной артерии; МК – Миланские критерии [8]; АФП – альфафетопротеин.

Note. BCLC – Barcelona Clinic Liver Cancer classification [14]; ХЭПА – transcatheter hepatic arterial chemoembolization; МК – Milan Criteria [8]; АФП – alpha-fetoprotein.

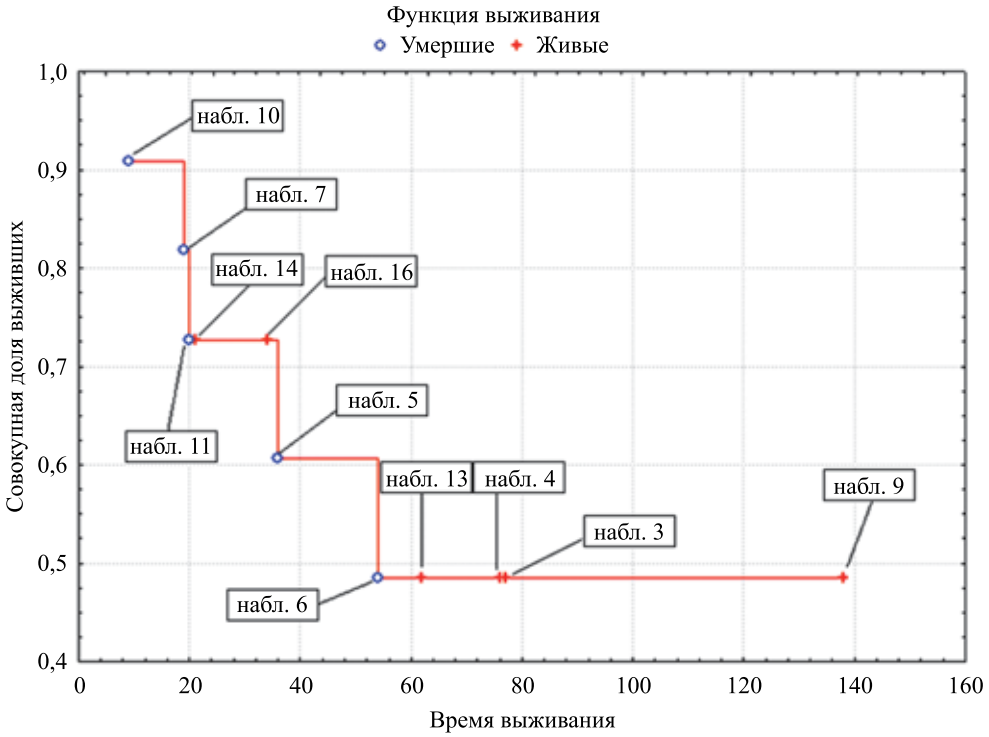

Рис. Расчет выживаемости у больных с повышенной концентрацией АФП методом Каплана–Майера: «+» – живые; «○» – умершие; набл. – наблюдение

Fig. Calculation (by the Kaplan-Meier method) of survival in patients with increased AFP concentrations: «+» – alive; «○» – deceased; набл. – observation

больных выраженных проявлений печеночной недостаточности, использовали только суперселективную ХЭПА, при необходимости с помощью микрокатетеров 2,4–2,9 F (Progreat, «Terumo»; Neuro Renegate, «Boston»).

Результаты лечения оценивали через 3–5 нед. на основании данных мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ) или магнитно-резонансной томографии (МРТ), используя критерии m-Recist; оценивали динамику концентрации АФП [16]. ХЭПА выполняли от 1 до 7 раз, повторяли только при доказанном прогрессировании через 1–8 (в среднем 3,7) мес.

После ХЭПА, при достижении частичного ответа и уменьшения размеров опухоли, у трех больных (наблюдения 7, 8, 9) в качестве дополнения выполнили радиочастотную аблацию (РЧА), у двух – лапароскопическую (ЛС) РЧА-ассистированную атипичную резекцию печени (набл. 14, 16), у одного при билобарном поражении – последовательные резекцию и РЧА (набл. 2).

РЕЗУЛЬТАТЫ

К настоящему времени в 1-й группе живы 7 (78%) из 9 больных в сроки от 24 до 134 (в среднем 69,8) мес., все без признаков прогрессирования ГЦР. Показатели 1, 3, 5-летней актуариальной выживаемости составили 78, 45, 44%, один пациент жив более 10 лет. Умерли двое в сроки 1 (сепсис) и 7 мес. (рецидив ГЦР и отторжение трансплантата).

Во 2-й группе технический успех ХЭПА составил 100%. Осложнений не было. По критериям m-Recist полный ответ наблюдали у 6, частичный – у 7, стабилизацию – у 3 больных. К моменту ТП стадии A_1–A_4 по классификации BCLC соответствовали 14, стадии В – два больных (набл. 1, 10). У 4 из 6 пациентов удалось достичь ответа опухоли на лечение и вернуть их в рамки Миланских критериев (набл. 2, 5, 12, 13). Динамика АФП была следующей: у 5 из 11 больных с повышенным уровнем удалось достичь референтных значений, у 4 отмечено снижение на 13–84%, у 2 – увеличение на 42 и 320% (табл.).

В настоящее время живы 9 (56%) из 16 пациентов в сроки от 4 до 156 (в среднем 60,2) мес., из них прогрессирование опухоли наблюдается у 2 (набл., 4, 14). Умерли 7 (44%) больных в сроки от 9 до 54 мес.: 5 – из-за прогрессирования ГЦР, возникшего через 1–24 (в среднем 11) мес. (рецидив в трансплантате, метастатическое поражение легких, диссеминация), два – от интеркурентной патологии (острое нарушение мозгового кровообращения, холангиогенный сепсис). Показатели 1, 3, 5-летней актуариальной выживаемости составили 93, 50, 32%, два пациента прожили более 10 лет. Средняя продолжительность жизни составила 28,0 ± 3,0 мес.

У 5 из 11 больных, которым удалось достичь снижения концентрации АФП до референтных значений, по m-Recist наблюдался полный ответ на лечение и тотальный некроз опухоли по данным гистологических исследований. В наблюдениях 7 и 13 до лечения пациенты были вне Миланских критериев. В настоящее время 4 из 5 живы в сроки 34, 62, 77 и 138 мес., без признаков прогрессирования ГЦР (набл. 16, 13, 3 и 9). Один пациент скончался через 19 мес. по причине, не связанной с опухолевым прогрессированием (набл. 7). Эти данные сопоставимы с результатами группы 1.

У пациентов со снижением концентрации АФП по m-Recist регистрировался частичный ответ. В наблюдениях 5 и 6 АФП снизился на 84 и 68%, при этом в наблюдении 6 прогрессирования ГЦР не было, а в наблюдении 5 наступило через 24 мес. Оба пациента умерли в сроки 36 и 54 мес., причем наибольший срок прожил пациент с меньшим снижением АФП и от интеркурентной патологии (набл. 6). В наблюдениях 4 и 14 АФП снизился на 14 и 13%, время до прогрессирования составило 19 и 2 мес. соответственно.

У двух больных на фоне стабильного течения ГЦР отмечен рост концентрации АФП на 42 и 320%, время до прогрессирования составило 3 и 1 мес., оба не прожили 12 мес.

ОБСУЖДЕНИЕ

Камнем преткновения формирования листа ожидания для больных ГЦР на фоне ЦП является частое несоответствие стадий опухолевого процесса и цирроза печени. Так, при соблюдении эталонных Миланских критериев ТП показана при наличии одного или трех опухолевых узлов размером не более 3 см. При этом, следуя другому правилу, ТП показана при субкомпенсированном ЦП. Ведь в последнее время с развитием хирургических технологий все чаще встречаются данные об экономных резекциях печени, различных методах интервенционной радиологии, которые довольно безопасно и эффективно позволяют контролировать опухолевый процесс даже на поздних стадиях [17, 18]. Таким образом, основным показанием к ТП остается ЦП с необратимыми нарушениями функции печени.

Представим часто встречающуюся ситуацию: пациент с одиночным ГЦР до 3 см в диаметре и циррозом печени класса В по Child–Pugh. Согласно основной по выбору тактики лечения классификации BCLC, ему показана ТП. С момента постановки в лист ожидания прошло два месяца, и очаг увеличился до 4 см, а уровень АФП вырос с 80 до 380 нг/мл. Стоит ли бездействовать в такой ситуации? На наш взгляд, если ничего не предпринимать, то еще через два месяца у этого пациента, согласно BCLC, станет возможным только лечение ингибиторами протеинкиназ. Учитывая невозможность гарантировать даже примерные сроки ТП, мы полагаем, что всем подобным пациентам необходимо оказывать противоопухолевое лечение. Наиболее доступным и безопасным считаем ХЭПА [19].

Более чем в половине имеющихся критериев ТП учитываются биологические маркеры опухоли, наиболее доступным из которых является определение концентрации АФП. Критичность ее величины, по данным разных авторов, варьирует от 20 до 1000 нг/мл [10, 11]. Согласно рекомендациям EASL и RUSSCO, для установления диагноза ГЦР достаточно иметь совокупность клинических, рентгенологических и лабораторных данных (LIRADS 2 и более + ЦП + десятикратное повышение концентрации АФП) [15, 20, 21] без взятия биопсии, связанной с высоким риском кровотечения после пункции печени на фоне гипокоагуляции. Соответственно, оценка степени дифференцировки опухоли зачастую выполняется только после ТП. И АФП, и морфологическая картина наряду с числом и размером опухолевых узлов стали основой для формулировки прогностических шкал результатов ТП при ГЦР [11].

В нашем исследовании во 2-й группе у 11 (68,5%) из 16 больных была выявлена повышенная концентрация АФП. После ХЭПА у 5 из 11 пациентов удалось достичь снижения АФП до референтных значений (наблюдения 3, 7, 9, 13, 16). В итоге такие показатели, как время до прогрессирования и выживаемость, у этих больных оказались сопоставимы с 1-й группой. Еще у 4 пациентов с помощью ХЭПА удалось достичь снижения концентрации АФП. В наблюдениях 5 и 6 снижение АФП составило 84 и 68%; прогрессирование ГЦР возникло только в наблюдении 5 и составило 24 мес. В наблюдениях 4 и 14 АФП снизился на 14 и 13%; время до прогрессирования составило 19 и 2 мес. соответственно. У двух больных с повышением концентрации АФП (наблюдения 10, 11) время до прогрессирования оказалось весьма коротким: 3 и 1 мес., несмотря на то что в наблюдении 11 ТП выполнена согласно Миланским критериям.

Таким образом, динамика концентрации АФП в сыворотке крови являлась важным прогностическим фактором, влиявшим на отдаленные результаты ТП. Хороший биологический ответ на ХЭПА может являться положительным фактором прогноза, результаты ТП у этих больных сопоставимы с таковыми у пациентов, соответствующих Миланским критериям. Снижение концентрации АФП менее чем на 50% после неоадъювантной ХЭПА являлось неблагоприятным фактором, а ее увеличение – крайне неблагоприятным.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Готье СВ, Мойсюк ЯГ, Попцов ВН и др.* Отдаленные результаты трансплантации трупной печени. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2014; 16 (3): 45–53. *Gautier SV, Moysyuk YG, Poptsov VN et al*. Long-term outcomes of deceaded donor liver transplantation. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2014; 16 (3): 45–53. (In Russ.).
2. *Salvalaggio PR, Felga G, Axelrod DA et al*. List and liver transplant survival according to waiting time in patients with hepatocellular carcinoma. *American J Transplant*. 2015; 15 (3): 668–677.
3. *Benmassaoud A, Tsochatzis EA*. Loco-regional treatments on the liver transplant waiting list: unmasking hepatocellular carcinoma (HCC) biology. *Hepatobiliary Surg Nutr*. 2018; 7 (3): 199–201.
4. *Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I et al*. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018; 68 (6): 394–424.
5. *Балахнин ПВ, Шачинов ЕГ, Шмелев АС*. Роль хирургических технологий в лечении вирус-ассоциированных опухолей на примере гепатоцеллюлярного рака. *Практическая онкология*. 2018; 19 (4): 348–377. *Balakhnin PV, Shachinov EG, Shmelev AS*. The role of surgical technologies in the treatment of virus-associated tumors on the example of hepatocellular carcinoma. *Practical oncology*. 2018; 19 (4): 348–377. (In Russ.).
6. *Каприн АД, Старинский ВВ, Петрова ГВ*. Злокачественные образования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность). М.: РИИС ФИАН, 2018. 250. *Kaprin AD, Starinskij VV, Petrova GV*. Zlokachestvennye obrazovanija v Rossii v 2017 godu (zabolevaemost' i smertnost'). M.: RIIS FIAN, 2018. 250. (In Russ.).
7. *Crespo G, Trota N, Londono M-C et al*. The afficacy of direct anti-HCV drugs improves early post-liver transplant survival and induces significant changes in waiting list composition. *Journal of Hepatology*. 2018; 69 (1): 11–17.
8. EASL recommendation on treatment of hepatitis C 2018. *Journal of Hepatology*. 2018; 69 (2): 461–511.
9. *Mazzaferro V, Regalia E, Doci R et al.* Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N Engl J Med*. 1996. (334): 693–699.
10. *Schielke A, Meurisse N, Lamproye A et al*. Selection criteria for liver transplantation in patients with hepatocellular carcinoma. Eastern and western experiences, and perspectives for the future. *Acta Gastroenterol Belg*. 2019; 82 (2): 314–318.
11. *Мальцева АП, Сюткин ВЕ, Колышев ДЮ и др*. Трансплантация в онкологии – будущее мультидисциплинарного подхода. *Трансплантология*. 2019; 11 (3): 218–233. *Maltseva AP, Syutkin VE, Kolyshev IYu et al*. Transplantation in oncology: the future of a multidisciplinary approach. *Transplantologiya. The Russian Journal of Transplantation*. 2019; 11 (3): 218–233. (In Russ.).
12. *Pompili M, Francica G, Romana Ponziani F et al*. Bridging and downstaging treatments for hepatocellular carcinoma in patients on the waiting list for liver transplantation. *World J Gastroenterol*. 2013; 19 (43): 7515–7530.
13. *Kulik L, Heimbach JK, Zaiem F et al*. Therapies for patients with hepatocellular carcinoma awaiting liver transplantation: A systematic review and meta-analysis. *Hepatology*. 2018. 67 (1): 381–400.
14. *Child CG, Turcotte JG*. Surgery and portal hypertension. *The liver and portal hypertension*. Philadelphia: W.B. Saunders Co., 1964: 50.
15. European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. 2018; 69 (1): 182–236.
16. *Lencioni R, Llovet JM*. Modified RECIST (mRECIST) assessment for hepatocellular carcinoma. *Semin Liver Dis*. 2010; (30): 52–60.
17. *Патютко ЮИ, Кудашкин НЕ*. Хирургическое лечение больных гепатоцеллюлярным раком BCLC B. *Злокачественные опухоли*. 2016; 4, спецвыпуск 1: 46–47. *Patjutko JuI, Kudashkin NE*. Hirurgicheskoe lechenie bol'nyh gepatocelljuljarnym rakom BCLC B. *Malignant Tumor*. 2016; 4, specvypusk 1: 46–47.
18. *Bhandare MS, Patkar S, Shetty N et al*. Liver Resection for HCC Outside the BCLC Criteria. *Langenbecks Arch Surg*. 2018; 403 (1): 37–44.
19. *Полехин АС, Таразов ПГ, Поликарпов АА, Гранов ДА*. Химиоэмболизация печеночной артерии в лечении больных гепатоцеллюлярным раком на фоне выраженного цирроза печени. *Вестник хирургии имени И.И. Грекова*. 2019; 178 (6): 29–35. *Polekhin A.S., Tarazov PG, Polikarpov AA, Granov DA*. Transcatheter arterial chemoembolization in the treatment of patients with hepatocellular carcinoma on advanced liver cirrhosis. *Grekov's Bulletin of Surgery*. 2019; 178 (6): 29–35.
20. *Бредер ВВ, Балахнин ПВ, Виршке ЭР и др*. Практические рекомендации по лекарственному лечению гепатоцеллюлярного рака. *Злокачественные опухоли: Практические рекомендации RUSSCO*. 2019; 9 (2): 420–438. *Breder VV, Balahnin PV, Virshke ER et al*. Prakticheskie rekomendacii po lekarstvennomu lecheniyu gepatocellyulyarnogo raka. *Zlokachestvennye opuholi: Prakticheskie rekomendacii RUSSCO*. 2019; 9 (2): 420–438. (In Russ.).
21. American College of Radiology. Quality and safety resources: Liver Imaging – Reporting and Data System. Available at: http://www.acr.org/QualityB Safety/Resources/LIRADS. Accessed April 22, 2012.

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

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-4-58-64

ЛЕЧЕНИЕ КРОВОТЕЧЕНИЙ ИЗ ВАРИКОЗНО РАСШИРЕННЫХ ВЕН ПИЩЕВОДА У БОЛЬНЫХ ИЗ ЛИСТА ОЖИДАНИЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ

В.Л. Коробка[1, 2], М.Ю. Кострыкин[1], А.М. Шаповалов[1]

[1] ГБУ РО «Ростовская областная клиническая больница», Ростов-на-Дону, Российская Федерация
[2] ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет», Ростов-на-Дону, Российская Федерация

Цель. Изучить результаты основных хирургических способов остановки и профилактики кровотечений из варикозно расширенных вен пищевода (ВРВП) у больных циррозом печени, находящихся в листе ожидания. **Материал и методы.** Проведено проспективное исследование по типу «случай–контроль». В группу «случай» вошло 132 больных циррозом печени, осложненным кровотечениями из ВРВП рецидивного характера. Группу «контроль» составили 92 больных с одним эпизодом кровотечения из варикозно расширенных вен пищевода. Лечение включало консервативную терапию, эндоскопическое лигирование, трансъюгулярное портосистемное шунтирование и оригинальную методику азигопортального разобщения. **Результаты.** Высокие показатели MELD, выраженная печеночная энцефалопатия, тромбоз воротной вены, высокая степень варикозного расширения вен, рецидивирование кровотечений существенно влияют на смертность больных циррозом печени. Монотерапия неселективными β-блокаторами и их нерациональное использование оказывают негативное влияние на результаты лечения. Совместное использование медикаментозной терапии и методов хирургической остановки и профилактики кровотечений из ВРВП сокращает число рецидивов, увеличивает время жизни больных до двух лет и более, что позволяет перейти к следующему этапу лечения цирроза – трансплантации печени. **Заключение.** Вероятность рецидива кровотечения из ВРВП возрастает у пациентов, в отношении которых прослеживается пассивная хирургическая тактика. При наличии у больного более одного эпизода кровотечения в качестве операции выбора должно быть рассмотрено азигопортальное разобщение. Своевременные и адекватные лечебные мероприятия, клинико-диагностический мониторинг обеспечивают снижение смертности больных в листе ожидания.

Ключевые слова: варикозные кровотечения, трансплантация печени, лист ожидания.

MANAGEMENT OF VARICEAL BLEEDING IN THE LIVER TRANSPLANT WAITING LIST

V.L. Korobka[1, 2], M.Yu. Kostrykin[1], A.M. Shapovalov[1]

[1] Rostov Regional Clinical Hospital, Rostov-on-Don, Russian Federation
[2] Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

Objective: to study the outcomes of main surgical methods for stopping and preventing variceal hemorrhage in waitlisted cirrhotic patients. **Material and methods.** In our prospective case-control study, the «case» cohort included 132 patients with cirrhosis complicated by recurrent varicose bleeding, while the «control» group consisted of 92 patients with one episode of bleeding esophageal varices. Treatment included conservative therapy, endoscopic ligation, transjugular intrahepatic portosystemic shunt, and the original azygoportal disconnection technique. **Results.** High MELD scores, severe hepatic encephalopathy, portal vein thrombosis, high degree of varices, and recurrent bleeding significantly affect the mortality of cirrhotic patients. Irrational use of nonselective beta-blocker monotherapy has a negative impact on treatment outcomes. Combined use of drug therapy and surgical methods of stopping and preventing varicose bleeding, reduces the number of relapses, prolongs patients' life to two years or more, which allows to move on to the next stage of cirrhosis treatment – liver transplantation.

Для корреспонденции: Кострыкин Михаил Юрьевич. Адрес: 344015, Ростов-на-Дону, ул. Благодатная, 170. Тел. (918) 554-16-28. E-mail: michael_cs@mail.ru

Corresponding author: Michael Kostrykin. Address: 170, Blagodatnaya str., Rostov-on-Don, 344015, Russian Federation. Phone: (918) 554-16-28. E-mail: michael_cs@mail.ru

Conclusion. The likelihood of recurrent variceal hemorrhage increases in patients who undergo passive surgical tactics. Azygoportal disconnection should be considered as the operation of choice if the patient has more than one episode of variceal bleeding. Timely and adequate treatment measures, clinical and diagnostic monitoring reduce waitlist mortality.

Keywords: variceal bleeding, liver transplantation, waiting list.

ВВЕДЕНИЕ

Нередким клиническим проявлением цирроза печени (ЦП) является варикозное расширение вен пищевода (ВРВП). Частота встречаемости вариксов в верхних отделах желудочно-кишечного тракта при компенсированном ЦП колеблется от 30 до 40%, а при декомпенсированной форме достигает 60% [1, 2]. В случае разрыва варикса возникает кровотечение, первый эпизод которого для 20–80% больных циррозом становится смертельным, а у 50–70% пациентов высок риск его рецидива. С момента первого эпизода кровотечения из ВРВП в течение двух лет выживает немногим более 40% больных [3, 4].

Прогноз течения ЦП определяет не только и не столько возраст и сопутствующая патология, сколько функциональный резерв печени, степень и локализация вариксов, тяжесть кровотечения [5].

На сегодняшний день для остановки кровотечения из варикозно расширенных вен (ВРВ) пищевода и профилактики его повторного возникновения применяются как лекарственные средства, так и различные инвазивные методики [6–9]. Однако неэффективность первых и нерадикальность вторых нередко заставляют менять тактику и прибегать к открытым способам хирургического лечения этой категории больных [10, 11]. Предложенные в разное время шунтирующие, разобщающие портальный кровоток и резекционные операции в какой-то степени позволяют улучшить качество и продлить жизнь больных циррозом, но ни один из данных подходов не способен вернуть портальный кровоток к нормальному состоянию.

В настоящее время единственным патогенетически оправданным и дающим долгосрочные положительные результаты методом лечения больных ЦП остается трансплантация печени (ТП), но ее использование ограничивает ряд факторов, в частности дефицит донорских органов [12, 13]. Зачастую именно он определяет фактическое время ожидания трансплантации в листе ожидания (ЛО), нередко растягивающееся для 63% больных на несколько лет [14]. Следствием этого становится рост летальных исходов среди уже находящихся в ЛО ТП пациентов, в том числе по причине кровотечений из ВРВ.

Учитывая вышеизложенное, целью исследования стало изучение результатов основных хирургических способов остановки и профилактики кровотечений из ВРВ у больных циррозом печени, находящихся в листе ожидания.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование было проспективным, его реализация осуществлялась на базе Государственного бюджетного учреждения Ростовской области «Ростовская областная клиническая больница» в период с 2015-го по 2020 год. Анализу подверглись данные 224 пациентов из ЛО ТП, для которых осложнением ЦП стали кровотечения из ВРВ верхних отделов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ).

Критерии включения: инструментально подтвержденное расширение вен пищевода; анамнестические указания на эпизоды кровотечений из ВРВП; указания на хирургические вмешательства или иные действия, направленные на остановку или профилактику варикозного кровотечения. Особых критериев исключения не было. Все пациенты прошли обследование в соответствии с диагностическим протоколом для больных ЦП.

Исследование проводилось в двух группах больных по типу «случай–контроль». В основную группу «случай» вошло 132 больных ЦП, у которых кровотечение носило рецидивный характер. Группу «контроль» составили 92 больных, имевших не более одного кровотечения из ВРВ.

Все демографические, клинические и лабораторные данные для статистического анализа были получены из непрерывно обновляющейся электронной базы данных Центра хирургии и координации донорства обозначенного ранее учреждения.

В качестве способов профилактики и остановки кровотечений из ВРВ пищевода нами рассматривались консервативные мероприятия, эндоскопическое лигирование вариксов, трансъюгулярное портосистемное шунтирование (TIPS) и оригинальная методика азигопортального разобщения (АПР), сущностью которой явилось выполнение резекции абдоминального отдела пищевода и кардиального отдела желудка с последующим формированием эзофагогастроанастомоза и созданием арефлюксной кардии [15].

Статистический анализ данных проведен с использованием программы IBM SPSS Statistics 23. Статистическую значимость различий между сравниваемыми параметрами при нормальном распределении оценивали по t-критерию Стьюдента. В отсутствие нормального распределения данных применяли непараметрические критерии: Уилкоксона – для

парных сравнений зависимых переменных, Манна–Уитни (U-критерий), хи-квадрат Пирсона – для сравнения независимых переменных. Различия между сравниваемыми параметрами считали статистически значимыми при условии вероятности ошибки менее 0,05 ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Характеристика пациентов группы «случай»

Группу больных с рецидивными кровотечениями из ВРВП составили 82 мужчины (62,1%) и 50 женщин (37,9%). Средний возраст больных был в пределах 51 года (49,52 ± 10,92). В ЛО ТП больные находились 17,14 ± 15,04 месяца.

Причиной ЦП у 68 больных (51,5%) был вирусный гепатит, в 31 случае (23,5%) – алкогольная болезнь печени, у 17 пациентов (12,9%) был выставлен диагноз криптогенного цирроза. Аутоиммунные заболевания и иные причины повлекли за собой цирроз у 16 пациентов (12,1%).

В ходе обследования было установлено, что у 50 больных (37,9%) индекс MELD не превышал 20 баллов, 64 пациента (48,4%) имели показатель MELD от 20 до 30, у 18 (13,6%) больных значение индекса превысило показатель в 30 баллов. В соответствии с классификацией тяжести ЦП по Child-Turcotte-Pugh 126 (95,5%) больных группы были отнесены к классу С, остальные имели класс цирроза В.

Эндоскопическое исследование верхних отделов пищеварительного тракта показало наличие у 28 больных (21,3%) I–II степени ВРВ, III и IV степень расширения вен имели 67 (50,8%) и 37 (28,0%) больных соответственно.

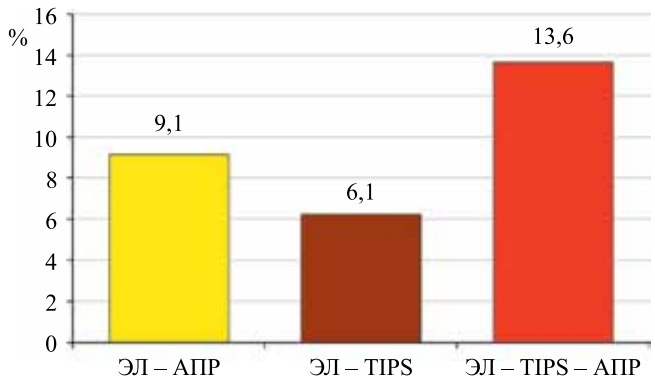

Рис. 1. Распределение больных по видам хирургических вмешательств: ЭЛ – эндоскопическое лигирование; TIPS – трансъюгулярное портосистемное шунтирование; АПР – азигопортальное разобщение

Fig. 1. Distribution of patients by types of surgical interventions: ЭЛ – endoscopic ligation; TIPS – transjugular intrahepatic portosystemic shunt; АПР – azygoportal dissociation

Отягчающими течение основного заболевания факторами у больных стали: явная печеночная энцефалопатия – 124 (93,9%) человека с 3–4-й степенью у 57 (43,1%) пациентов; резистентный асцит – 57 (43,2%) больных; гепато-ренальный синдром – 71 (53,8%) наблюдение; порто-пульмональное шунтирование – 16 (12,1%) больных; тромбоз воротной вены и ее магистральных притоков – 27 (20,5%) пациентов.

Как было отмечено ранее, всех больных этой группы характеризовали рецидивные кровотечения из ВРВ. При сборе анамнеза было установлено, что 101 больной (76,5%) имел два-три эпизода кровотечения, до пяти эпизодов было зарегистрировано у 27 (20,5%) больных, свыше пяти раз кровотечения возникли у 4 (3,1%) пациентов, при этом у одного из них документально подтверждено 14 эпизодов.

Говоря о лечении больных группы, следует сказать, что 126 пациентов (95,5%) получали консервативную терапию, включающую неселективные β-блокаторы, кроме этого 77 больных (58,3%) перенесли различные хирургические вмешательства, направленные как на купирование кровотечений из ВРВ, так и профилактику их рецидива.

Основным видом хирургического пособия у 31 больного (23,5%) стало эндоскопическое лигирование ВРВ, у 7 пациентов (5,3%) – TIPS, 1 пациент перенес оригинальную разобщающую операцию. Частые рецидивы кровотечения из-за несостоятельности эндоскопического лигирования или обструкции портосистемного шунта заставляли либо повторно прибегать к уже использованным методикам, либо производить открытую разобщающую операцию (рис. 1). Таким образом, на одного пациента группы в среднем пришлось 2,55 ± 1,55 вмешательства.

Несмотря на принятые комплексные меры по лечению и профилактике варикозного кровотечения, которые были проведены у 76 (57,6%) больных, его рецидивы все же имели место у 38 (28,8%) больных.

Характеристика пациентов группы «контроль»

В контрольной группе, как и в основной, преобладали больные мужского пола, женщин было меньше, соответственно 51 (55,4%) и 41 (44,6%) человек. Средний возраст больных составил 53 года (50,48 ± 10,38). В ЛО ТП больные находились 15,99 ± 11,87 месяца.

Основной причиной ЦП у 41 больного (44,6%) этой группы был вирусный гепатит, у 20 (21,7%) пациентов ЦП стал исходом алкогольной болезни печени, а у 14 (15,2%) – аутоиммунных заболеваний. Диагноз криптогенного цирроза был выставлен еще у 14 больных, причиной ЦП у 3 (3,3%) пациентов стали врожденные и обменные заболевания.

На основании данных лабораторного обследования было установлено, что у 49 (53,3%) больных индекс MELD не превышал 20 баллов, показатель MELD от 20 до 30 имели 29 (31,5%) пациентов, у 14 (15,2%) больных значение индекса превысило показатель в 30 баллов. В соответствии с классификацией тяжести ЦП по Child-Turcotte-Pugh больные относились к классу В и С, соответственно 5 (5,4%) и 87 (94,6%) наблюдений.

У 55 (59,8%) пациентов при эндоскопическом исследовании была установлена I и II степень ВРВ, III степень расширения вен имел 31 (33,7%) больной группы, IV – 6 (6,5%) человек.

Отягчающими факторами для 11 (12,0%) больных стала печеночная энцефалопатия с ее явными клиническими проявлениями. Кроме того, у 37 (40,2%) больных имел место резистентный асцит и гепаторенальный синдром, у 10 (10,9%) больных зарегистрировано порто-пульмональное шунтирование, в 4 (4,3%) случаях при доплерографии был выявлен тромбоз воротной вены.

Как отмечалось ранее, пациенты имели один эпизод кровотечения из ВРВ, что характеризовало лечебную тактику. Основным методом лечения больных стала терапия неселективными β-блокаторами, препараты получали 78 (84,8%) больных. К хирургическим методам, из которых было использовано только эндоскопическое лигирование, в этой группе прибегли только в 6 (6,5%) случаях. Иных мероприятий, направленных на предотвращение рецидива кровотечения или его остановку, не проводилось. Результатом такого подхода у 33 (35,9%) больных стали рецидивы варикозного кровотечения.

Сравнение показателей в основной и контрольной группе

При сравнении основных данных пациентов обеих групп было установлено, что ряд показателей имел статистически значимые различия ($p < 0,05$) (табл. 1). Это являлось свидетельством нашего предположения о более тяжелом исходном состоянии больных, имеющих рецидивы варикозных кровотечений. Показатель MELD, выраженность печеночной энцефалопатии, наличие тромбоза воротной вены, степень ВРВ и сам факт рецидива варикозных кровотечений оказали существенное влияние на показатель смертности больных в ЛО ТП.

Сравнение эффективности хирургических методик остановки и профилактики варикозного кровотечения

В ходе работы особый интерес представила оценка эффективности каждого использованного нами хирургического метода применительно к профилактике рецидива кровотечения из ВРВП и снижению смертности больных в ЛО ТП от него.

От процедуры эндоскопического лигирования ВРВ, которая была проведена 75 больным, стойкий эффект был достигнут только у 23 (30,7%) больных, у 52 пациентов потребовалось либо повторно лигировать варикозы, либо менять хирургическую тактику. Так, при неэффективности нескольких процедур лигирования ВРВ (1,83 ± 0,57) в течение первого года (6,13 ± 3,26 мес.) 6 (8,0%) больным было выполнено TIPS, в 7 (9,3%) случаях последовательно проведенных лигирований и TIPS в конечном итоге нам пришлось выполнить АПР, при этом для 2 (2,7%) пациентов АПР стало операцией выбора уже после второго-третьего эпизода кровотечения.

Из 33 пациентов, перенесших TIPS, в течение первого года (6,11 ± 3,08 мес.) методика была эффективна у 28 (84,8%) больных. Тромбоз шунта у 5 (15,2%) больных стал поводом к проведению одной процедуры ре-TIPS и операции АПР.

Как видно, операция АПР в череде хирургических манипуляций, проводимых для купирования варикоз-

Таблица 1

Сравнительная характеристика основных показателей в группах «случай» и «контроль»

Main indicators in «case» and «control» cohorts (comparative characteristics)

Показатель	Группы наблюдения		p
	«Случай» (n = 132)	«Контроль» (n = 92)	
Мужской пол	82 (62,1%)	51 (55,4%)	0,316
Возраст (лет)	49,52 ± 10,92	50,48 ± 10,38	0,504
Индекс MELD (балл)	22,78 ± 6,32	21,41 ± 7,16	0,010
Степень ПЭ (балл)	2,47 ± 0,76	2,20 ± 0,75	0,008
Степень асцита (балл)	2,16 ± 0,83	2,12 ± 0,82	0,725
Вирусный цирроз	68 (51,5%)	41 (44,6%)	0,307
Алкогольный цирроз	31 (23,5%)	20 (21,7%)	0,760
С класс Child-Pugh	126 (95,5%)	87 (94,6%)	0,762
Тромбоз воротной вены	27 (20,5%)	4 (4,3%)	0,001
Степень ВРВ	3,06 ± 0,72	2,40 ± 0,71	<0,001
Частота ВК	2,84 ± 1,49	1,00 ± 0,00	<0,001
Смерть в ЛО от ВК	32 (24,2%)	2 (2,2%)	<0,001
Листинг* (мес.)	17,14 ± 15,04	15,99 ± 11,87	0,524

Примечание. * – длительность нахождения в листе ожидания трансплантации печени. ВК – варикозное кровотечение.

Note. * – length of stay on the liver transplant waiting list. ВК – variceal bleeding.

ного кровотечения, становится финальным вмешательством, дающим шанс больному избежать повторного кровотечения, остаться живым и дождаться ТП. В качестве самостоятельной операции, преследовавшей цель остановить кровотечение, первично АПР было проведено только в одном случае, тогда как в 30 (96,8%) наблюдениях это вмешательство выполняли после неудач эндоскопического лигирования и TIPS.

В течение всего периода наблюдения за больными, которым было выполнено АПР, а в среднем это составило 28 месяцев (0,5–140,8), рецидив варикозного кровотечения был отмечен в 3 (9,7%) случаях, от 0,2 до 63,2 месяца наблюдения. Несмотря на очередной в жизни пациентов эпизод, они остались живы, в том числе и благодаря выполненной в максимально короткие сроки трансплантации печени.

Учитывая то, что кровотечение из ВРВ может рецидивировать, было изучено время его повторного появления при том или ином виде хирургического вмешательства (рис. 2). Проведенный анализ показал, что операция АПР позволяет отодвинуть срок возникновения рецидива, тем самым увеличить время нахождения больного в ЛО ТП.

Анализ двухгодичной смертности больных показал, что наибольшее число пациентов умирает при использовании в качестве метода остановки и профилактики варикозного кровотечения портосистемного шунтирования, в то же время применение АПР, как самостоятельно, так и в совокупности с прочими хирургическими вмешательствами, существенно снижает вероятность смертного исхода для больного (табл. 2).

В ходе анализа Каплана–Майера была дана оценка выживаемости больных. Функция дожития при созданной модели на двухлетний период нахождения в ЛО ТП отождествлялась с развитием рецидива кровотечения из ВРВП и следующего за ним летального исхода (рис. 3). Значимость различий между временем дожития в сравниваемых группах с использованием различных критериев показана в табл. 3.

Среднее прогнозируемое время жизни больных с кровотечением из ВРВП при использовании эндоско-

Таблица 2

Показатели двухгодичной смертности больных при различных способах хирургического лечения кровотечений из ВРВ

Two-year mortality in different methods of surgical treatment of bleeding varicose veins

Хирургическое вмешательство	Абс.	%
Эндоскопическое лигирование	8	21,6
TIPS	3	42,9
Азигопортальное разобщение	0	0
Эндоскопическое лигирование – TIPS	3	37,5
Эндоскопическое лигирование – АПР	2	16,7
Эндоскопическое лигирование – TIPS – АПР	0	0

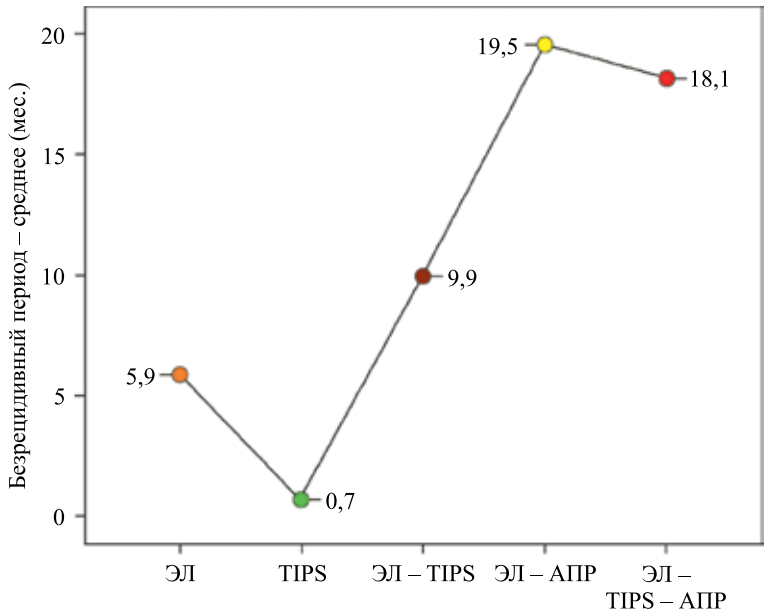

Рис. 2. Среднее время возникновения рецидива варикозного кровотечения. Однофакторный дисперсионный анализ. Период наблюдения – 24 месяца. Статистика Уэлч: значение – 8,764; p = 0,001. ЭЛ – эндоскопическое лигирование; TIPS – трансъюгулярное портосистемное шунтирование; АПР – азигопортальное разобщение

Fig. 2. Average time of variceal bleeding recurrence. One-way analysis of variance. Twenty-four months follow-up. Welch's t-test: value – 8.764; p = 0.001. ЭЛ – endoscopic ligation; TIPS – transjugular intrahepatic portosystemic shunt; АПР – azygoportal dissociation

Таблица 3

Оценка различий времени дожития

Estimation of survival time differences

Критерий	Хи-квадрат	Степени свободы	Значимость
Log Rank (Mantel-Cox)	11,270	5	0,046
Breslow (Generalized Wilcoxon)	10,449	5	0,063
Tarone-Ware	11,617	5	0,040

пического лигирования составляет 15,2 месяца, при TIPS – 14,3 месяца. В случае применения на первом этапе остановки кровотечения метода эндоскопического лигирования, а затем TIPS или АПР среднее время жизни достигает 20,6 и 20,7 месяца соответственно. При использовании всех рассмотренных нами хирургических методов среднее время жизни больных составит 19,9 месяца.

Таким образом, использование хирургических методов для остановки и профилактики рецидива кровотечений, безусловно, увеличивает время жизни больных в ЛО ТП: 19,9 месяца при хирургическом лечении против 12,9 месяца без операции (Log Rank (Mantel-Cox): хи-квадрат – 9,399; p = 0,002). Значительная часть больных в ближайшие два года не умрут от кровотечения, что даст им шанс перейти к следующему этапу лечения основного заболевания – трансплантации печени.

ОБСУЖДЕНИЕ

Тяжесть состояния пациента, и как следствие, статус неотложности трансплантации, несомненно, определяют показатель MELD. Но для достижения большей объективности отбора, в особенности при наличии рецидивирующих кровотечений из ВРВП, каждый клинический случай, на наш взгляд, должен оцениваться в отдельности.

Для объективной оценки тяжести состояния больного дополнительно к MELD необходимо учитывать степень ВРВ, количество эпизодов кровотечений, выраженность печеночной энцефалопатии, наличие тромбоза воротной вены. В свою очередь, концепция терапевтической профилактики требует разработки четких критериев назначения неселективных β-блокаторов, так как их нерациональное использование может оказывать негативное влияние на результаты лечения больных.

Гарантией долгосрочного ведения пациентов в листе ожидания трансплантации печени является не только посиндромная терапия, но и своевременная профилактика и лечение кровотечений из ВРВП. С точки зрения хирургической остановки кровотечения из вариксов и его профилактики преимущество имеют пациенты с выполненным оригинальным способом АПР. В 12 случаях (38,7%) у больных достигнута стойкая ремиссия, 7 пациентов (22,6%) были выведены из листа ожидания ввиду положительной динамики в течении заболевания.

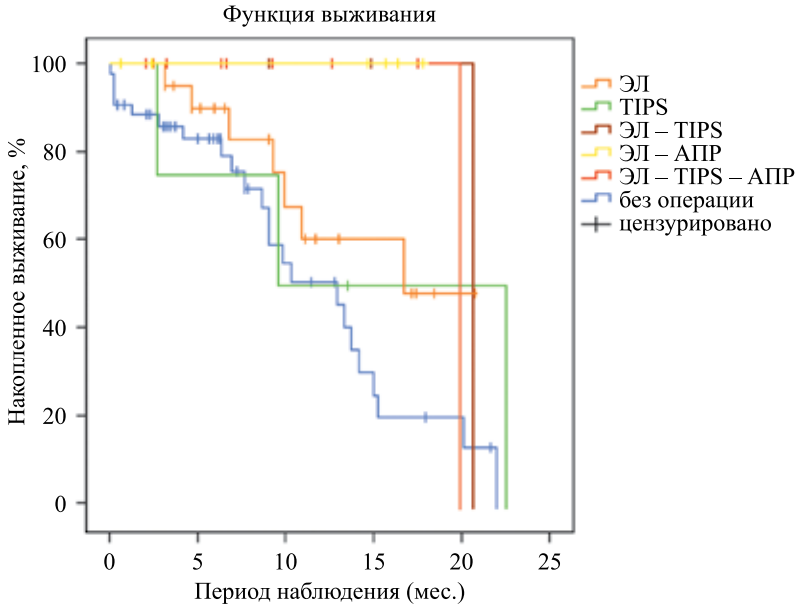

Рис. 3. Кривые выживаемости при различных способах остановки и профилактики кровотечений из ВРВ с использованием log-rank-критерия. ЭЛ – эндоскопическое лигирование ВРВ; TIPS – трансъюгулярное портосистемное шунтирование; АПР – азигопортальное разобщение

Fig. 3. Survival curves for various surgical methods of stopping and preventing bleeding varicose veins using the log-rank criterion. ЭЛ – endoscopic ligation of VRV; TIPS – transjugular portosystemic shunting; АПР – azygoportal dissociation

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ и оценка результатов применения основных способов остановки и профилактики кровотечений из ВРВ у больных циррозом, находящихся в ЛО ТП, показал, что рецидив кровотечений возникает в первую очередь у тех пациентов, в отношении которых прослеживается пассивная хирургическая тактика. Обязательным условием снижения смертности в ЛО ТП является своевременность и адекватность лечебных мероприятий и систематический клинико-диагностический мониторинг.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Karatzas A, Konstantakis C, Aggeletopoulou I, Kalogeropoulou C, Thomopoulos K, Triantos C.* Non-invasive screening for esophageal varices in patients with liver cirrhosis. *Ann Gastroenterol*. 2018; 31 (3): 305–314. https://doi.org/10.20524/aog.2018.0241.
2. Korean Association for the Study of the Liver (KASL). KASL clinical practice guidelines for liver cirrhosis: Varices, hepatic encephalopathy, and related complications. *Clin Mol Hepatol*. 2020; 26 (2): 83–127. https://doi.org/10.3350/cmh.2019.0010n.
3. *Biecker E.* Gastrointestinal bleeding in cirrhotic patients with portal hypertension. *ISRN Hepatol*. 2013; 2013: 541836. Published 2013 Jul 22. https://doi.org/10.1155/2013/541836.
4. *Mallet M, Rudler M, Thabut D*. Variceal bleeding in cirrhotic patients. *Gastroenterol Rep* (Oxf). 2017; 5 (3): 185–192. doi: 10.1093/gastro/gox024.
5. *Маломуж ОИ, Крель ПЕ, Готье СВ, Цирульникова ОМ и др.* Прогноз у больных с хроническими заболеваниями печени при определении показаний к ортотопической трансплантации печени. *Терапевтический архив*. 2009; 81 (2): 45–49. *Malomuzh OI, Kpel' PE, Gautier SV, Tsipul'nikova OM et al*. Prognosis for patients with chronic diseases of the liver in formulating indications to orthotopic liver transplantation. *Terapevticheskii arkhiv*. 2009; 81 (2): 45–49. (In Russ.).
6. *Seo YS*. Prevention and management of gastroesophageal varices. *Clin Mol Hepatol*. 2018; 24 (1): 20–42. https://doi.org/10.3350/cmh.2017.0064.
7. *Boregowda U, Umapathy C, Halim N et al.* Update on the management of gastrointestinal varices. *World J Gastrointest Pharmacol Ther*. 2019; 10 (1): 1–21. https://doi.org/10.4292/wjgpt.v10.i1.1.
8. *Онницев ИЕ, Бугаев СА, Ивануса СЯ и др.* Профилактика рецидива кровотечения из варикозных вен пищевода и желудка у пациентов с декомпенсированным циррозом печени. *Казанский мед. ж*. 2019; 100 (2): 333–339. *Onnitsev IE, Bugaev SA, Ivanusa SYa et al.* Prevention of recurrent bleeding from varicose veins of the esophagus and stomach among patients with decompensated liver cirrhosis. *Kazan medical journal*. 2019; 100 (2): 333–339. (In Russ.). https://doi.org/10.17816/KMJ2019-333.
9. *Zanetto A, Garcia-Tsao G.* Management of acute variceal hemorrhage. *F1000Res*. 2019; 8: F1000 Faculty Rev-966. Published 2019 Jun 25. https://doi.org/10.12688/f1000research.18807.1.
10. *Yang L, Yuan LJ, Dong R et al.* Two surgical procedures for esophagogastric variceal bleeding in patients with portal hypertension. *World J Gastroenterol*. 2013; 19 (48): 9418–9424. https://doi.org/10.3748/wjg.v19.i48.9418.
11. *Coelho FF, Perini MV, Kruger JA et al.* Management of variceal hemorrhage: current concepts. *Arq Bras Cir Dig*. 2014; 27 (2): 138–144. https://doi.org/10.1590/s0102-67202014000200011.
12. EASL Clinical Practice Guidelines: Liver transplantation. *J Hepatol*. 2016 Feb; 64 (2): 433–485. https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.10.006.
13. *Toniutto P, Zanetto A, Ferrarese A et al.* Current challenges and future directions for liver transplantation. *Liver Int*. 2017; 37 (3): 317–327. https://doi.org/10.1111/liv.13255.
14. *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 (1): 113. Published 2018 Aug 1. https://doi.org/10.1186/s12916-018-1110-y.
15. *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 на изобретение RU 2412657 C1, 27.02.2011. Заявка № 2009128518/14 от 23.07.2009. *Korobka VL, Shapovalov AM, Danil'chuk OYa, Korobka RV*. Sposob khirurgicheskogo lecheniya i profilaktiki retsidiva krovotecheniy pri varikoznom rasshirenii ven pishchevoda i kardial'nogo otdela zheludka. Patent na izobretenie RU 2412657 C1, 27.02.2011. Zayavka № 2009128518/14 ot 23.07.2009.

Статья поступила в редакцию 31.08.2020 г.
The article was submitted to the journal on 31.08.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-4-65-68

КЛИНИКО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ СКВОЗНОЙ КЕРАТОПЛАСТИКИ В КОРОЛЕВСТВЕ ИОРДАНИЯ. ОПЫТ ОДНОГО ЦЕНТРА

М.А. Танаш[1], М.А. Фролов[1], П.А. Гончар[1], Г.Н. Душина[1], Л.Т. Абабнех[2]

[1] ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Российская Федерация
[2] Иорданский научно-технологический университет, Больница научно-технологического университета имени короля Абдуллы, Ирбид, Иордания

Цель: Определить показания для проведения сквозной кератопастики (СКП) в Королевстве Иордания и оценить ее клинико-функциональные результаты. **Материалы и методы.** С 1 января 2010 года по 31 декабря 2018 года 213 пациентов перенесли сквозную кератопластику в офтальмологическом отделении Университетской больницы им. короля Абдуллы в Иордании (KAUH): 196 (92,2%) были прооперированы на одном глазу и 17 (8,8%) – на оба глаза. Обследование для всех пациентов включало проверку максимальной корригированной остроты зрения (МКОЗ) с помощью таблицы Снеллена и ее сравнение с МКОЗ до операции, биомикроскопию переднего отрезка глаза, аппланационную тонометрию. **Результаты.** В исследуемой группе наиболее частой причиной выполнения СКП был кератоконус – 154 пациента (73,2%). Средняя максимально корригированная острота зрения для всех пациентов улучшилась с 0,08 до операции до 0,25 после операции. **Заключение.** Данное исследование показало, что кератоконус являлся наиболее частым показанием для проведения сквозной кератопластики как у мужчин – 97 (71,3%, $p < 0,05$), так и у женщин – 57 (74%, $p < 0,05$) для СКП в Королевстве Иордания. Сквозная кератопластика является эффективным методом лечения различных патологий роговицы.

Ключевые слова: трансплантация роговицы, показание, сквозная кератопластика, кератоконус.

CLINICAL AND FUNCTIONAL FEATURES OF PENETRATING KERATOPLASTY IN THE KINGDOM OF JORDAN. A SINGLE-CENTER EXPERIENCE

M.A. Tanash[1], M.A. Frolov[1], P.A. Gonchar[1], G.N. Dushina[1], L.T. Ababneh[2]

[1] Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation
[2] Jordan University of Science and Technology, King Abdullah University Hospital, Irbid, Jordan

Objective: to determine the indications for penetrating keratoplasty (PK) in the Kingdom of Jordan and evaluate its clinical and functional outcomes. **Materials and methods.** 213 patients underwent PK at the ophthalmology department of King Abdullah University Hospital (KAUH) in Jordan from January 1, 2010 to December 31, 2018. While 196 (92.2%) patients were operated on in one eye, 17 (8.8%) underwent PK in both eyes. For all patients, the best corrected visual acuity (BCVA) was checked using the Snellen table and compared with the BCVA before surgery; biomicroscopy of the anterior segment of the eye, as well as applanation tonometry, were carried out. **Results.** Keratoconus was found to be the most common indication for PK – 154 patients (73.2%). For all patients, the BCVA improved from 0.08 before surgery to 0.25 after surgery. **Conclusion.** Keratoconus is the most common indication for PK in both men (97, 71.3%, $p < 0.05$) and women (57, 74%, $p < 0.05$) in the Kingdom of Jordan. PK is an effective method for treating various corneal disorders.

Keywords: corneal transplantation, indications, penetrating keratoplasty, keratoconus.

Для корреспонденции: Танаш Мохаммед Ахмед Мустафа. Адрес: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 21, корпус 3. Тел. (985) 199-69-24. E-mail: dr.mohammedtanash@gmail.com

Corresponding author: Mohammed Tanash. Address: 21/3, Miklukho-Maklaya str., Moscow, 117198, Russian Federation. Phone: (985) 199-69-24. E-mail: dr.mohammedtanash@gmail.com

ВВЕДЕНИЕ

Заболевания органа зрения являются одной из важнейших экономических и социальных проблем во всем мире. Так, по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), глобальной причиной потери зрения является помутнение роговицы, составляющее 5,1% от всех случаев слепоты – это примерно 1,9 миллиона человек [1].

Предполагается, что односторонним поражением роговицы страдает около 23 миллионов человек по всему миру [2]. К распространенным патологиям, ведущим к потере зрения, относятся: кератоконус, трахома, онхоцеркоз, неонатальный конъюнктивит и кератомаляция как результат дефицита витамина А [1].

Основным вмешательством, позволяющим восстановить структуру роговицы и улучшить зрение подобным пациентам, является сквозная кератопластика. Данная операция представляет собой замену патологической роговицы донорской [3].

Впервые успешная сквозная кератопластика была проведена Эдуардом Конрадом Цирмом в 1905 году. Он выполнил пересадку донорского трансплантата человеку. Так была решена одна из основных проблем офтальмологии того времени – помощь пациентам с двусторонним бельмом роговицы. «Это был луч света, прорезавший мрак уныния», – позднее отметил выдающийся советский офтальмохирург В.П. Филатов [4].

Узнав об успехе проведенной СКП, многие исследователи по всему миру стали определять все новые и новые показания для подобного вмешательства [5–9]. Такими состояниями стали: кератоконус, псевдофокальная буллезная кератопатия, рубцы, перфорации роговицы, последствия кератита, трахоматическая кератопатия, являющаяся серьезной проблемой для определенных регионов [1, 10].

Одним из самых серьезных осложнений являлось отторжение донорской ткани. Эта проблема впоследствии была решена путем проведения повторной СКП с предоперационным типированием гистосовместимости донора и реципиента по системе HLA [11].

Все вышеперечисленные состояния имеют глобальную распространенность и сходную клиническую симптоматику – тотальное помутнение роговицы, требующее ее замены.

В некоторых регионах, являющихся эндемичными по определенным заболеваниям, число проведенных СКП довольно высоко. Так, в Королевстве Иордания за последние 10 лет количество операций составило 10 548.

Цель данного исследования – определить показания для проведения сквозной кератопластики (СКП) в Королевстве Иордания и оценить ее клинико-функциональные результаты.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Ретроспективно проанализированы данные пациентов офтальмологического отделения Университетской больницы им. короля Абдуллы в Иордании (KAUH), перенесших СКП с 1 января 2010 года по 31 декабря 2018 года. Перед исследованием было получено разрешение совета по институциональному контролю (IRB) при KAUH (ссылка 13/3/122). В анализ вошли 213 пациентов (136 мужчин и 77 женщин), их возраст от 14 до 97 лет (46,6 ± 19,6). Данные получены из ежегодного статистического отчета глазного банка (Jordan Eye Bank) Иорданского университета.

Залогом успеха СКП является качество донорского материала. По данным ежегодных отчетов, за последнее десятилетие значительно увеличилось количество доноров роговицы за счет реализации программ, направленных на повышение осведомленности населения. Эти программы регулярно публикуются в интернете в свободном доступе.

Были приняты во внимание следующие социально-демографические признаки: пол, возраст, семейное положение, уровень образования, характер деятельности (наличие вредных факторов, влияющих на орган зрения), а также имеющиеся сопутствующие заболевания, в том числе наследственного характера, и генетические дефекты, отягощающие течение глазной патологии.

Дальнейшее обследование для всех пациентов включало проверку максимальной корригированной остроты зрения (МКОЗ) с помощью таблицы Снеллена и ее сравнение с МКОЗ до операции, биомикроскопию переднего отрезка глаза, аппланационную тонометрию (при отсутствии противопоказаний) и кератотопографию на аппарате Pentacam (OCULUS Optikgeräte GmbH). Для анализа данных использовалось программное обеспечение SPSS (SPSS, Inc., Чикаго, Иллинойс, США). Значения $p < 0,05$ считались статистически значимыми.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Характеристика клинического материала: 213 пациентов, из них 196 (92,2%) перенесли сквозную кератопластику на одном глазу и 17 (8,8%) – на обоих.

В исследование вошли 136 мужчин (63,8%) и 77 женщин (36,2%). По данным проведенного исследования, кератоконус был наиболее частой причиной, являющейся показанием для проведения сквозной кератопластики как у мужчин (71,3%, $p < 0,05$), так и у женщин (74%, $p < 0,05$). Второе место по частоте заняли помутнения роговицы вследствие перенесенной вирусной инфекции и дистрофий. Далее по убыванию следовали травмы и ожоги глаз различной степени тяжести, предыдущие отторжения транс-

плантата, наименьший процент составили пациенты с синдромом Стивена–Джонсона (табл.).

Перед сквозной кератопластикой пациенты имели разную остроту зрения в корреляции с возрастом: от правильной светопроекции до 0,5 (среднее значение 0,08). Эти результаты представлены на рис. 1.

После сквозной кератопластики отмечалось повышение остроты зрения. Средняя МКОЗ после операции в корреляции с возрастом у этих пациентов составила от 0,05 до 1,0 (среднее значение 0,25). Результаты приведены на рис. 2.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время сквозная кератопластика является единственной возможной операцией при многих патологических состояниях роговицы. Одна из таких патологий – кератоконус при далеко зашедшей и запущенной стадии с изменениями во всех слоях роговицы (классификация M. Amsler в модификации J. Krumeich 1998), а также такие ургентные состояния, как язвы роговицы с перфорацией [12].

Установлено, что в результате применения сквозной кератопластики удается получить прозрачное приживление трансплантата в 93%, стабильность которого составляет 60%.

Ежегодные статистические данные иорданского глазного банка показывают, что в Иордании, стране, эндемичной по кератоконусу, число операций сквозной кератопластики увеличилось. Это обусловлено ростом количества доноров роговицы, что привело к уменьшению очереди на данный вид медицинской помощи [13].

Таблица

Показания к СКП с распределением по гендерному принципу

Indications for penetrating keratoplasty by gender

Показания	Мужчины	Женщины	Итог	
			n	%
Кератоконус	97	57	154	72,3
Герпетическая кератопатия	9	6	15	7
Отторжение трансплантата	11	4	15	7
Травма	10	4	14	6,7
Дистрофии роговицы	8	2	10	4,7
Грибковый кератит	1	3	4	1,8
Синдром Стивенса–Джонсона	0	1	1	0,5
Итог	136	77	213	100%

Более того, в двух параллельных независимых исследованиях, проведенных Gharaibeh et al. и Altay et al., было отмечено, что наиболее распространенным показанием к пересадке роговицы является кератоконус, что полностью соответствует данным проведенного нами исследования и составляет 72,3% [14,9]. По данным Yorston et al., сквозная кератопластика также может быть методом лечения кератоконуса и различных дистрофий роговицы на Африканском континенте [15].

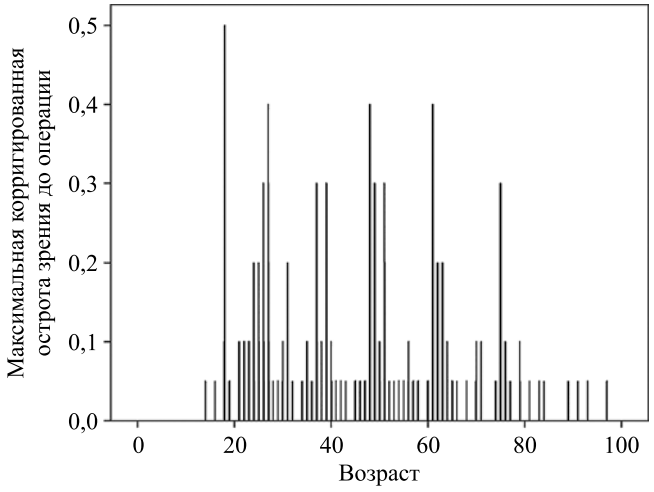

Рис. 1. Сравнительная характеристика максимальной корригированной остроты зрения до проведения СКП у разных возрастных групп

Fig. 1. Comparative characteristics of the best corrected visual acuity before penetrating keratoplasty in different age groups

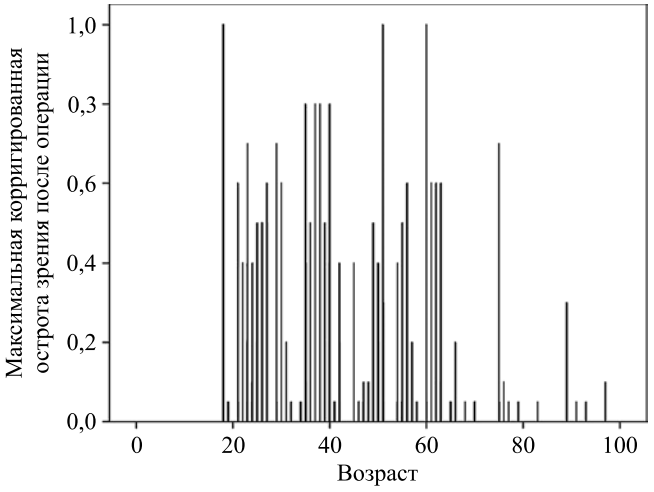

Рис. 2. Сравнительная характеристика максимальной корригированной остроты зрения после проведения СКП у разных возрастных групп

Fig. 2. Comparative characteristics of the best corrected visual acuity after penetrating keratoplasty in different age groups

Наши данные определили высокую эффективность сквозной кератопластики при различных патологиях роговицы, которые обосновываются улучшением остроты зрения в 3 раза – с 0,08 до 0,25. Эти данные вполне коррелируют с результатами, полученными авторами Viera et al. из университетской больницы Бразилии, показывающими, что сквозная кератопластика является золотым стандартом хирургического лечения кератоконуса [16].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наше исследование показало, что кератоконус является наиболее распространенным показанием к сквозной кератопластике в Иордании и составляет 72,3%. Сквозная кератопластика представляет собой эффективный метод лечения различных патологий роговицы, значительно улучшающий остроту зрения. Организация офтальмологической помощи в Иордании обеспечивает высокий процент пересадок роговицы ввиду доступности донорского материала и наличия квалифицированных специалистов.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Burton M.* Corneal Blindness; Prevention, treatment, and rehabilitation. *Comm Eye Health*. 2009; 22: 33–35. Retrieved from http://www.cehjournal.org/wpcontent/uploads/corneal-blindness.pdf.
2. *Oliva MS, Schottman T, Gulati M.* Turning the tide of corneal blindness. *Indian J Ophthalmol*. 2012 Sep-Oct; 60: 423–427. doi: 10.4103/0301-4738.100540.
3. *Koplin RS, Wu EI, Ritterband DC, Seedor JA.* Corneal Transplantation: Penetrating Keratoplasty. In The Scrub's Bible. New York, NY: Springer, 2013. doi: https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5644-5_26.
4. *Zirm EK.* Eine erfolgreiche totale keratoplastik (A successful total keratoplasty). *Refract Corneal Surg.* 1906; 5 (4): 258–261.
5. *Zare M, Javadi MA, Einollahi B, Karimian F, Rafie AR, Feizi S, Azimzadeh A.* Changing indications and surgical techniques for corneal transplantation between 2004 and 2009 at a tertiary referral center. *Middle East Afr J Ophthalmol*. 2012; 19: 323–329. doi: 10.4103/0974-9233.97941.
6. *Tan DT, Janardhanan P, Zhou H, Chan YH, Htoon HM, Ang LP, Lim LS.* Penetrating keratoplasty in Asian eyes: the Singapore Corneal Transplant Study. *Ophthalmology*. 2008; 115: 975–982. doi: 10.1016/j.ophtha.2007.08.049.
7. *Zhang C, Xu J.* Indications for penetrating keratoplasty in East China, 1994–2003. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2005; 243: 1005–1009. doi: 10.1007/s00417-005-1167-0.
8. *Majander A, Kivelä TT, Krootila K.* Indications and outcomes of keratoplasties in children during a 40-year period. *Acta Ophthalmol*. 2016; 94: 618–624. doi: 10.1111/aos.13040.
9. *Altay Y, Burcu A, Aksoy G, Ozdemir ES, Ornek F.* Changing indications and techniques for corneal transplantations at a tertiary referral center in Turkey, from 1995 to 2014. *Clin Ophthalmol*. 2016; 10: 1007–1013. doi: 10.2147/OPTH.S102315.
10. *Flores VG, Dias HL, de Castro RS.* Penetrating keratoplasty indications in «Hospital das Clínicas-UNICAMP». *Arq Bras Oftalmol*. 2007; 70: 505–508. doi: 10.1590/s0004-27492007000300020.
11. *Труфанов СВ, Суббот АМ, Маложен СА, Крахмалева ДА, Саловарова ЕП.* Реакция тканевой несовместимости после трансплантации роговицы. *Офтальмология*. 2017; 14 (3): 180–187. *Trufanov SV, Subbot AM, Malozhen SA, Krakhmaleva DA, Salovarova EP*. Corneal Graft Rejection after Keratoplasty. *Ophthalmology in Russia*. 2017; 14 (3): 180–187. [In Russ, English abstract]. doi: 10.18008/1816-5095-2017-3-180-187.
12. *Krumeich JH, Daniel J, Knulle A.* Live-epikeratophakia for keratoconus. *J Cataract Refract Surg*. 1998; 24: 456–463. doi: 10.1016/s0886-3350(98)80284-8.
13. www.eyebank.com.jo [Internet]. Jordan, Amman: Jordan Eye Bank, [cited 2019 Oct 9]. Available from: http://www.eyebank.com.jo/.
14. *Gharaibeh A, Atasi M, Alfoqahaa M, AbuKhader I.* Visual outcome of allogenic penetrating keratoplasty. *Jordan Med J*. 2017; 51 (4): 147–157. https://journals.ju.edu.jo/JMJ/article/view/100898.
15. *Yorston D, Wood M, Foster A.* Penetrating keratoplasty in Africa: graft survival and visual outcome. *Br J Ophthalmol*. 1996; 80: 890–894. doi: 10.1136/bjo.80.10.890.
16. *Vieira Silva J, Júlio de Faria e Sousa S, Mafalda Ferrante A.* Corneal transplantation in a developing country: problems associated with technology transfer from rich to poor societies. *Acta Ophthalmol Scand*. 2006; 84: 396–400. doi: 10.1111/j.1600-0420.2006.00663.x.

Статья поступила в редакцию 26.12.2019 г.
The article was submitted to the journal on 26.12.2019

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-4-69-74

ОСОБЕННОСТИ ВЕДЕНИЯ РЕЦИПИЕНТОВ ПОЧЕЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА С НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ COVID-19

О.Н. Котенко[1], Л.Ю. Артюхина[1], Н.Ф. Фролова[1], Е.С. Столяревич[1–3]

[1] ГБУЗ «ГКБ № 52 Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва, Российская Федерация
[2] ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация
[3] ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

Пандемия COVID-19 повлекла за собой глобальные последствия, обусловленные широким распространением инфекции в мире, отсутствием в настоящее время доказанной эффективной терапии, резистентностью к проводимому лечению у значительной части заболевших и, как следствие, значительной летальностью, особенно в группах высокого риска. Одной из наиболее проблемных категорий больных являются реципиенты почечного трансплантата с коронавирусной пневмонией. Данная когорта больных имеет серьезный прогноз заболевания с учетом совокупности факторов риска: длительной иммуносупрессии, коморбидного фона больных, последствий хронической болезни почек. Трудности ведения трансплантированных пациентов с COVID-19 также обусловлены ограничением применения лекарственных препаратов из-за неблагоприятных межлекарственных взаимодействий. **Целью исследования** было проанализировать течение заболевания COVID-19 у пациентов, перенесших трансплантацию органов, и оценить факторы, влияющие на прогноз заболевания, оптимизировать подходы к лечению этих больных. **Материалы и методы.** За период с 15.04.20 по 15.06.20 в стационаре нашей клиники было пролечено 68 человек (38 мужчин и 30 женщин). Средний возраст составил 49,7 ± 9,2 года (от 22 до 70 лет). Диагноз COVID-19 был верифицирован методом ПЦР. По данным МСКТ во всех случаях выявлялось характерное поражение легких различной степени тяжести. **Результаты**. Из 68 человек 61 (89,8%) был выписан с выздоровлением, 7 пациентов умерли. Таким образом, летальность составила 10,2%. Этот показатель не зависел от возраста и пола. В первую очередь, летальность зависела от тяжести легочного поражения: при КТ4 составила 43% (3/7), при КТ3 – 11,1% (4/36), у пациентов с КТ2 летальных исходов не было. Среди пациентов, получавших ИВЛ, летальность составила 100%. Важным прогностическим фактором оказалась также выраженность дисфункции трансплантата: при умеренной дисфункции этот показатель составил 8% (5/63), тогда как при выраженной дисфункции он был равен 40% (2 из 5). Помимо этого, более тяжелый прогноз отмечался у пациентов в ранние сроки после АТП: у 5 пациентов из 7 умерших от COVID-19 (71%) срок после АТП составлял менее года. Летальность у этой категории пациентов составила 24%, тогда как в сроки от 1 до 5 лет этот показатель был равен 13,6%, а среди пациентов со сроком после АТП более 5 лет летальных исходов не отмечалось. Всем пациентам проводилась антибактериальная (левофлоксацин либо азитромицин) и противовирусная (гидроксихлорохин) терапия. Во всех случаях проводилось изменение базисной ИСТ, включавшее отмену препаратов микофеноловой кислоты, минимизацию дозы ингибиторов кальциневрина (целевая концентрация 1,5–3 нг/мл для такролимуса и 30–50 нг/мл для циклоспорина) и повышение дозы преднизолона на 5 мг относительно текущей дозировки. В 78% случаев проводилась патогенетическая терапия антиинтерлейкиновыми моноклональными антителами (преимущественно тоцилизумабом). Этим пациентам также вводился внутривенный иммуноглобулин в средней дозе 10 г. При тяжелом течении COVID-19, сопровождавшемся в 22% случаев клинико-лабораторными признаками тромботической микроангиопатии, проводились сеансы плазмообмена и/или инфузии свежезамороженной плазмы и коррекция дозы низкомолекулярных гепаринов. **Выводы.** Пневмония, индуцированная COVID-19, у пациентов после трансплантации почки характеризуется высоким риском прогрессирования легочного процесса и дыхательной недостаточности. Летальность при COVID-19 не зависит от пола и возраста, однако коррелирует

Для корреспонденции: Артюхина Людмила Юрьевна. Адрес: 123182, Москва, ул. Пехотная, д. 3.
Тел. (916) 882-42-21. E-mail: arlyu-1404@yandex.ru

Corresponding author: Lyudmila Artyukhina. Address: 3, Pekhotnaya str., Moscow, 123182, Russian Federation.
Phone: (916) 882-42-21. E-mail: arlyu-1404@yandex.ru

со сроком после трансплантации, тяжестью пневмонии и выраженностью дисфункции РАТ. Перевод на ИВЛ сопряжен с крайне неблагоприятным прогнозом заболевания.

Ключевые слова: новая коронавирусная инфекция COVID-2019, пневмония, аллотрансплантация почки, почечный трансплантат.

CLINICAL COURSE AND APPROACHES TO THERAPY IN KIDNEY TRANSPLANT RECIPIENTS WITH THE NOVEL COVID-19 DISEASE

O.N. Kotenko[1], L.Yu. Artyukhina[1], N.F. Frolova[1], E.S. Stolyarevich[1–3]

[1] Moscow City Hospital 52, Moscow, Russian Federation
[2] Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russian Federation
[3] Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation

The COVID-19 pandemic has had global consequences due to the wide spread of the infection in the world, lack of currently proven effective therapy, resistance to treatment in a significant proportion of those affected and, as a result, high mortality, especially among high-risk groups. Kidney transplant recipients with coronavirus-induced pneumonia are among the most problematic categories of patients. This patient cohort experiences a severe form of the disease, taking into account a combination of risk factors, such as long-term immunosuppression, comorbid background of patients, and consequences of chronic kidney disease. Difficulties in the management of recipients with COVID-19 are also down to the limitation of the use of drugs due to adverse drug-drug interactions. **Objective:** to analyze the course of COVID-19 disease in organ recipients, to assess the factors influencing the prognosis of the disease, and to optimize approaches to treatment of these patients. **Materials and methods.** During the period from April 15, 2020 to June 15, 2020, 68 people (38 men and 30 women) were hospitalized at our clinic. Their average age was 49.7 ± 9.2 years (22 to 70 years). COVID-19 diagnosis was verified by PCR. Multispiral computed tomography (MSCT) scans showed that in all cases, there were characteristic lung lesions of varying degrees of severity. **Results.** Out of the 68 people treated, 61 (89.8%) were discharged with recovery, 7 patients died. So, the mortality rate was 10.2%. This indicator did not depend on age and gender. First of all, mortality depended on the severity of lung lesions: at CT4 it was 43% (3/7), at CT3 – 11.1% (4/36), there were no deaths in patients with CT2. There was a 100% mortality among patients who received mechanical ventilation. Severity of graft dysfunction was also an important prognostic factor: with moderate dysfunction, this indicator was 8% (5/63), while with severe dysfunction it was 40% (2 out of 5). Besides, a more severe prognosis was observed in patients in the early post-transplant period: 5 patients out of the 7 who died of COVID-19 (71%) lived for less than a year after kidney allotransplantation (ATP). Mortality in this category of patients was 24%, while in the period from 1 to 5 years, this indicator was 13.6%; no deaths were recorded among patients with a period of over 5 years after ATP. All patients received antibacterial (levofloxacin or azithromycin) and antiviral (hydroxychloroquine) therapy. In all cases, the baseline immunosuppressive therapy (IST) was changed, including withdrawal of mycophenolic acid preparations, minimization of the calcineurin inhibitor dose (target concentration 1.5–3 ng/mL for tacrolimus and 30–50 ng/mL for cyclosporine), and increase in prednisolone dose by 5 mg relative to the current one. About 78% of cases received pathogenetic therapy with anti-interleukin monoclonal antibodies (mainly tocilizumab). These patients also received intravenous immunoglobulin at 10 g average dose. In severe COVID-19 accompanied in by clinical and laboratory signs of thrombotic microangiopathy 22% of cases, plasma exchange sessions and/or infusion of fresh frozen plasma and dose adjustment of low molecular weight heparins were performed. **Conclusions.** COVID-19-induced pneumonia in kidney transplant recipients is characterized by a high risk of progressive lung damage and respiratory failure. Mortality in COVID-19 is independent of gender and age, but correlates with post-transplantation period, severity of pneumonia, and severity of graft dysfunction. The need for mechanical ventilation is associated with an extremely unfavorable prognosis of the disease.

Keywords: COVID-19, pneumonia, kidney allotransplantation, kidney graft.

ВВЕДЕНИЕ

Новая коронавирусная инфекция 2019 года COVID-19 (SARS-CoV-2) была объявлена пандемией [2] и повлекла за собой глобальные последствия, обусловленные широким распространением инфекции в мире, отсутствием в настоящее время доказанной эффективной терапии, резистентностью к проводимому лечению у значительной части заболевших, и как следствие, высокой летальностью во всем мире. Наиболее серьезную угрозу COVID-19 представляет у пациентов в группах высокого риска. Одной из наиболее проблемных категорий больных являются реципиенты почечного трансплантата с коронавирусной пневмонией. Предполагается, что иммуносупрессия ухудшает течение заболевания, усугубляя тяжесть процесса, характеризуется быстрым прогрессированием вирусной инфекции до пневмонии у реципиентов трансплантата органов. Оптимальные терапевтические подходы в настоящее время не разработаны и являются актуальнейшей проблемой и предметом дискуссий самых различных специалистов. Серьезность прогноза заболевания у данной когорты больных определяется также выраженным коморбидным фоном (сахарный диабет, артериальная гипертензия, сердечно-сосудистая патология, последствия хронической болезни почек и патогенетической терапии) у подавляющего числа реципиентов почечного трансплантата. Трудности ведения трансплантированных пациентов с COVID-19 также обусловлены ограничением применения лекарственных препаратов из-за неблагоприятных межлекарственных взаимодействий.

В настоящее время масштабные публикации по наблюдению данной группы пациентов отсутствуют и ограничиваются регистрацией серий случаев на различных клинических базах. Согласно данным самых крупных серий, зарегистрированных на сегодняшний день в Европе и США, смертность составляла от 23 до 28% [1, 5–8] против 5% летальности в общей популяции пациентов, инфицированных COVID-19, [5] и выше летальности от COVID-19 среди госпитализированных тяжелых не трансплантированных пациентов, которая составляет 21% [9]. Интересно, что ни одна из серий не сообщала об остром отторжении и потере трансплантата в результате снижения иммуносупрессии [1, 5–8]. В литературе описываются различные стратегии ведения иммуносупрессивной терапии, основанные на поэтапном снижении иммуносупрессии в зависимости от тяжести заболевания.

Основной патогенетический механизм тяжелого легочного повреждения и развития «цитокинового шторма» приписывается дезадаптивному иммунному ответу, что особенно актуально у иммуноскомпрометированных трансплантированных пациентов. Лечение COVID-19 основано на противовирусных препаратах, ингибирующих пролиферацию SARS-CoV-2, и на иммуномодулирующих препаратах, которые ингибируют «цитокиновый шторм», вызывающий острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) и угрожающую жизни дыхательную недостаточность [3, 4]. Тоцилизумаб в настоящее время является наиболее популярным методом лечения, используемым для противодействия гиперинфляторному синдрому, вызывающему респираторный компрометирующий эффект [1, 10]. Также в последнее время все большее внимание в патогенезе уделяется повреждению эндотелиальных клеток сосудов, которое может быть причиной тромботических микроангиопатий (ТМА). В связи с этим все больше появляется публикаций по применению плазмообмена, инфузий плазмы и экулизумаба при лечении тяжелых случаев COVID-19, осложненных ТМА [11–14].

Наше исследование было направлено на изучение особенностей ведения в стационаре пациентов с трансплантированной почкой и пневмонией, вызванной SARS-CoV-2. В данное исследование мы включили госпитализированных реципиентов почечного трансплантата с верифицированной новой коронавирусной инфекцией, пневмонией (методами ПЦР, МСКТ). Целью исследования было проанализировать течение заболевания COVID-19 у пациентов, перенесших трансплантацию органов, и оценить факторы, влияющие на прогноз заболевания, оптимизировать подходы к лечению этих больных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

За период с 15.04.20 по 15.06.20 в стационаре нашей клиники было пролечено 68 человек (38 мужчин и 30 женщин). Средний возраст составил 49,7 ± 9,2 года (от 22 до 70 лет).

Срок после АТП варьировал в широких пределах (от 1,5 месяца до 24 лет) и составлял в среднем 62,6 ± 72,7 мес. У 21 человека (30,9%) срок после АТП не превышал 1 года (в том числе был менее 3 месяцев у 13 из них), у 22 человек (32%) этот показатель находился в диапазоне от 1 до 5 лет, в 14 случаях (20,5%) – от 5 до 10 лет, и у 11 пациентов (16%) превышал 10 лет.

У большинства пациентов – 63 из 68 (92,6%) на момент госпитализации отмечалась умеренная дисфункция трансплантата, не превышавшая 200 мкмоль/л. В 5 (7,4%) случаях дисфункция была выраженной (более 400 мкмоль/л) и требовала проведения заместительной почечной терапии. Уровень креатинина плазмы в среднем составлял – 168,6 ± 92,7 мкмоль/л.

Иммуносупрессивная терапия (ИСТ) на момент госпитализации включала в себя преднизолон, препараты микофеноловой кислоты и ингибиторы каль-

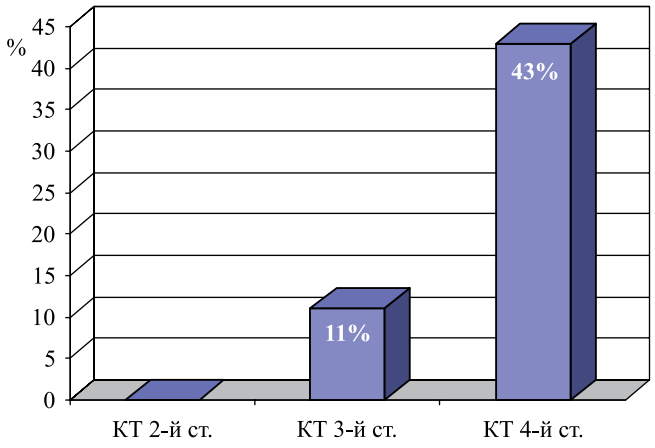

Рис. 1. Летальность в зависимости от тяжести легочного поражения

Fig. 1. Mortality rate depending on the severity of pulmonary involvement

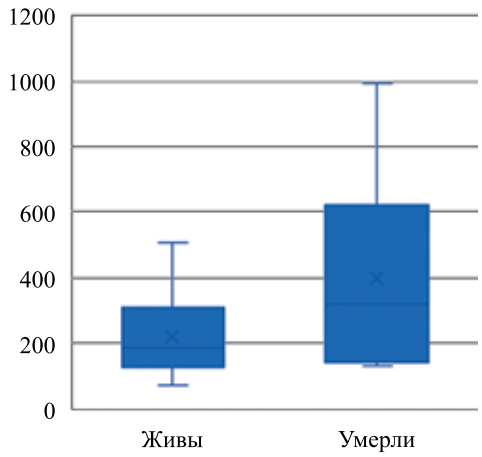

Рис. 2. Уровень креатинина у выживших и умерших пациентов с COVID-19

Fig. 2. Creatinine levels in survivors and deceased COVID-19 patients

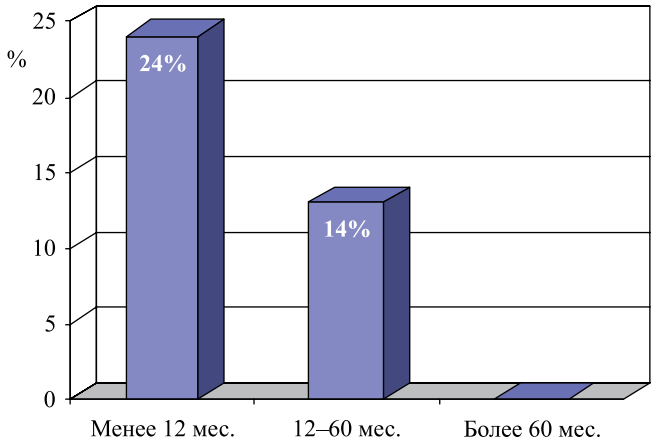

Рис. 3. Летальность в зависимости от срока после АТП

Fig. 3. Mortality depending on the period after transplantation

циневрина (такролимус – 91%, циклоспорин 9%). Диагноз COVID-19, был верифицирован методом ПЦР. По данным МСКТ во всех случаях выявлялось характерное поражение легких различной степени тяжести: КТ 2-й ст. было диагностировано у 25 пациентов (37%); КТ 3-й ст. – у 36 пациентов (53%); КТ 4-й ст. – у 7 пациентов (10%). Пациенты с КТ 3-й и 4-й ст. имели прогрессирующую дыхательную недостаточность, нуждались в кислородной поддержке.

Длительность госпитализации варьировала от 8 до 31 суток, в среднем составляя 14,1 ± 5,9 сут.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Из 68 человек 61 (89,8%) были выписаны с выздоровлением, 7 пациентов умерли. Таким образом, летальность составила 10,2%. Этот показатель не зависел от возраста и пола. В первую очередь летальность зависела от тяжести легочного поражения: при КТ4 составила 43% (3/7), при КТ3 – 11,1% (4/36), у пациентов с КТ2 летальных исходов не было (рис. 1). Среди пациентов, получавших ИВЛ, летальность составила 100%.

Важным прогностическим фактором является также выраженность дисфункции трансплантата: при умеренной дисфункции этот показатель составил 8% (5/63), тогда как при выраженной дисфункции он был равен 40% (2 из 5). За время госпитализации у 20 пациентов с умеренной дисфункцией развилось острое почечное повреждение с последующим восстановлением функции трансплантата до исходного уровня в 15 случаях из 20, тогда как 5 случаев прогрессирующей дисфункции в рамках полиорганной недостаточности закончились летальным исходом. В среднем уровень креатинина на момент госпитализации у умерших составил 222,3 ± 118,4 мкмоль/л (медиана – 185 мкмоль/л), что оказалось значимо выше, чем у выздоровевших – 401,3 ± 291,8 мкмоль/л (медиана – 322 мкмоль/л) (рис. 2).

Помимо этого, более тяжелый прогноз отмечался у пациентов в ранние сроки после АТП: у 5 пациентов из 7 умерших от COVID-19 (71%) срок после АТП составлял менее года. Таким образом, летальность у пациентов в ранние сроки после АТП (менее 12 мес.) составила 24% (от общего количества пролеченных больных), тогда как в сроки от 1 до 5 лет этот показатель был равен 13,6%, а среди пациентов со сроком после АТП более 5 лет летальных исходов не отмечалось (рис. 3), однако при сроке более 10 лет чаще отмечались тяжелые бактериальные осложнения после перенесенного COVID-19, что, вероятно, обусловлено длительной иммуносупрессией.

На основании опыта нашего центра мы пришли к разработке внутреннего протокола лечения пациентов с COVID-19, имеющих почечный трансплантат.

Во всех случаях проводилось изменение базисной ИСТ, включавшее отмену препаратов микофеноловой кислоты, минимизацию дозы ингибиторов кальциневрина (целевая концентрация 1,5–3 нг/мл для такролимуса и 30–50 нг/мл для циклоспорина) и повышение дозы преднизолона на 5 мг относительно текущей дозировки.

При госпитализации обращало на себя внимание выявление у 30% пациентов высоких концентраций такролимуса на фоне обычных дозировок препарата. При этом лишь половина из них отмечала наличие диареи. У остальных 15% повышение концентрации такролимуса не коррелировало с диарейным синдромом. У 12% пациентов потребовалась временная отмена ингибиторов кальциневрина (на 2–3 дня).

Всем пациентам назначалась антибактериальная терапия: стартовая терапия – левофлоксацин либо азитромицин, с последующей коррекцией в зависимости от эффективности терапии и данных микробиологических исследований.

Во всех случаях также проводилась противовирусная терапия: гидроксихлорохин в дозах, скорректированных на функцию почек. У пациентов с кардиальным анамнезом и имеющимися нарушениями ритма сердца гидроксихлорохин назначался без нагрузочной дозы.

Ритонавир/лопинавир у реципиентов почечного трансплантата мы не применяли в связи с неблагоприятным лекарственным взаимодействием с основными препаратами ИСТ (такролимус, циклоспорин).

Проводилась патогенетическая терапия антиинтерлейкиновыми моноклональными антителами 53 пациентам (78%). Из них – 38 пациентам (72%) назначался тоцилизумаб, в 8 случаях (15%) вводился сарилумаб, в 5 случаях (9%) – кинакинумаб, в 2 случаях (4%) – нетакимаб. При этом доза тоцилизумаба была редуцирована с учетом проводимой базисной иммуносупрессивной терапии. В большинстве случаев (в 79,5%) доза не превышала 200 мг. У 14 пациентов (20,5%) доза составляла от 240 до 600 мг. Выбор препарата, дозы и дополнительного введения определялся тяжестью клинико-лабораторной и рентгенологической картины.

Всем пациентам с целью коррекции иммунологического статуса также вводился внутривенный иммуноглобулин в средней дозе 10 г.

У ряда пациентов (22%), преимущественно с тяжелым вариантом течения COVID-19, отмечались клинико-лабораторные признаки тромботической микроангиопатии (анемия, тромбоцитопения, нарастание ЛДГ, Д-димера, органные ишемические нарушения), в связи с чем в качестве патогенетической терапии проводились сеансы плазмообмена и/или инфузии свежезамороженной плазмы (СЗП). Также проводилась коррекция дозы низкомолекулярных гепаринов (НМГ). На этом фоне наблюдался регресс проявлений вторичной ТМА у большинства пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пневмония, индуцированная COVID-19, характеризуется высоким риском прогрессирования легочного процесса и дыхательной недостаточности. Летальность при COVID-19 не зависит от пола и возраста, однако коррелирует со сроком после трансплантации, тяжестью пневмонии и выраженностью дисфункции трансплантата. Перевод на ИВЛ сопряжен с крайне неблагоприятным прогнозом заболевания. Наибольшую сложность для ведения представляли следующие категории пациентов: пациенты в раннем сроке после АТП и больные с выраженной дисфункцией трансплантата в связи с высоким риском летального исхода, а также больные с длительностью посттрансплантационного периода более 10 лет в связи с высоким риском осложнений на фоне продолжительнойсти иммуносупрессивной терапии и выраженной коморбидностью.

Согласно нашему опыту ведения данной когорты пациентов, терапия COVID-19 включает в себя обязательную минимизацию ИСТ, а при средне-тяжелом и тяжелом течении – введение антиинтерлейкиновых препаратов и иммуноглобулина. При появлении признаков вторичной ТМА эффективно использование плазмообменов и/или инфузии СЗП. Так же, как и в общей популяции, у реципиентов почечного трансплантата рекомендуется использование НМГ. Таким образом, COVID-19 у реципиентов почечного трансплантата характеризуется большей тяжестью инфекционно-воспалительного процесса на фоне иммуносупрессивной терапии по сравнению с общей популяцией больных, частой дисфункцией трансплантата почки, а также нестабильностью концентраций базисных иммуносупрессантов. С учетом этого нецелесообразно использование препаратов, обладающих выраженным взаимодействием с базисными иммуносупрессантами (ингибиторами кальциневрина).

В настоящее время вопрос о подходах к лечению новой коронавирусной инфекции у реципиентов почечного трансплантата остается открытым и требует дальнейшего изучения.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. How should I manage immunosuppression in a kidney transplant patient with COVID-19? An ERA-EDTA DESCARTES expert opinion. *Nephrol Dial Transplant*.

2020; 35: 899–904. doi: 10.1093/ndt/gfaa130 Advance Access publication 22 May 2020.
2. *Cucinotta D, Vanelli M*. WHO declares COVID-19 a pandemic. *Acta Biomed*. 2020; 91: 157–160.
3. *Barlow A, Landolf KM, Barlow B et al.* Review of emerging pharmacotherapy for the treatment of coronavirus disease 2019. *Pharmacotherapy*. 2020. doi: 10.1002/phar.2398.
4. *Sanders JM, Monogue ML, Jodlowski TZ et al.* Pharmacologic treatments for coronavirus disease 2019 (COVID-19): a review. *JAMA*. 2020. doi: 10.1001/jama.2020.6019.
5. *Akalin E, Azzi Y, Bartash R et al.* Covid-19 and kidney transplantation. *N Engl J Med*. 2020. doi: 10.1056/NEJMc2011117.
6. *Pereira MR, Mohan S, Cohen DJ et al.* COVID-19 in solid organ transplant recipients: initial report from the US epicenter. *Am J Transplant*. 2020. doi: 10.1111/ajt.15941.
7. *Fernandez-Ruiz M, Andres A, Loinaz C et al.* COVID-19 in solid organ transplant recipients: a single-center case series from Spain. *Am J Transplant*. 2020. doi: 10.1111/ajt.15929.
8. *Alberici FD, Delbarba E, Manenti C et al.* A single center observational study of the clinical characteristics and short-term outcome of 20 kidneytransplant patients admitted for SARS-CoV2 pneumonia. *Kidney Int*. 2020. doi: 10.1016/j.kint.2020.04.002.
9. *Richardson S, Hirsch JS, Narasimhan M et al.* Presenting characteristics, comorbidities, and outcomes among 5700 patients hospitalized with COVID-19 in the New York City area. *JAMA*. 2020. doi: 10.1001/jama.2020.6775.
10. *Zhang C, Wu Z, Li JW et al.* The cytokine release syndrome (CRS) of severe COVID-19 and Interleukin-6 receptor (IL-6R) antagonist tocilizumab may be the key to reduce the mortality. *Int J Antimicrob Agents*. 2020. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105954.
11. Application of plasma exchange in association with higher dose CVVH in Cytokine Storm Complicating COVID-19. *Journal of the Formosan Medical Association*. 2020; 119: 1116e1118.
12. *Risitano AM, Mastellos DC, Huber-Lang M, Yancopoulou D, Garlanda C, Ciceri F, Lambris JD.* Complement as a target in COVID-19? *Nat Rev Immunol*. 2020 Jun; 20 (6): 343–344.
13. *Diurno F, Numis FG, Porta G*. Eculizumab treatment in patients with COVID-19: preliminary results from real life ASL Napoli 2 Nord experience. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2020; 24: 4040–4047.
14. *Keith P, Day M, Perkins L, Moyer L, Hewitt K, Wells A.* A novel treatment approach to the novel coronavirus: an argument for the use of therapeutic plasma exchange for fulminant COVID-19. *Critical Care*. 2020; 24: 128. https://doi.org/10.1186/s13054-020-2836-4.

Статья поступила в редакцию 27.10.2020 г.
The article was submitted to the journal on 27.10.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-4-75-82

J-ОБРАЗНАЯ СТЕРНОТОМИЯ В ХИРУРГИИ ПОРОКОВ АОРТАЛЬНОГО КЛАПАНА И ВОСХОДЯЩЕЙ АОРТЫ. НЕПОСРЕДСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Г.А. Акопов, А.С. Иванов, Т.Н. Говорова, Д.В. Москалев

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

Цель: оценить непосредственные результаты хирургического лечения порока аортального клапана и восходящей аорты, выполненного из мини-стернотомии в условиях искусственного кровообращения и кровяной гиперкалиевой кардиоплегии по методике Калафиори в условиях нормотермии с 08.05.2019 по 14.05.2020 гг. **Материалы и методы.** В исследование вошло 80 пациентов с изолированным аортальным пороком сердца и комбинированной патологией корня и восходящего отдела аорты с 08.05.2019 г. по 14.05.2020 г. Пациенты были разделены на две группы: в первую группу вошли 30 пациентов, которым было выполнено оперативное вмешательство из верхней срединной J-образной мини-стернотомии, вторую группу составили 50 пациентов, оперированных из стандартной срединной стернотомии. Среди оперированных 43 (53,7%) пациента мужского пола и 37 (46,3%) – женского, средний возраст составил 55,1 ± 11,6 года. Всем пациентам до операции были проведены стандартные обследования. Предоперационная оценка не выявила статистически значимых различий между двумя группами. **Результаты.** Тридцатидневная летальность во второй группе составила 2% (n = 1) в связи с развившейся острой сердечной недостаточностью на фоне нарушения ритма сердца. Поздняя летальность наблюдалась также во второй группе у одного пациента по причине острого мозгового нарушения кровообращения через месяц после выписки, что соответствует 2% (n = 1). Летальных случаев в первой группе не отмечалось. В первой группе двум пациентам была выполнена конверсия на срединную продольную стернотомию, что составило 6,7%. В первом наблюдении восстановить ритм неоднократными разрядами дефибриллятора из мини-стернотомного доступа не представлялось возможным в связи с наличием спаечного процесса в полости перикарда. Во втором случае потребовалось лигирование правой внутренней грудной артерии после прошивания грудины проволочными швами. Время искусственной вентиляции легких (ИВЛ) в первой группе составило 170,9 ± 70,2 минуты, во второй группе – 358,2 ± 169,5 минуты. Самостоятельное восстановление сердечной деятельности наблюдали у 23 пациентов (77%) в первой группе и у 12 (24%) – во второй ($p < 0,001$). Кровопотеря в интраоперационном периоде в первой группе составила 400 ± 150 мл, во второй – 850 ± 150 мл ($p < 0,05$). В раннем послеоперационном периоде – 200 ± 150 и 350 ± 150 мл соответственно. Нахождение в отделении реанимации и интенсивной терапии среди всех пациентов в обеих группах не превышало 1 суток. В раннем послеоперационном периоде в использовании инотропной поддержки в первой группе нуждались 4 пациента (13%), во второй – 27 пациентов (54%) ($p < 0,001$). Необходимость применения обезболивающих и нестероидных противовоспалительных препаратов в первой группе была в течение 3–4 дней, во второй – 8–10 дней. Госпитальный послеоперационный период в обеих группах варьировал от 10 до 16 суток, в зависимости от тяжести исходного состояния и наличия сопутствующих заболеваний и необходимости подбора адекватной дозы антикоагулянтов. Пациенты были выписаны в удовлетворительном состоянии под наблюдение кардиолога по месту жительства. Осложнений воспалительного характера в области доступа в обеих группах в госпитальном периоде не отмечено. Среди осложнений в среднеотдаленном послеоперационном периоде через два месяца после выписки во второй наблюдали медиастинит. Пациент повторно был госпитализирован, после курса антибактериальной терапии с разрешением медиастинита был выполнен остеосинтез грудины. **Заключение.** На основе проведенного исследования показано, что данная техника обеспечивает снижение продолжительности ИВЛ, раннюю экстубацию, снижение кровопотери, соотвественно, применение заместительной терапии,

Для корреспонденции: Говорова Туйаара Николаевна. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (985) 852-30-17. E-mail: tuyagov@inbox.ru

Corresponding author: Tuiaara Govorova. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (985) 852-30-17. E-mail: tuyagov@inbox.ru

стабильность грудной клетки и лучший косметический эффект. Отметим отсутствие летальности и стернальных осложнений в группе пациентов с мини-инвазивным доступом.

Ключевые слова: мини-инвазивная хирургия, аортальная хирургия, аортальный клапан, мини-стернотомия.

J-SHAPED STERNOTOMY IN AORTIC VALVE REPAIR AND ASCENDING AORTA REPLACEMENT. SHORT-TERM RESULTS

G.A. Akopov, A.S. Ivanov, T.N. Govorova, D.V. Moskalev

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

Objective: to evaluate the short-term outcomes of surgical treatment of aortic valve and ascending aorta defects performed through mini-sternotomy using normothermic cardiopulmonary bypass and hyperkalemic cardioplegia via Calafiori technique from May 8, 2019 to May 14, 2020. **Materials and methods.** The study enrolled 80 patients with isolated aortic valve disease and combined pathology of the aortic root and ascending aorta. It lasted from May 8, 2019 to May 14, 2020. The patients were divided into two groups: Group 1 included 30 patients in whom the upper median J-shaped sternotomy was applied as an access, while Group 2 consisted of 50 patients in whom standard median sternotomy was used as an access. The patients consisted of 43 (53.7%) males and 37 (46.3%) females; the average age was 55.1 ± 11.6 years. All patients were examined before surgery. It revealed no statistically significant differences between the two groups. **Results.** Group 2 had a 30-day mortality of 2% (n = 1) due to the development of acute heart failure against the background of heart rhythm disturbances. One patient in this group had a late mortality due to acute cerebrovascular accident occurring a month after discharge, which corresponded to 2% (n = 1). There were no deaths in Group 1. In Group 1, there were two conversions (6.7%) to longitudinal median sternotomy. In the first case, it was not possible to restore heart rhythm through repeated defibrillator discharges from mini-sternotomy access due to the presence of an adhesive process in the pericardial cavity. In the second case, ligation of the right internal thoracic artery was required after sternal wire sutures. Artificial ventilation (AV) lasted for 170.9 ± 70.2 minutes in Group 1 and 358.2 ± 169.5 minutes in Group 2. Cardiac activity was independently restored in 23 patients (77%) in Group 1, and in 12 (24%) in Group 2 ($p < 0.001$). Intraoperative blood loss was 400 ± 150 mL and 850 ± 150 mL ($p < 0.05$) in Group 1 and Group 2, respectively. In the early postoperative period, it was 200 ± 150 mL in Group 1 and 350 ± 150 mL in Group 2. The length of stay at the intensive care unit and the duration of intensive therapy did not exceed 1 day in both groups. In the early postoperative period, 4 patients in Group 1 (13%) and 27 patients in Group 2 (54%) needed inotropic support ($p < 0.001$). The need for painkillers and non-steroidal anti-inflammatory drugs was within 3–4 days in Group 1 and 8–10 days in Group 2. In-hospital postoperative period varied from 10 to 16 days in both groups, depending on the severity of the initial condition, presence of concomitant diseases and the need to select an adequate anticoagulant dose. The patients were discharged in satisfactory condition under the supervision of a cardiologist at their homes. There were no inflammatory complications in the access area in both groups during their in-hospital stay. Among the complications in the mid-term postoperative period, two months after discharge, mediastinitis was observed in Group 2. The patient was re-hospitalized, after a course of antibiotic therapy which resolved the mediastinitis; sternal osteosynthesis was performed. **Conclusion.** Based on the study, it has been shown that this technique reduces the duration of mechanical ventilation, ensures early extubation, decreases blood loss, and, accordingly, ensures the use of replacement therapy, chest stability and a better cosmetic effect. It should be noted that there was no mortality and sternal complications in the patient group with a minimally invasive approach.

Keywords: minimally invasive surgery, aortic surgery, aortic valve, mini-sternotomy.

Несмотря на первую успешную операцию по замене аортального клапана из мини-инвазивного доступа, выполненную в Кливленде в 1996 г. Cosgrove и Sabik [1], срединная продольная стернотомия по-прежнему остается основным стандартом среди доступов при кардиохирургических операциях. В мае 1997 года в Париже на I Всемирном конгрессе по мини-инвазивной хирургии сердца было принято положение, что основной целью мини-инвазивной хирургии является уменьшение числа прогнозируемых осложнений и ускорение выздоровления пациента при условии сохранения эффективности оперативного лечения и длительности лечебного эффекта. В России впервые протезирование аортального клапана через верхнюю мини-стернотомию выполнил в октябре 1997 г. Л.А. Бокерия [2].

Среди основных преимуществ мини-стернотомии после операции в сравнении с классическим доступом выделяют снижение травматичности оперативного вмешательства, косметический эффект данного доступа, более низкий болевой симптом в послеоперационном периоде, а также возможность ранней активизации пациента в связи с максимальной сохранностью каркасной функции грудной клетки, что позволяет сократить время пребывания пациента в стационаре [3].

Исследования показали, что мини-инвазивная техника обеспечивает снижение болевых ощущений, количества стернальных осложнений, респираторных нарушений за счет сохранения каркаса грудной клетки и целостности диафрагмального прикрепления к грудной стенке, снижения кровопотери и количества трансфузий, сокращение сроков госпитального периода. Отмечено также снижение в послеоперационном периоде частоты возникновения фибрилляции предсердий, инфаркта миокарда и инсультов [3–22]. В 2017 году немецкие коллеги доложили о своем опыте, который показал, что верхняя стернотомия при операциях на дуге аорты не повышает риски осложнений и летальности [3]. В феврале 2020 года опубликовано швейцарское руководство по кардиохирургии, где сообщается, что при сравнении с классическим доступом мини-инвазивная хирургия аортального клапана снижает послеоперационную летальность и частоту осложнений [23].

Наиболее показательны данные, которые приводит T.A. Rayner с соавт. В январе 2020 года опубликованы результаты сравнительного метаанализа, основанные на онлайн-базах данных Medline, EMBASE, CochraneLibrary и WebofScience. В метаанализ были включены 1101 пациент с мини-инвазивной хирургией аорты и 1405 пациентов со стандартной срединной стернотомией из тринадцати опубликованных исследований. Уровень достоверности всех ранее доложенных результатов остается очень низким. Установлено, что летальность и частота инсультов были одинаковыми между двумя когортами. Метаанализ продемонстрировал высокую продолжительность времени искусственного кровообращения (ИК), госпитального периода и нахождение в отделении интенсивной терапии среди пациентов, прооперированных через стандартную срединную стернотомию в сравнении с мини-инвазивной хирургией корня и восходящего отдела аорты, также в этой группе были выше риски кровотечения и почечной недостаточности [24].

Пациентам с сочетанным поражением коронарных артерий для снижения риска оперативного вмешательства можно предложить двухэтапные операции с применением эндоваскулярной хирургии [8]. Успех применения мини-инвазивной хирургии также зависит от индивидуального подбора пациентов, следует учитывать специфические анатомические и патофизиологические особенности пациента, а также опыт хирургической бригады по обеспечению адекватного доступа и работы в мини-инвазивных условиях.

Данная техника имеет свои недостатки: необходимость использования в некоторых случаях периферической канюляции магистралей аппарата искусственного кровообращения, повреждение внутренней грудной артерии, также отмечены случаи конверсии на полную продольную срединную стернотомию [5].

Цель исследования: оценить непосредственные результаты хирургического лечения порока аортального клапана и восходящей аорты, выполненного из мини-стернотомии в условиях искусственного кровообращения и кровяной гиперкалиевой кардиоплегии по методике Калафиори в условиях нормотермии с 08.05.2019 г. по 14.05.2020 г.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование вошли 80 пациентов с изолированным аортальным пороком сердца и комбинированной патологией корня и восходящего отдела аорты с 08.05.2019 г. по 14.05.2020 г. Пациенты были разделены на две группы: в первую группу вошли 30 пациентов, которым было выполнено оперативное вмешательство из верхней срединной J-образной мини-стернотомии, а именно протезирование аортального клапана – 15, протезирование аортального клапана и восходящего отдела аорты клапаносодержащим кондуитом по методикам Bentall-DeBono – 1 и в модификации Kouchoukus – 4, клапаносохраняющие операции по методикам David I – 3 и FloridaSleeve – 1, супракоронарное протезирование восходящего отдела аорты – 4, протезирование восходящего отдела аорты с аннулопластикой фиброзного кольца аортального клапана – 2. Вторую группу составили 50 пациентов, оперированных из стандартной срединной стернотомии: протезирование аортального клапана – 17, протезирование аортального клапана и восходящего отдела аорты клапаносодержащим кондуитом по методикам Bentall-DeBono – 4 и в модификации Kouchoukus – 1, клапаносохраняющие операции по методикам David I – 18, FloridaSleeve – 5, пластика створок аортального клапана – 5.

Среди оперированных 43 (53,7%) пациента мужского пола и 37 (46,3%) – женского, средний возраст составил 55,1 ± 11,6 года.

Всем пациентам до операции были проведены стандартные обследования, включающие сбор жалоб, анамнеза, объективный осмотр, лабораторные иинструментальные методы исследования (электрокардиография, эхокардиография – ЭхоКГ, рентгенография органов грудной клетки в прямой проекции,

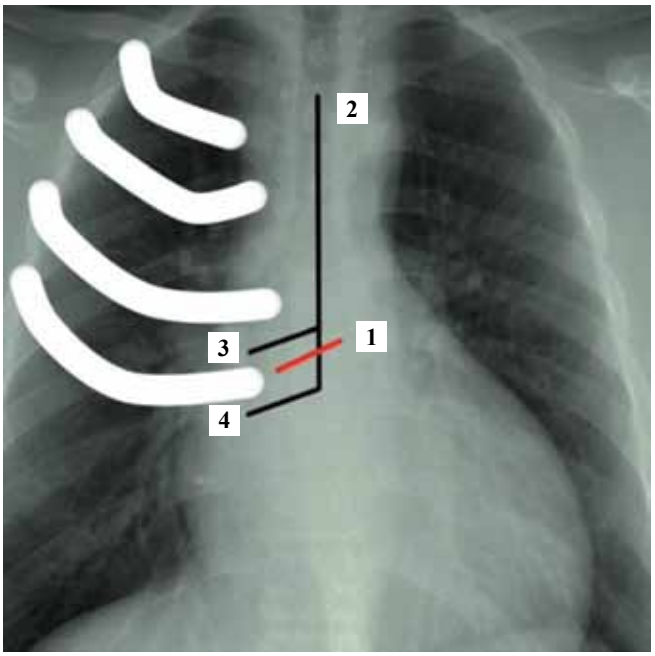

Рис. 1. Рентгенография органов грудной клетки в прямой проекции (1 – проекция корня аорты, 2 – линия стернотомии, 3 – пересечение грудины по 3-му межреберью, 4 – пересечение грудины по 4-му межреберью)

Fig. 1. Chest X-ray in a direct projection: (1 – aortic root projection, 2 – sternotomy line, 3 – intersection of the sternum through the 3rd intercostal space, 4 – intersection of the sternum through the 4th intercostal space). The white areas indicate the position of the ribs

рентгеновская контрастная спиральная компьютерная томография органов грудной клетки). Предоперационная оценка не выявила статистически значимых различий между двумя группами.

Рентгенография органов грудной клетки в прямой проекции и рентгеновская контрастная спиральная компьютерная томография органов грудной клетки помогают определить уровень расположения корня аорты и его проекцию на грудину и межреберья, что является определяющим фактором для выбора уровня межреберья при проведении срединной J-образной мини-стернотомии, для планирования протяженности доступа и прогнозирования визуализации корня и восходящего отдела аорты (рис. 1, 2).

Кожный разрез проводился продольно на протяжении 7–9 см, с отступом от рукоятки грудины 2–3 см. Срединная J-образная мини-стернотомия в зависимости от проекции корня аорты на грудину проводилась по 3-му и 4-му межреберьям у 13 (43%) и 17 (57%) пациентов соответственно (рис. 3, 4).

После вскрытия перикарда проводились стандартные прямая канюляция аорты и венозная канюляция ушка правого предсердия с использованием двухуровневой канюли. Дренирование левых отделов сердца осуществлялось через правую верхнюю легочную вену (рис. 5).

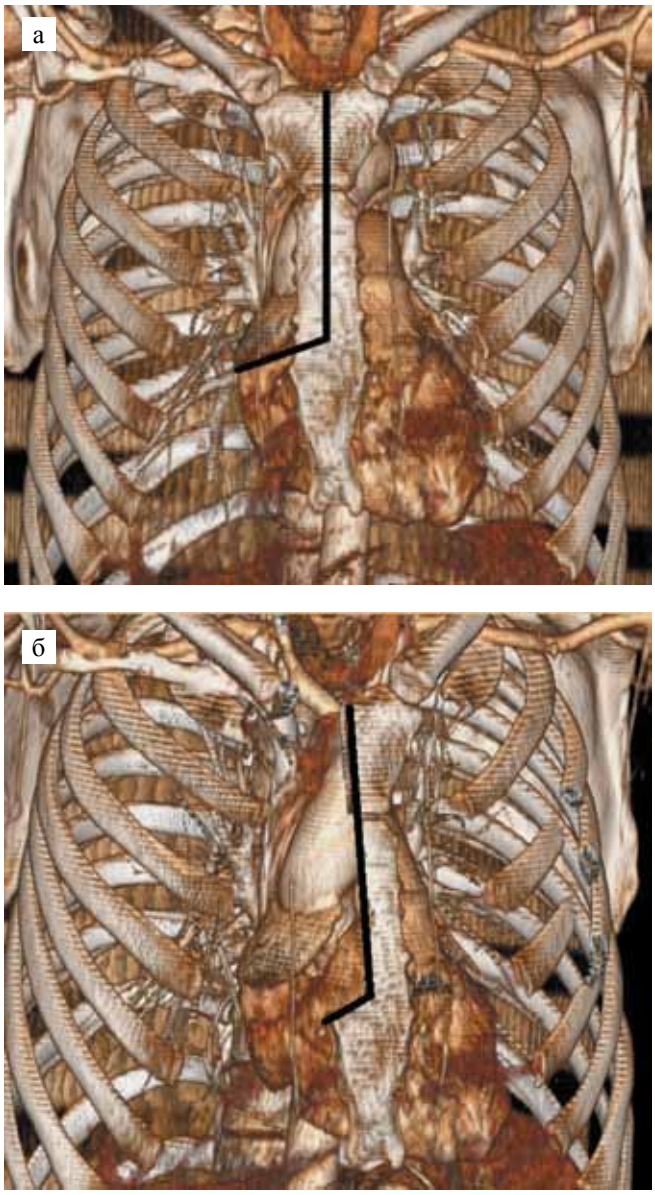

Рис. 2. Рентгеновская контрастная спиральная компьютерная томография органов грудной клетки с линией J-доступа: а – грудина сохранена; б – участок грудины удален по линии распила с целью ориентировочной визуализации корня и восходящей аорты

Fig. 2. X-ray contrast-enhanced spiral CT scan of the chest with a J-shaped access line: a – the sternum is preserved; б – a section of the sternum was removed along the cutting line, for the purpose of approximate visualization of the root and ascending aorta

Оперативные вмешательства выполнялись в условиях искусственного кровообращения при умеренной гипотермии или нормотермии при температуре 34,1–36,2 °С с селективным введением кровяной гиперкалиевой кардиоплегии по методике Калафиори. Использовался стандартный набор инструментов, ранорасширитель малых размеров и дефибриллятор с маленькими внутренними разрядными электродами.

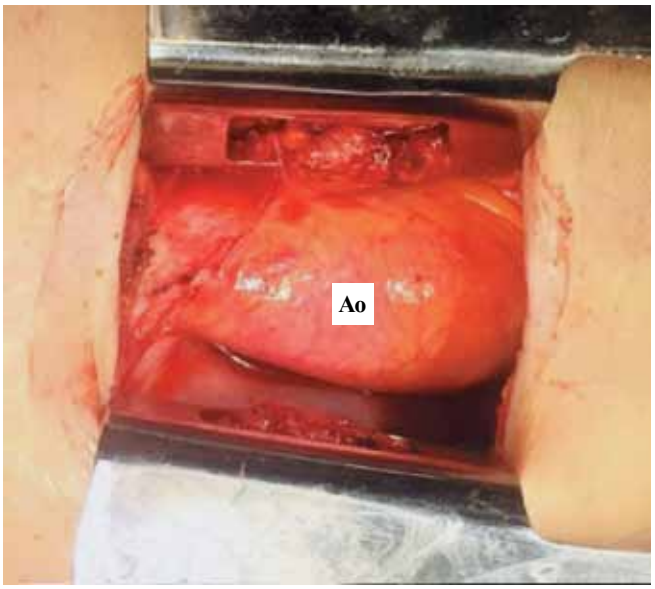

Рис. 3. Срединная J-образная мини-стернотомия по 3-е межреберье. Оптимальная визуализация корня и восходящей аорты

Fig. 3. Median J-shaped mini-sternotomy through the 3rd intercostal space. Optimal visualization of the root and ascending aorta

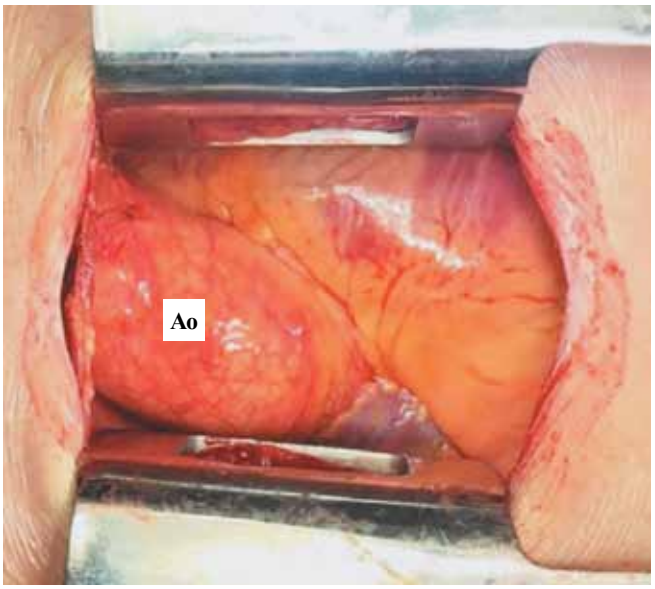

Рис. 4. Срединная J-образная мини-стернотомия по 4-е межреберье

Fig. 4. Median J-shaped mini-sternotomy through the 4th intercostal space

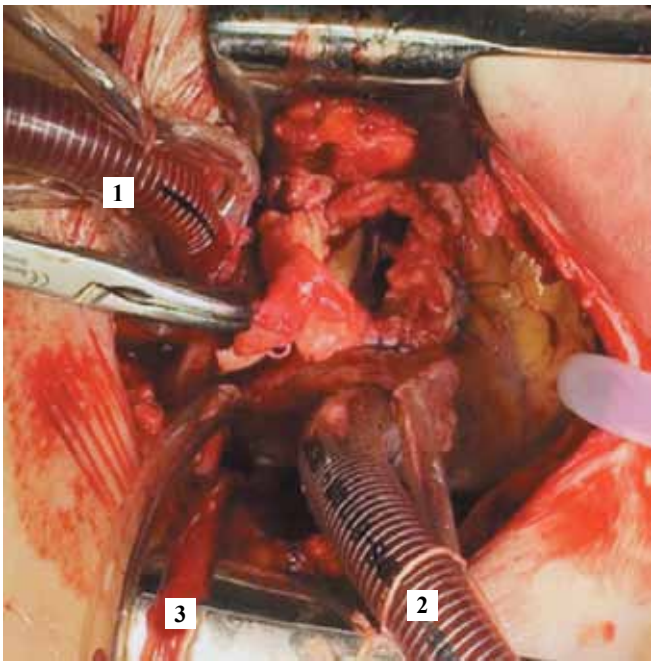

Рис. 5. Центральная канюляция восходящей аорты (1) и правого предсердия (2) с постановкой левого дренажа (3) через правую верхнюю легочную вену

Fig. 5. Central cannulation of the ascending aorta (1) and the right atrium (2) with the left cannula laid (3) through the right superior pulmonary vein

Всем пациентам оперативные вмешательства проводились под контролем транспищеводной эхокардиографии для оценки сократительной способности миокарда, наполнения полостей сердца, оценка адекватности профилактики воздушной эмболии и результата хирургического лечения.

При использовании мини-инвазивной методики необходим ультразвуковой контроль, позволяющий оценить расположение венозной канюли с целью профилактики нарушения оттока крови в аппарат ИК, а также оценка выполненной коррекции (протезирование или пластика клапана сердца). Также при окончании ИК необходима ультразвуковая оценка процесса деаэрации и функции сердца, поскольку прямой визуальный контроль сердечной деятельности невозможен. На рис. 6 показан конечный вид после наложения кожного шва. На рис. 7 представлены снимки рентгеновской контрастной спиральной компьютерной томографии с реконструкцией корня и восходящей аорты (а – до оперативного вмешательства; б – после реконструкции корня и восходящего отдела аорты по методике David I).

Особенностью использования мини-доступа является проведение дренажа в полость перикарда и подшивание электрода к правому желудочку для временной стимуляции, проводились до снятия зажима с аорты, при ненаполненном сердце.

Профилактику воздушной эмболии проводили активным дренированием левых отделов сердца и интраоперационного нагнетания углекислого газа в

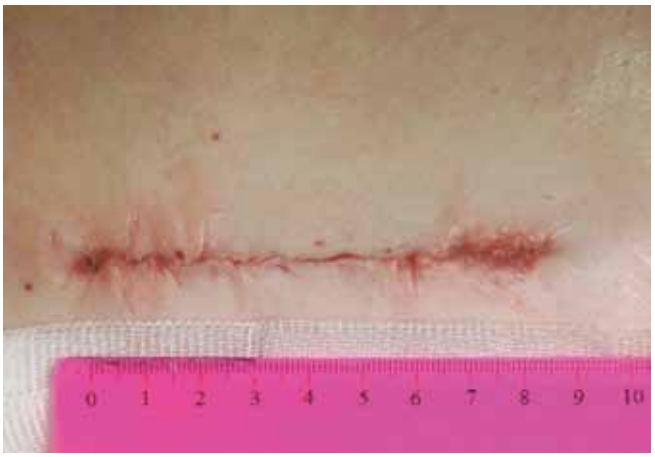

Рис. 6. Кожный шов 8,5 см

Fig. 6. A 8.5-cm skin incision

полость перикарда со скоростью 2 л/мин. Для профилактики аэроэмболии дополнительно пунктировали восходящий отдел аорты.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Тридцатидневная летальность во второй группе составила 2% (n = 1) в связи с развившейся острой сердечной недостаточностью на фоне нарушения ритма сердца. Поздняя летальность наблюдалась также во второй группе у одного пациента по причине острого мозгового нарушения кровообращения через месяц после выписки, что соответствует 2% (n = 1). Летальных случаев в первой группе не отмечалось.

В первой группе у двух пациентов была выполнена конверсия на срединную продольную стернотомию, что составило 6,7%. В первом наблюдении восстановить ритм неоднократными разрядами дефибриллятора из мини-стернотомного доступа не представлялось возможным в связи с наличием спаечного процесса в области перикарда. Во втором потребовалось лигирование правой внутренней грудной артерии после прошивания грудины проволочными швами.

Время искусственной вентиляции легких в первой группе составило 170,9 ± 70,2 минуты, во второй группе – 358,2 ± 169,5 минуты.

Самостоятельное восстановление сердечной деятельности наблюдали у 23 пациентов (77%) в первой группе и у 12 (24%) – во второй ($p < 0,001$).

Кровопотеря в интраоперационном периоде в первой группе составила 400 ± 150 мл, во второй – 850 ± 150 мл ($p < 0,05$). В раннем послеоперационном периоде – 200 ± 150 и 350 ± 150 мл соответственно.

Нахождение в отделении реанимации и интенсивной терапии среди всех пациентов в обеих группах не превышало 1 суток.

В раннем послеоперационном периоде в использовании инотропной поддержки в первой группе нуждались 4 пациента (13%), во второй – 27 пациентов (54%) ($p < 0,001$). Необходимость в применении обезболивающих и нестероидных противовоспали-

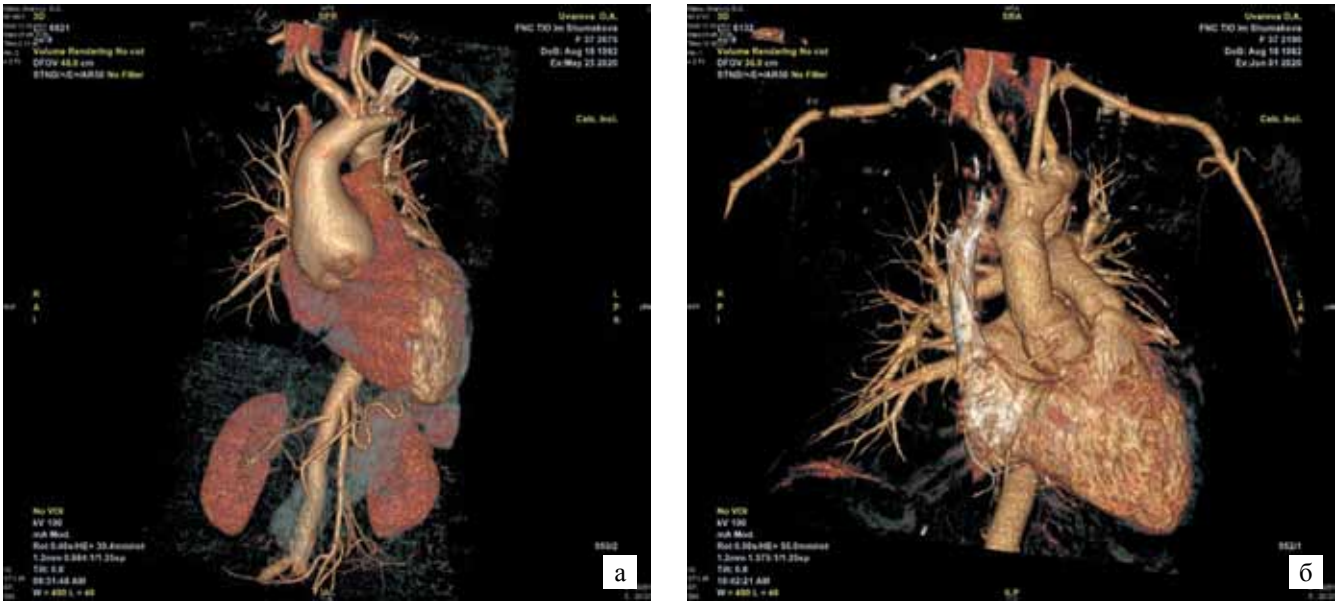

Рис. 7. Рентгеновская контрастная спиральная компьютерная томография с реконструкцией корня и восходящей аорты: а – до оперативного вмешательства; б – после реконструкции корня и восходящего отдела аорты по методике David I

Fig. 7. X-ray contrast-enhanced spiral CT scan with reconstruction of the aortic root and ascending aorta: a – before surgery; б – after reconstruction of the aortic root and ascending aorta by the David I method

тельных препаратов в первой группе была в течение 3–4 дней, во второй – 8–10 дней.

Во второй группе двум пациентам (4%) потребовалось повторное вмешательство в связи с диастазом грудины, в раннем послеоперационном периоде выполнен остеосинтез грудины.

Госпитальный послеоперационный период в обеих группах варьировал от 10 до 16 суток, в зависимости от тяжести исходного состояния и наличия сопутствующих заболеваний и необходимости подбора адекватной дозы антикоагулянтов. Пациенты были выписаны в удовлетворительном состоянии под наблюдение кардиолога по месту жительства.

Осложнений воспалительного характера в области доступа в обеих группах в госпитальном периоде не отмечено. Среди осложнений в среднеотдаленном послеоперационном периоде через два месяца после выписки во второй наблюдали медиастинит. Пациент повторно был госпитализирован, после курса антибактериальной терапии с разрешением медиастинита был выполнен остеосинтез грудины.

ВЫВОДЫ

1. Срединная J-образная мини-стернотомия – безопасный и осуществимый доступ для выполнения полного спектра вмешательств на аортальном клапане и восходящей аорте, который обеспечивает адекватную визуализацию к корню и восходящей аорте и частично правым отделам сердца, сохраняя целостность каркаса грудной клетки.
2. Мини-стернотомия в отличие от стандартной срединной стернотомии показала снижение количества кровопотери, более раннюю экстубацию, снижение потребности в инотропной поддержке, отсутствие раневых, инфекционных и других стернальных осложнений и отсутствие госпитальной летальности.
3. Для планирования протяженности доступа и прогнозирования адекватной визуализации корня и восходящего отдела аорты следует выполнять рентгеновскую контрастную спиральную компьютерную томографию органов грудной клетки.
4. Кровяная гиперкалиевая кардиоплегия по методике Калафиори является предпочтительным методом защиты миокарда при хирургической коррекции аортального порока. Наш опыт показывает, что самостоятельное восстановление ритма зафиксировано в 77% наблюдений при проведении данного метода защиты миокарда.
5. Повторные вмешательства и выраженный спаечный процесс могут затруднить восстановление ритма сердца, повышая вероятность конверсии на срединную стернотомию.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе проведенного исследования показано, что данная техника обеспечивает снижение продолжительности ИВЛ, раннюю экстубацию, снижение кровопотери, соотвественно, применение заместительной терапии, стабильность грудной клетки и лучший косметический эффект. Отметим отсутствие летальности и стернальных осложнений в группе пациентов с мини-инвазивным доступом.

Более стабильная грудная клетка делает приоритетным выбор мини-инвазивного операционного доступа как у коморбидных пациентов и пациентов с высоким индексом массы тела, так и у пациентов с высоким уровнем риска в целом.

Стоит отметить, что при должном хирургическом исполнении снижается время операции, соответственно, время искусственного кровообращения, ишемии миокарда, анестезиологического пособия и кровопотери во время операции.

Также согласимся с нашими коллегами о необходимости проспективного рандомизированного исследования с целью исключения возможных ошибочных наблюдений ретроспективных данных.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Cosgrove DM 3rd, Sabik JF*. Minimally invasive approach for aortic valve operations. *Ann Thorac Surg*. 1996; 62: 596–597.
2. *Бокерия ЛА, Скопин ИИ, Нарсия БЕ, Седов ИН*. Минимально инвазивная хирургия приобретенных пороков сердца. *Грудная и сердечно-сосудистая хирургия*. 1999; 3: 4–7. *Bokerija LA, Skopin II, Narsija BE, Sedov IN*. Minimal'no invazivnaja hirurgija priobretennyh porokov serdca. *Grudnaja i serdechno-sosudistaja hirurgija*. 1999; 3: 4–7.
3. *Goebel N, Bonte D, Salehi-Gilani S, Nagib R, Ursulescu A, Franke UFW*. Minimally Invasive Access Aortic Arch Surgery. *Innovations (Phila)*. 2017 Sep/Oct; 12 (5): 351–355. doi: 10.1097/IM000000000000390.
4. *Fenton JR, Doty JR*. Minimally invasive aortic valve replacement surgery through lower half sternotomy. *J Thorac Dis*. 2013 Nov; 5 (Suppl 6): S658–S661. doi: 10.3978/j.iss072-1439.2013.09.22. PMCID: PMC3831833. PMID: 24251024.
5. *Klein P, Klop IDG, Kloppenburg GLT, van Putte BP*. Planning for minimally invasive aortic valve replacement: key steps for patient assessment. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2018; 53: ii3–ii8. doi: 10.1093/ejcts/ezy086.
6. *Young CP, Sinha S, Vohra HA*. Outcomes of minimally invasive aortic valve replacement surgery. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2018; 53: ii19–ii23. doi: 10.1093/ejcts/ezy186.

7. *Boix-Garibo R, Uzzaman MM, Bapat VN*. Review of Minimally Invasive Aortic Valve Surgery. *Interventional cardiology (London, England)*. 2015; 10 (3): 144–148. https://doi.org/10.15420/IC015.10.03.144.
8. *Paredes FA, Cánovas SJ, Gil O, García-Fuster R, Hornero F, Vázquez A et al*. Minimally Invasive Aortic Valve Surgery. A Safe and Useful Technique Beyond the Cosmetic Benefits. *Revista Española de Cardiología (English Edition)*. 2013; 66 (9): 695–699. doi: 10.1016/j.re013.02.013.
9. *Brown JM, O'Brien SM, Wu C et al*. Isolated aortic valve replacement in North America comprising 108,687 patients in 10 years: changes in risks, valve types, and outcomes in the Society of Thoracic Surgeons National Database. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2009; 137: 82–90.
10. *Gilmanov D, Bevilacqua S, Murzi M, Cerillo AG, Gasbarri T, Kallushi E et al*. Minimally invasive and conventional aortic valve replacement: a propensity score analysis. *Ann Thorac Surg*. 2013; 96 (3): 837–843.
11. *Yamada T, Ochiai R, Takeda J, Shin H, Yozu R*. Comparison of early postoperative quality of life in minimally invasive versus conventional valve surgery. *J Anaesth*. 2003; 17 (3): 171–176.
12. *Mihaljevic T, Cohn LH, Unic D, Aranki SF, Couper GS, Byrne JG*. One thousand minimally invasive valve operations: early and late results. *Ann Surg*. 2004; 240 (3): 529–534.
13. *Gilmanov D, Bevilacqua S, Murzi M, Cerillo AG, Gasbarri T, Kallushi E et al*. Minimally invasive and conventional aortic valve replacement: a propensity score analysis. *Ann Thorac Surg*. 2013; 96 (3): 837–843.
14. *Cheng DC, Martin J, Lal A, Diegeler A, Folliguet TA, Nifong LW et al*. Minimally invasive versus conventional open mitral valve surgery. A metaanalysis and systematic review. *Innovations (Phila)*. 2011; 6 (2): 84–103.
15. *Tabata M, Khalpey Z, Aranki SF et al*. Minimal access surgery of ascending and proximal arch of the aorta: a 9-year experience. *Ann Thorac Surg*. 2007; 84: 67–72.
16. *Brown ML, McKellar SH, Sundt TM et al*. Ministernotomy versus conventional sternotomy for aortic valve replacement: a systematic review and meta-analysis. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2009; 137: 670–679.e5.
17. *Gilmanov D, Solinas M, Farneti PA et al*. Minimally invasive aortic valve replacement: 12-year single center experience. *Ann Cardiothorac Surg*. 2015; 4: 160–169.
18. *Shehada SE, Öztürk Ö, Wottke M et al*. Propensity score analysis of outcomes following minimal access versus conventional aortic valve replacement. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2016; 49 (2): 464–469; discussion 469–470.
19. *Чарчян ЭР, Брешенков ДГ, Белов ЮВ*. Мини-инвазивный подход в хирургии грудной аорты: опыт одного центра. *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия*. 2019; 12 (6): 522–535. *Charchyan ER, Breshenkov DG, Belov YuV*. Minimally invasive approach in thoracic aortic surgery: a single center experience. *Russ Jour of Card and Cardiovasc Surg. = Kard i serdsosud khir*. 2019; 12 (6): 522–535. (In Russ.). https://doi.org/10.17116/kardio201912061522.
20. *Bakir I, Casselman FP, Wellens F, Jeanmart H, De Geest R, Degrieck I et al*. Minimally invasive versus standard approach aortic valve replacement: a study in 506 patients. *Ann Thorac Surg*. 2006; 81 (5): 1599–1604.
21. *Белов ЮВ, Степаненко АБ, Генс АП, Бабалян ГВ*. Протезирование аортального клапана из мини-доступа. *Вестник хирургии им. И.И. Грекова*. М., 1998; 157 (3): 47–49. *Belov JuV, Stepanenko AB, Gens AP, Babaljan GV*. Protezirovanie aortal'nogo klapana iz minidostupa. *Vestnik hirurgii im. I.I. Grekova*. M., 1998; 157 (3): 47–49.
22. *Чарчян ЭР, Скворцов АА, Панфилов ВА, Белов ЮВ*. Хирургические вмешательства на корне и восходящем отделе аорты из мини-доступа. *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия*. 2017; 10 (1): 42–46. *Charchyan ER, Skvortsov AA, Panfilov VA, Belov YuV*. J-shaped mini-sternotomy for frozen elephant trunk procedure. *Kardiologija i serdechno-sosudistaja hirurgija*. 2017; 10 (1): 42–46. doi: 10.17116/kardio201710142-46.
23. *Glauber M, Miceli A*. Minimally Invasive Aortic Valve Surgery. *S. Raja (eds). Cardiac Surgery*. Springer, Cham. 2020 Feb; 12: 421–428. https://doi.org/10.1007/978-3-030-24174-2_46.
24. *Rayner TA, Harrison S, Rival P, Mahoney DE, Caputo M, Angelini GD et al*. Minimally invasive versus conventional surgery of the ascending aorta and root: a systematic review and meta-analysis. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. 2020 Jan; 57 (Issue 1): 8–17. https://doi.org/10.1093/ejcts/ezz177.

Статья поступила в редакцию 9.07.2020 г.
The article was submitted to the journal on 9.07.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-4-83-88

ПРОБЛЕМА БИОСОВМЕСТИМОСТИ И ТРОМБОГЕННОСТИ УСТРОЙСТВ ВСПОМОГАТЕЛЬНОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

М.О. Жульков, Д.А. Сирота, А.В. Фомичев, А.С. Гренадеров, А.М. Чернявский

Центр хирургии аорты, коронарных и периферических артерий, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина» Минздрава России, Новосибирск, Российская Федерация

Пациенты, страдающие терминальной стадией хронической сердечной недостаточности, являются тяжелой категорией кардиологических больных. На протяжении многих десятилетий ведется активная разработка устройств вспомогательного кровообращения. Однако, несмотря на достигнутые значительные успехи в этой области, применение подобных устройств сопряжено с развитием целого ряда опасных осложнений, одним из которых является тромбоз. Проблема создания биосовместимых материалов по-прежнему остается неразрешенной. Анализ механизма и риска развития этого осложнения позволяет определить пути решения данной проблемы.

Ключевые слова: сердечная недостаточность, трансплантация сердца, вспомогательное кровообращение, тромбоз, устройства механической поддержки кровообращения.

THE PROBLEM OF BIOCOMPATIBILITY AND THROMBOGENICITY IN MECHANICAL CIRCULATORY ASSIST DEVICES

M.O. Zhulkov, D.A. Sirota, A.V. Fomichev, A.S. Grenaderov, A.M. Chernyavsky

Meshalkin National Medical Research Center, Novosibirsk, Russian Federation

Patients suffering from end-stage congestive heart failure are in the severe category of cardiac patients. For many decades, there has been active development of circulatory assist devices. However, despite significant progress made in this area, the use of such devices is associated with several dangerous complications, one of which is thrombosis. The problem of creating biocompatible materials still remains unresolved. Analyzing the mechanism and risk of this complication allows to determine the ways of solving this problem.

Keywords: heart failure, heart transplantation, circulatory support, thrombosis, mechanical circulatory support devices.

С момента первой операции трансплантации сердца, выполненной Кристианом Барнардом и его командой в больнице Groote Schuur, прошло больше 50 лет [1].

К сожалению, ахиллесовой пятой этого метода лечения была и остается острая нехватка донорских органов. Так, по причине, связанной с нехваткой донорских органов, число пересадок сердца, выполненных в Соединенном Королевстве (Великобритания) и многих западных странах резко упало за последние десятилетия. При этом количество пациентов в листе ожидания продолжает расти [2]. В Великобритании из приблизительно 750 000 пациентов, нуждающихся в трансплантации сердца, только 0,02% получают ее. Вследствие этого несоответствия между возможностью и потребностью почти 10% пациентов в листе ожидания продолжают ежегодно погибать [3]. В Канаде, по данным отчета института медицинской информации, за последние 10 лет годовая смертность пациентов, ожидающих трансплантации сердца, составила 16% [4]. В Соединенных Штатах Америки при количестве пациентов, нуждающихся в пересадке сердца, 35 000–64 000 выполняется только 2200–2300 операций в год [5]. На территории Российской Федерации, по данным за 2018 год, в листе ожидания находилось 823 пациента, при этом за год было выполнено всего 282 операции трансплантации сердца [6].

Для корреспонденции: Жульков Максим Олегович. Адрес: 630055, Новосибирск, ул. Речкуновская, д. 15. Тел. (906) 909-05-05. E-mail: maks.zhulkov.92@mail.ru

Corresponding author: Maxim Zhulkov. Address: 15, Rechkunovskaya str., 630055 Novosibirsk, Russian Federation. Phone: (906) 909-05-05. E-mail: maks.zhulkov.92@mail.ru

Для решения данной проблемы за последние несколько десятилетий было разработано множество механических устройств, способных эффективно и безопасно оказывать вспомогательную поддержку кровообращения [7].

В подавляющем большинстве случаев существующие устройства фактически не заменяют сердце, а функционируют как желудочковые вспомогательные устройства (LVAD), обеспечивая должный минутный объем кровообращения. Пожалуй, главной целью использования LVAD сегодня является «мост к трансплантации». Применение аппаратов вспомогательной поддержки кровообращения у пациентов, имеющих крайне неблагоприятный прогноз продолжительности жизни, позволяет значительно улучшить качество жизни и увеличить дожитие до трансплантации сердца. По данным рандомизированного исследования REMATCH, опубликованного в 2001 году, годовая выживаемость пациентов, перенесших имплантацию первых поколений устройств поддержки кровообращения, составляла 52% против 25% в группе медикаментозной терапии, при этом через 24 месяца тенденция сохранялась – 23% против 8% соответственно. В настоящее время выживаемость после имплантации аппаратов 2-го и 3-го поколений сопоставима с группой трансплантации сердца и составляет 90% [8].

По данным других исследований, почти 70% пациентов, получающих поддержку LVAD, переживают период ожидания донорского органа, а в случае имплантации последних генераций устройств эта цифра достигает 79% [9, 10].

Поскольку основной проблемой, заставившей разрабатывать устройства вспомогательного кровообращения, была нехватка донорских органов, прогнозируемый срок функционирования был достаточно коротким. Однако последующее развитие технологий и производства биосовместимых материалов привело к существенному повышению безопасности моделей устройств. С течением времени появилась отдельная группа пациентов, у которых на фоне ранее имплантированного LVAD наблюдалась регрессия клинических признаков недостаточности кровообращения, и как следствие – отсутствие показаний к трансплантации сердца. Этот факт способствовал рассмотрению устройств механической поддержки кровообращения как средства «терапии назначения». Кроме того, появление новых моделей LVAD позволило добиться длительной поддержки кровообращения, следствием этого стало появление пациентов, у которых наблюдалось полное восстановление насосной функции сердца с возможностью последующей эксплантации устройства. По данным некоторых исследователей, данная стратегия «мост к выздоровлению» была успешно реализована у 5–10% взрослых пациентов [11, 12].

Ключевыми проблемами, не позволяющими LVAD стать полной альтернативой процедуре трансплантации сердца, являются разработка биосовместимых материалов и надежного механизма работы перекачивающего блока.

Идея протезирования насосной функции сердца естественно направляла инженеров по пути имитации пульсирующего кровотока, синхронизированного с собственным ритмом сердца. Так, в 1975 г. была создана первая генерация системы HeartMate (Thratec Corporation).

Принципиально этот насос представлял собой эластичную камеру, изменяющую объем за счет специальной установки, использующей силу нагнетающегося газа, жидкости или электромеханический способ. На входе и выходе из этой камеры устанавливались клапаны, обеспечивающие однонаправленность тока крови. Подобно живому сердцу в фазу наполнения кровь поступала в эластическую камеру насоса, после чего, в фазу изгнания, выбрасывалась в артериальную систему пациента. Первые устройства были достаточно громоздкими, требовали синхронизации с собственным ритмом сердца и были сложны в эксплуатации. Однако, несмотря на то что пульсирующий характер движения крови является физиологичным, в последующие годы в клинической практике применения LVAD у взрослых пациентов наибольшее распространение, получили устройства непульсирующего типа (более 94%) [13].

Ротационные насосы для крови имеют ряд важных преимуществ, одно из них – не требуют большого объема камеры для создания рабочего выброса, сравнимого с нативным желудочком сердца. В последующих поколениях насосов поток генерировался за счет вращения крыльчатки (импеллера) либо в виде осевого (прямого) или центробежного (от центра к тангенциальному краю) потока. Роторные насосы потребляют значительно меньше энергии, имеют меньше движущихся частей, не имеют клапанов и циклических приводов. В конструкциях второго поколения основными местами износа являются подшипники, в частности, известно, что расчетный срок службы устройств, реализуемых подшипниковую систему опоры ротора, составляет 1–2 года, при 9000–15 000 об/мин, и несмотря на многочисленные попытки адаптации работы этой части насоса в специфических условиях большинство проблем (тромбоз, поломка, исчерпание прочностного ресурса) так и не были решены [14].

В третьей генерации устройств механический износ был снижен за счет магнитного подвешивания ротора. Этот инновационный дизайн значительно повысил общую надежность и долговечность. Более низкие общие массы и объемы имплантируемых устройств делают системы третьего поколения применимыми к пациентам, с малой площадью поверхности

тела (маленькие женщины и дети). Без клапанов, источника компрессии насосного мешка и подшипников – роторные насосы третьего поколения значительно тише своих предшественников.

Несмотря на то что роторные насосы свободны от некоторых недостатков LVAD пульсирующего типа, они ставят ряд уникальных вопросов биосовместимости. Высокие частоты оборотов ротора (~5000–10 000 об/мин), требуемые для генерации расхода ~5 литров в минуту, подвергают элементы крови высоким пиковым напряжениям сдвига. И хотя эти напряжения имеют очень короткую продолжительность, это может приводить к гемолизу и активации тромбоцитов. Именно поэтому с этих позиций выгодно отличаются центробежные насосы дискового типа, позволяющие развивать расчетную производительность при минимальных (менее 3000 об/мин) оборотах ротора, минимизируя риск гемолиза крови [15, 16].

Помимо гемолиза одной из главных проблем, ограничивающих длительное использование любых моделей LVAD, являются тромбоэмболические осложнения. Трудность анализа тромбоэмболических осложнений определяется различиями в понимании критериев оценки. Тромбоэмболические осложнения варьируются от фокальных тканевых некрозов, определяемых только при гистологических исследованиях, до непроходящей неврологической симптоматики (инсульт). В данных, опубликованных в 2009 г. INTERMACS, было описано 199 неврологических, 14 артериальных и 33 венозных тромботических осложнений у 483 пациентов с LVAD в течение двухлетнего периода. В этом отчете неврологические события были ведущей причиной смерти (11%), что дополнительно подчеркивает трудность решения проблемы биосовместимости и ее настоящую актуальность [17].

Одним из способов борьбы с основными осложнениями являлось уменьшение площади внутренней поверхности насоса для снижения контактирующей с кровью поверхности. Так, площадь поверхности последних генераций насосов была значительно уменьшена (для HeartMate I площадь контактирующих с кровью поверхностей варьировалась от 400 до 500 см^2), но несмотря на это, проблема тромбоэмболизма осталась нерешенной. Другим способом решения этой проблемы стало ускорение процесса эндотелизации внутренней поверхности насоса, так, например, несмотря на большую площадь контактирующей с кровью поверхности в HeartMate XVE модели была успешно использована текстурированная поверхность. Контактирующие с кровью и тканями поверхности титановых канюль были покрыты спеченными титановыми микросферами диаметром 50–75 мкм (рис.), а на входе и выходе в насос были установлены ксеноперикардиальные клапаны 25 мм

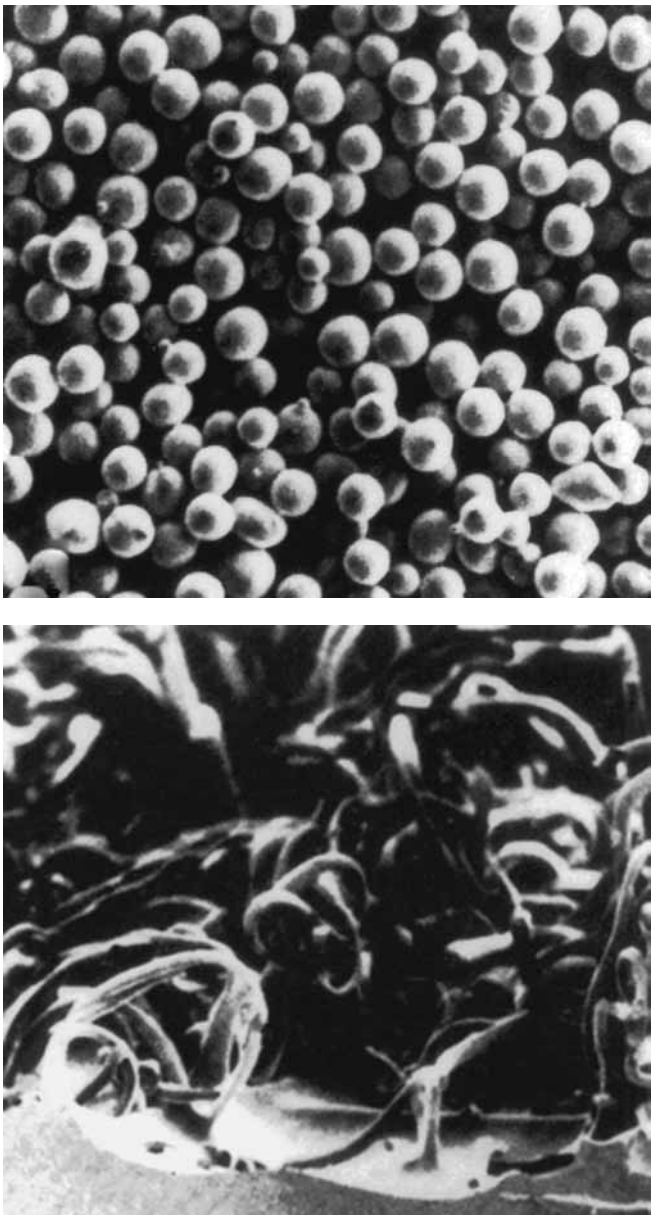

Рис. Текстурированная поверхность HeartMate XVE

Fig. Textured surface of the HeartMate XVE

(Medtronic). При этом диаметр фибрилл полностью текстурированной полиуретановой поверхности гибкой диафрагмы составлял приблизительно 18 мкм.

Несмотря на то что идея использования текстурированной поверхности поначалу казалась рискованной, данная концепция оказалась оригинальным решением проблемы биосовместимости. Быстро образующиеся и плотно фиксированные на внутренней поверхности сгустки гетерогенного состава, содержащие тромбоциты, моноциты, макрофаги, лимфоциты и мультипотентные циркулирующие клетки, создавали оптимальные условия для скорейшего (около 7 суток) формирования псевдоинтимы, значительно снижающей риск тромбоэмболизма [18].

В данном случае, формирование неоинтимы, по-видимому, происходило за счет естественного заноса плюрипотентных клеток потоком крови. При этом было показано, что толщина формирующейся неоинтимы не увеличивается более 150 мкм в течение года после имплантации [19].

Образующаяся псевдоинтима не обладает антитромботическими свойствами. Однако Spanier et al. предположили, что такая поверхность может работать путем создания устойчивой протромботической и потенциально провоспалительной среды, которая вызывает продолжающуюся коагуляцию через путь тканевого фактора. Расширенная фибринолитическая реакция организма, многократно описанная в литературе, служит естественной аутоантикоагуляцией для предотвращения развития тромбоэмболического синдрома. Помимо этого, впечатляющие клинические результаты первой генерации насоса могут объясняться тем, что образующиеся тромбы имеют гораздо меньшую вероятность миграции из-за более сильной адгезии с внеклеточным матриксом, присутствующим на поверхности.

К сожалению, эта концепция естественной модификации поверхности не может быть реализована в насосах с непрерывным потоком меньшего объема, и, вероятно, меньшие площади контактирующих с кровью поверхностей этих насосов могли бы компенсировать любой потенциальный повышенный риск.

Наибольший опыт применения среди всех имплантированных LVAD у HeartMate II, который был имплантирован более чем 10 000 пациентов в 300 различных клиниках мира. У пациентов до 70 лет без кардиогенного шока, диабета и почечной недостаточности поддержка кровообращения HeartMate II показала 1- и 2-летнюю выживаемость 80% и 70% соответственно, что сопоставимо с результатами трансплантации сердца, а результаты исследования PREVENT показали 4,8% риск тромбоза этого устройства в первые 6 месяцев после имплантации. А по данным Kreuziger et al., тромбоз HeartMate II встречается у 10% пациентов после имплантации [20–22].

Основной причиной тромбоза в этих случаях считается выделяющееся тепло в области приточной части подшипникового узла. Именно в этом месте чаще всего обнаруживались тромботические массы, по-видимому, это было связано с выделяющимся теплом во время вращения ротора, денатурацией белка и отложением фибрина. При гистологическом анализе тромбов, обнаруженных вокруг входного подшипника в HeartMate II, было обнаружено большое содержание фибрина, что подтверждает коагуляцинную теорию тромбоза. Терапия варфарином, уменьшая концентрацию II, VII, IX и X факторов свертывания, помогала снизить вероятность тромбоза [23, 24].

Однако искусственные поверхности могут напрямую активировать белки внутреннего пути – факторы XI и XII, на которые варфарин не оказывает никакого влияния, тогда как для активности внутреннего пути существенное значение имеет характер генерируемого LVAD потока. Было доказано абсолютное снижение на 40–50% XI и XII факторов свертываемости после имплантации LVAD пульсирующего типа [25].

Последняя генерация HeartMate III (Abbott, Chicago, IL) с полностью магнитным подвесом ротора имеет программное обеспечение, позволяющее генерировать пульсирующий характер потока. Первое крупное исследование, проведенное в 10 центрах (Европа, Казахстан, Канада, Австралия) продемонстрировало отличные результаты: отсутствие гемолиза, тромбоза или отказа в работе в течение 12 месяцев, при этом не было зафиксировано ни одного случая инсульта [26, 27]. По данным Krabatsch et al., выживаемость составила 92% через 6 месяцев и 81% через 12 месяцев [28].

Однако, по данным опубликованного в 2018 году исследования Konstantin et al., сравнивающего три различных LVAD – HeartMate II, HeartMate III и HeartWare, общая 30-дневная выживаемость составила 70,4%, годовая – 51,9% и 5-летняя – 38% без существенной разницы в частоте осложнений между этими тремя моделями LVAD, и несмотря на значительные преимущества последних генераций насоса, вероятность смерти по причине тромбоза насоса и последующего эмболического инсульта составила 24% в течение 3 месяцев после имплантации [29, 30].

Поскольку риск тромбобразования главным образом определяет гемодинамический профиль потока в полостях насоса, имеющиеся теоретические доказательства и ранее выполненные экспериментальные исследования создают очевидные предпосылки для рассмотрения дисковых насосов (насосов вязкого трения) на основе турбины Тесла в качестве устройств вспомогательного кровообращения [31].

В таких устройствах центробежная сила создает равномерный гидравлический профиль скоростей и обеспечивает перекачку жидкой среды без пульсаций и вибраций с формированием пограничного слоя. Пограничный слой не только передает кинетическую энергию жидкости, находящейся между дисками, но и работает в качестве молекулярного буфера между поверхностью диска и кровью. Вокруг поверхностей вращающихся дисков образуется безэлементный слой плазмы крови, минимизирующий контакт клеток крови с поверхностью дисков [32, 33].

Несмотря на обнадеживающие результаты первых испытаний новой модели дискового насоса, показавших минимальный уровень клеточной травмы крови, во многом благодаря модификации поверхности a-C:H:SiO_x пленкой, риск тромбоза и частота развития других осложнений остаются до конца не изученными [34, 35].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На сегодняшний день ни одна из существующих моделей LVAD не способна обеспечить полное отсутствие тромбоэмболических осложнений и гемолиза. Проведенный анализ литературных данных и последние эксперименты по адаптации имплантируемых материалов определяют по-прежнему высокую степень актуальности данной проблемы.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Barnard CN*. Human cardiac transplant: An interim report of a successful operation performed at Groote Schuur Hospital, Cape Town. *South African Medical Journal*. 1967; 41 (48): 1271–1274.
2. Blood N.H.S. Transplant. Organ Donation and Transplantation activity figures for the UK as at 12 April 2013. 2014.
3. *Messer S, Ardehali A, Tsui S*. Normothermic donor heart perfusion: current clinical experience and the future. *Transplant International*. 2015; 28 (6): 634–642.
4. Canadian Institute for Health Information. Canadian Organ Replacement Register Annual Report: Treatment of End-Stage Organ Failure in Canada, 2004 to 2013. Ottawa, ON: Canadian Institute for Health Information; (2015).
5. National Center for Health Statistics (US et al. Health, United States, 2018. 2019.
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. *Gauthier SV, Khomyakov SM*. Organ donation and transplantation in the Russian Federation in 2018. XI message of the register of the Russian transplant society. *Bulletin of transplantology and artificial organs*. 2019; 21 (3): 7–32.
7. *Ammar KA, Jacobsen SJ, Mahoney DW, Kors JA, Redfield MM, Burnett Jr JC, Rodeheffer RJ*. Clinical perspective. *Circulation*. 2007; 115 (12): 1563–1570.
8. *Englert JAR, Davis JA, Krim SR*. Mechanical circulatory support for the failing heart: Continuous-flow left ventricular assist devices. *Ochsner Journal*. 2016; 16 (3): 263–269.
9. *Mehta PA, Dubrey SW, McIntyre HF, Walker DM, Hardman SM, Sutton GC, Cowie MR*. Improving survival in the 6 months after diagnosis of heart failure in the past decade: population-based data from the UK. *Heart*. 2009; 95 (22): 1851–1856.
10. *Rogers JG, Pagani FD, Tatooles AJ, Bhat G, Slaughter MS, Birks EJ, Gregoric ID*. Intrapericardial left ventricular assist device for advanced heart failure. *New England Journal of Medicine*. 2017; 376 (5): 451–460.
11. *Massad MG, McCarthy PM, Smedira NG, Cook DJ, Ratliff NB, Goormastic M, Stewart RW*. Does successful bridging with the implantable left ventricular assist device affect cardiac transplantation outcome? *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 1996; 112 (5): 1275–1283.
12. *Simon MA, Kormos RL, Murali S, Nair P, Heffernan M, Gorcsan J, McNamara DM*. Myocardial recovery using ventricular assist devices: prevalence, clinical characteristics, and outcomes. *Circulation*. 2005; 112 (9_supplement): I-32–I-36.
13. *Kirklin JK et al*. The fourth INTERMACS annual report: 4,000 implants and counting. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2012; 31 (2): 117–126.
14. *Парашин ВБ, Иткин ГП, Щукин СИ*. Биомеханика кровообращения. М.: Изд-во МГТУ, 2005. *Parashin VB, Itkin GP, Shchukin SI*. Biomechanics of blood circulation. M.: Publishing house of MSTU, 2005.
15. *Жульков МО, Головин АМ, Головина ЕО, Гренадеров АС, Фомичев АВ, Альсов СА, Чернявский АМ*. Исследование гемолитических свойств насоса дискового типа. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2020; 24 (1): 87–93. *Zhulkov MO, Golovin AM, Golovina EO, Grenaderov AS, Fomichev AV, Alsov SA, Chernyavsky AM*. Investigation of the hemolytic properties of a disk-type pump. *Blood circulation pathology and cardiac surgery*. 2020. T. 24. No. 1. S. 87–93.
16. *Medvedev AE, Fomin VM, Chernyavskiy AM, Prikhodko YM, Zhulkov MO, Golovin AM*. Implanted system of mechanical support of the disk-based heart pump viscous friction. AIP Conference Proceedings. AIP Publishing LLC, 2018; 2027 (1): 030149.
17. *Holman WL, Pae WE, Teutenberg JJ, Acker MA, Naftel DC, Sun BC, Kirklin JK*. INTERMACS: interval analysis of registry data. *Journal of the American College of Surgeons*. 2009; 208 (5): 755–761.
18. *Rafii S, Oz MC, Seldomridge JA, Ferris B, Asch AS, Nachman RL, Levin HR*. Characterization of hematopoietic cells arising on the textured surface of left ventricular assist devices. *The Annals of thoracic surgery*. 1995; 60 (6): 1627–1632.
19. *Menconi MJ, Pockwinse S, Owen TA, Dasse KA, Stein GS, Lian JB*. Properties of blood-contacting surfaces of clinically implanted cardiac assist devices: Gene expression, matrix composition, and ultrastructural characterization of cellular linings. *Journal of cellular biochemistry*. 1995; 57 (3): 557–573.
20. *Kirklin JK, Naftel DC, Pagani FD, Kormos RL, Stevenson L, Miller M, Young JB*. Long-term mechanical circulatory support (destination therapy): on track to compete with heart transplantation? *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 2012; 144 (3): 584–603.
21. *Maltais S, Kilic A, Nathan S, Keebler M, Emani S, Ransom J, Entwistle III JW*. PREVENtion of HeartMate II pump thrombosis through clinical management: the PREVENT multi-center study. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2017; 36 (1): 1–12.
22. *Kreuziger LB, Slaughter MS, Sundareswaran K, Mast AE*. Clinical relevance of histopathologic analysis of HeartMate II thrombi. *ASAIO journal (American So-*

ciety for Artificial Internal Organs: 1992). 2018; 64 (6): 754.

23. *Maltais S, Kilic A, Nathan S, Keebler M, Emani S, Ransom J, Entwistle III JW*. PREVENtion of HeartMate II pump thrombosis through clinical management: the PREVENT multi-center study. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2017; 36 (1): 1–12.
24. *Hamaguchi S, Hirose T, Akeda Y, Matsumoto N, Irisawa T, Seki M, Tomono K*. Identification of neutrophil extracellular traps in the blood of patients with systemic inflammatory response syndrome. *Journal of international medical research*. 2013; 41 (1): 162–168.
25. *Büller HR, Bethune C, Bhanot S, Gailani D, Monia BP, Raskob GE, Weitz JI*. Factor XI antisense oligonucleotide for prevention of venous thrombosis. *New England Journal of Medicine*. 2015; 372 (3): 232–240.
26. *Zimpfer D, Netuka I, Schmitto JD, Pya Y, Garbade J, Morshuis M, Sood P*. Multicentre clinical trial experience with the HeartMate 3 left ventricular assist device: 30-day outcomes. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. 2016; 50 (3): 548–554.
27. *Netuka I, Sood P, Pya Y, Zimpfer D, Krabatsch T, Garbade J, Damme L*. Fully magnetically levitated left ventricular assist system for treating advanced HF: a multicenter study. *Journal of the American College of Cardiology*. 2015; 66 (23): 2579–2589.
28. *Krabatsch T, Netuka I, Schmitto JD, Zimpfer D, Garbade J, Rao V, Pya Y*. Heartmate 3 fully magnetically levitated left ventricular assist device for the treatment of advanced heart failure – 1 year results from the Ce mark trial. *Journal of cardiothoracic surgery*. 2017; 12 (1): 23.
29. *Zhigalov K, Mashhour A, Szczechowicz M, Mkalaluh S, Karagezian S, Gogia I, Eichstaedt HC*. Clinical Outcome and Comparison of three different left ventricular assist devices in a high-risk cohort. *Artificial organs*. 2018; 42 (11): 1035–1042.
30. *Smedira NG, Blackstone EH, Ehrlinger J, Thuita L, Pierce CD, Moazami N, Starling RC*. Current risks of HeartMate II pump thrombosis: non-parametric analysis of Interagency Registry for Mechanically Assisted Circulatory Support data. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2015; 34 (12): 1527–1534.
31. *Medvedev AE, Fomin VM, Samsonov VI*. Mathematical modeling of the blood flow in blood vessels. Circulatory System and Arterial Hypertension: Experimental Investigation, Mathematical and Computer Simulation. 2012: 55–114.
32. *Медведев АЕ*. Двухфазная модель течения крови. *Российский журнал биомеханики*. 2013; 4. *Medvedev AE*. Two-phase model of blood flow. Russian journal of biomechanics. 2013; 4.
33. *Izraelev V et al*. A passively-suspended Tesla pump left ventricular assist device. *ASAIO journal (American Society for Artificial Internal Organs: 1992)*. 2009; 55 (6): 556.
34. *Grenadyorov AS, Solovyev AA, Oskomov KV, Onischenko SA, Chernyavskiy AM, Zhulkov MO, Kaichev VV*. Modifying the surface of a titanium alloy with an electron beam and aC: H: SiOx coating deposition to reduce hemolysis in cardiac assist devices. *Surface and Coatings Technology*. 2020; 381: 125113.
35. *Жульков МО, Головин АМ, Головина ЕО, Гренадеров АС, Фомичев АВ, Альсов СА, Чернявский АМ*. Исследование гемолитических свойств насоса дискового типа. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2020; 24 (1): 87–93. *Zhulkov MO, Golovin AM, Golovina EO, Grenaderov AS, Fomichev AV, Alsov SA, Chernyavsky AM*. Investigation of the hemolytic properties of a disk-type pump. *Blood circulation pathology and cardiac surgery*. 2020; 24 (1): 87–93.

Статья поступила в редакцию 2.06.2020 г.
The article was submitted to the journal on 2.06.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-4-89-97

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ КЛЕТОЧНО-ИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ ПЕЧЕНИ НА ОСНОВЕ ТКАНЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО МАТРИКСА (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ХРОНИЧЕСКОЙ ПЕЧЕНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ)

М.Ю. Шагидулин[1, 2], Н.А. Онищенко[1], Ю.Б. Басок[1], А.М. Григорьев[1], А.Д. Кириллова[1], Е.А. Немец[1], Е.А. Волкова[1], И.М. Ильинский[1], Н.П. Можейко[1], В.И. Севастьянов[1], 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

Цель. Исследовать на экспериментальной модели хронической печеночной недостаточности (ХПН) функциональную эффективность клеточно-инженерной конструкции (КИК) печени на основе тканеспецифического матрикса из фрагментов децеллюляризованной печени крысы, аллогенных клеток печени и мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга (ММСК КМ). **Материалы и методы.** При создании КИК печени источниками печени для децеллюляризации и клеток печени были крысы-самцы породы Вистар, ММСК КМ выделяли из костного мозга крыс. Функциональную эффективность КИК исследовали на экспериментальной модели ХПН, получаемой затравкой крыс раствором CCl_4. На разных сроках после имплантации результаты оценивали по биохимическим показателям цитолиза, гистохимическими методами анализировали морфологические изменения в печени в контрольной (введение в паренхиму печени физиологического раствора) и экспериментальной (введение в паренхиму печени КИК печени) группах. **Результаты.** Показано, что имплантация предложенной КИК обеспечивает более быструю нормализацию биохимических показателей крови и структурных нарушений поврежденной печени крыс (к 30 суткам после введения КИК вместо 180 суток в контроле) и снижение летальности животных с 50 до 0%, что обусловлено более ранней активацией процессов пролиферации жизнеспособных клеток печени и более быстрым формированием новых кровеносных сосудов. Наблюдаемые эффекты можно объяснить либо стимулированием внутреннего регенеративного потенциала поврежденной печени при имплантации КИК, либо длительным функционированием пересаженных клеток в составе КИК на основе децеллюляризованного матрикса печени. **Заключение.** Полученные результаты доказывают наличие функциональной активности КИК печени, имплантируемой в паренхиму печени лабораторным животным с моделью ХПН.

Ключевые слова: печень, печеночная недостаточность, регенерация, клеточно-инженерные конструкции, биоискусственные органы, матриксы.

Для корреспонденции: Шагидулин Мурат Юнусович. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (499) 196-87-90. E-mail: dr.shagidulin@mail.ru

Corresponding author: Murat Shagidulin. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (499) 196-87-90. E-mail: dr.shagidulin@mail.ru

FUNCTIONAL EFFICIENCY OF CELL-ENGINEERED LIVER CONSTRUCTS BASED ON TISSUE-SPECIFIC MATRIX (EXPERIMENTAL MODEL OF CHRONIC LIVER FAILURE)

M.Yu. Shagidulin[1, 2], N.A. Onishchenko[1], Yu.B. Basok[1], A.M. Grigoriev[1], A.D. Kirillova[1], E.A. Nemets[1], E.A. Volkova[1], I.M. Iljinsky[1], N.P. Mozheiko[1], V.I. Sevastianov[1], 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

Objective: to investigate the functional efficiency of a cell-engineered construct (CEC) of the liver based on tissue-specific matrix consisting of decellularized rat liver fragments, allogeneic liver cells and multipotent mesenchymal stromal cells (MSCs) isolated from the bone marrow on an experimental model of chronic liver failure (CLF). **Materials and methods.** In creating liver CECs, the liver for decellularization and liver cells were obtained from male Wistar rats. MSCs were isolated from rat bone marrow. The functional efficacy of CEC was investigated on an experimental CLF model obtained by priming rats with CCl_4 solution. At different periods after implantation, the outcomes were assessed based on the biochemical parameters of cytolysis. Morphological changes in the liver were analyzed by histochemical methods in the control (administration of saline solution into the liver parenchyma) and experimental (administration of liver CEC into the liver parenchyma) groups. **Results.** It was shown that implantation of the proposed CEC normalizes blood biochemical parameters and structural disorders of the damaged rat liver faster (by day 30 after introduction of CEC instead of day 180 in the control). The CEC was also shown to have reduced animal mortality from 50 to 0%, which is due to early activation of proliferation of viable liver cells and faster formation of new blood vessels. These effects are down to either stimulation of the internal regenerative potential of the damaged liver during CEC implantation or long-term functioning of the transplanted cells as part of the CEC based on the decellularized liver matrix. **Conclusion.** The liver CEC, implanted into the liver parenchyma in laboratory animals with a CLF model, has a functional activity.

Keywords: liver, liver failure, regeneration, cell-engineered constructs, bioartificial organs, matrixes.

ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация печени является «золотым стандартом» для лечения пациентов с терминальной стадией заболеваний печени, однако дефицит донорских органов ограничивает широкое использование единственно радикального на сегодняшний день метода лечения декомпенсированных заболеваний печени. Значительное превышение количества пациентов, нуждающихся в трансплантации печени, над числом появляющихся органов, пригодных для пересадки, указывает на необходимость разработки альтернативных путей лечения, среди которых наиболее перспективно выглядит использование методов регенеративной медицины и тканевой инженерии [1, 2].

Большинство технических подходов в области тканевой инженерии печени основаны на выделении первичных гепатоцитов или получении из стволовых клеток гепатоцитоподобных клеток и их дальнейшем 3D-культивировании [3]. Отметим, что в составе клеточно-инженерных конструкций (КИК) при лечении ряда заболеваний печени целесообразно использовать мезенхимальные стромальные клетки для стимуляции регенерации органа [4]. Для обеспечения клеткам в составе КИК благоприятных условий для жизнедеятельности используют биосовместимые и биорезорбируемые матриксы.

Наибольший, с нашей точки зрения, интерес представляют собой децеллюляризованные носители/каркасы, относящиеся к классу биомиметиков внеклеточного матрикса (ВКМ) и получаемые путем удаления клеток и их фрагментов из ткани с максимальным сохранением структуры и состава естественного ВКМ [5, 6].

Множество работ посвящены децеллюляризации целого органа путем перфузии растворами поверхностно-активных веществ (ПАВ) и ферментов [7]. Подобный подход описан для сердца, почки, поджелудочной железы, матки [8–11]. Заметим, что децеллюляризация целой печени имеет ряд недостатков: низкая эффективность удаления клеточного детрита и сложность проникновения клеток, питательных веществ и газов в объем органа из-за нарушений микроциркуляции. В предыдущих работах нами был получен тканеспецифический матрикс из фрагментов децеллюляризованной печени крысы с сохранной структурой и отсутствием клеток и клеточных фрагментов [12]. Следующим логическим шагом является создание КИК печени, состоящей из тканеспецифического матрикса, клеток печени (КП) и

мультипотентных мезенхимальных клеток костного мозга (ММСК КМ) с последующим доказательством ее функциональной эффективности на экспериментальной модели хронической печеночной недостаточности (ХПН), что и стало целью данной работы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для решения поставленных задач проведены экспериментальные исследования на 60 крысах-самцах породы Вистар весом 250 г. Животных содержали в условиях вивария при температуре 18–20 °С на смешанном рационе питания при свободном доступе к воде. Эксперименты на животных проводились с 9 до 19 часов при комнатной температуре (t = 22–24 °С). 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 Experimtntal and other Scientifi c Purposes (ETS 123) Strasbourg, 1986).

Эксперименты были выполнены на 60 крысах-самцах породы Вистар весом 250 г. Из них 10 крыс были использованы в качестве доноров КП и 10 крыс – в качестве доноров печени для децеллюляризации. Срок эксперимента составил 180 суток наблюдения.

Фрагменты печени крыс (n = 10) размером не более чем 2 × 2 × 2 мм получали с использованием скальпеля и ножниц. Децеллюляризацию фрагментов печени крысы 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 и повышающуюся концентрацию Triton X-100: 1%, 2% и 3% [12]. Общее время децеллюляризации составляло 72 ч – по 24 ч для каждой смены раствора ПАВ при перемешивании на магнитной мешалке. Для получения микрочастиц фрагменты децеллюляризованной печени помещали в криомельницу CryoMill RETSCH (Retsch GmbH, Германия) и измельчали в режиме, включавшем 3 цикла помола продолжительностью 3 минуты при частоте 25 Гц. Фракция частиц размером 100–250 мкм была выделена с применением сит соответствующих размеров.

Отмывка 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. Отмытые образцы стерилизовали γ-облучением в дозе 1,5 Мрад.

Работа по выделению КП и ММСК КМ и их культивированию проводилась в соответствии с общими принципами осуществления культуральных исследований на 10 крысах-самцах породы Вистар весом 250 г.

Для заселения децеллюляризованного матрикса печени клеточными компонентами по известной методике [15] использовали ранее установленное оптимальное соотношение клеток – КП : ММСК КМ = 5 : 1 [17]. Предварительное перед имплантацией сокультивирование КП и ММСК КМ осуществляли в том же соотношении 5 : 1 в течение 3 суток.

Следует отметить, что введение ММСК КМ в состав клеточной компоненты КИК обусловлено их способностью индуцировать процессы пролиферации клеток, в том числе за счет их собственной трансдифференцировки [17].

Функциональную эффективность полученной КИК печени оценивали на модели ХПН.

ХПН моделировали на крысах-самцах породы Вистар весом 250 г (n = 40) путем затравки крыс раствором CCl_4 по модифицированной нами схеме [16]. Контроль адекватности созданной модели ХПН оценивали по уровню летальности и выживаемости животных, состоянию биохимических показателей крови и морфологическим характеристикам состояния печени. На этапе моделирования ХПН 9 крыс погибло, что составило 22,5%.

В результате после моделирования ХПН оставшиеся в живых крысы с экспериментальной моделью ХПН были разделены на 2 группы: контрольная группа 1 – 16 животных, в паренхиму поврежденной печени которым вводили физиологический раствор, и экспериментальная группа 2 – 15 особей, в паренхиму поврежденной печени которым вводили КИК печени на 7-е сутки после окончания затравки CCl_4. Иммуносупрессию не применяли.

Крыс контрольной и экспериментальной групп выводили из эксперимента на 28–30-е, 90-е и 180-е сутки путем внутрибрюшинного введения тиопентала натрия в дозировке, вызывающей остановку дыхания. На вышеуказанных сроках, перед полной остановкой дыхания, осуществляли забор венозной крови для биохимических исследований. Функцию печени (уровень АлАТ, АсАТ, билирубина, ГГТ, щелочной фосфатазы) исследовали с помощью биохимического анализатора Reflotron™ (Roche, Швейцария) при использовании специальных тест-полосок Reflotron™ (точность измерения ±0,5%; воспроизводимость ≤0,2%; линейность ±0,05%).

После полной остановки дыхания проводили эксплантацию печени для ее морфологических исследований. Осуществляли биопсию здоровой и поврежденной печени: печеночной недостаточности без лечения – контроль; печеночной недостаточности с лечением, исследования проводили в зонах имплантации КИК и вне зон имплантации КИК через 28–30, 90, 180 суток эксперимента. Оценивали данные световой микроскопии с окрашиванием срезов гематоксилином и эозином, по Ван-Гизону и по Маллори.

Использовали микроскоп Leica DM 6000 B и камеру Leica LTDCH 9435 (Германия).

Морфометрический анализ осуществляли с использованием программы ImageScopeM (ООО «Системы для микроскопии и анализа», Россия) с использованием микроскопа Leica DM 1000 и камеры Leica LTDCH 9435 DFC 295 (Leica Camera AG, Германия). Морфометрически определяли наличие цирроза (подсчет количества ложных долек); удельную площадь соединительной ткани (в % соотношении к общей площади среза печени) [18, 19].

Жизнеспособность КП в составе КИК печени оценивали с помощью иммуногистохимического метода окраски с гепатоцитоспецифическими антигенами (ОСН1ЕБ).

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли с помощью компьютерного статистического пакета Biostat; достоверность различий оценивали по t-критерию Стьюдента с учетом поправки Бонферонни.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

После окончания затравки клиническое состояние выживших животных характеризовалось снижением массы тела, адинамией и частичным облысением животных. На протяжении всего времени эксперимента (180 суток) в контрольной группе на фоне ХПН на разных сроках дополнительно погибло еще 50% (n = 8) крыс. В экспериментальной группе к этому же сроку выживаемость крыс составила 100%. В связи с этим оценку функциональных и морфологических изменений в печени экспериментальных животных после моделирования ХПН исследовали на 8 и 15 крысах в контрольной и экспериментальной группах соответственно. Отсутствие летальности в экспериментальной группе позволило нам прийти к заключению о положительном влиянии имплантированной КИК на выживаемость крыс с моделью ХПН. На рис. 1 представлен макропрепарат печени крысы после окончания затравки, т. е. на 42-е сутки после начала затравки CCl_4. Печень плотная и увеличена в размерах. Поверхность мелкобугристая, с закругленными краями.

Микроскопически уже в течение первого месяца после окончания затравки выявляли типичную картину цирротической трансформации архитектоники печени с прогрессирующим нарушением ее структуры на более поздних сроках наблюдения (особенно к 60-м и 90-м суткам) из-за разрастания соединительной ткани и формирующегося фиброза (рис. 2).

После децеллюляризации [12] фрагменты печени были отмыты полностью от КП (рис. 3) с последующем заселением полученного тканеспецифического матрикса клеточными компонентами КП и ММСК КМ.

Рис. 1. Печень крысы после окончания токсического повреждения, 42-е сутки

Fig. 1. Rat liver after injection, 42 days

Данные гистологического исследования, представленные на рис. 4, демонстрируют наличие адгезированных гепатоцитов на децеллюляризованном матриксе печени крысы.

Через 90 и 180 суток после имплантации КИК, представляющей собой мелкодисперсные частицы децеллюляризованной ткани печени с засеянными на ней КП и ММСК КМ в соотношении 5 : 1, были выявлены жизнеспособные и функционирующие гепатоциты (рис. 5).

На сроке 90 суток клетки донорской печени, сокультивированные с ММСК КМ, формировали в составе КИК ассоциаты жизнеспособных и функционально активных клеток. Выраженная воспалительная реакция и признаки отторжения отсутствовали. Аналогичные данные были получены на сроке 180 суток имплантации КИК.

Для количественной оценки изменений, возникающих в структуре печени крыс с моделью ХПН обеих групп, было проведено морфометрическое исследование состояния непаренхиматозных струк-

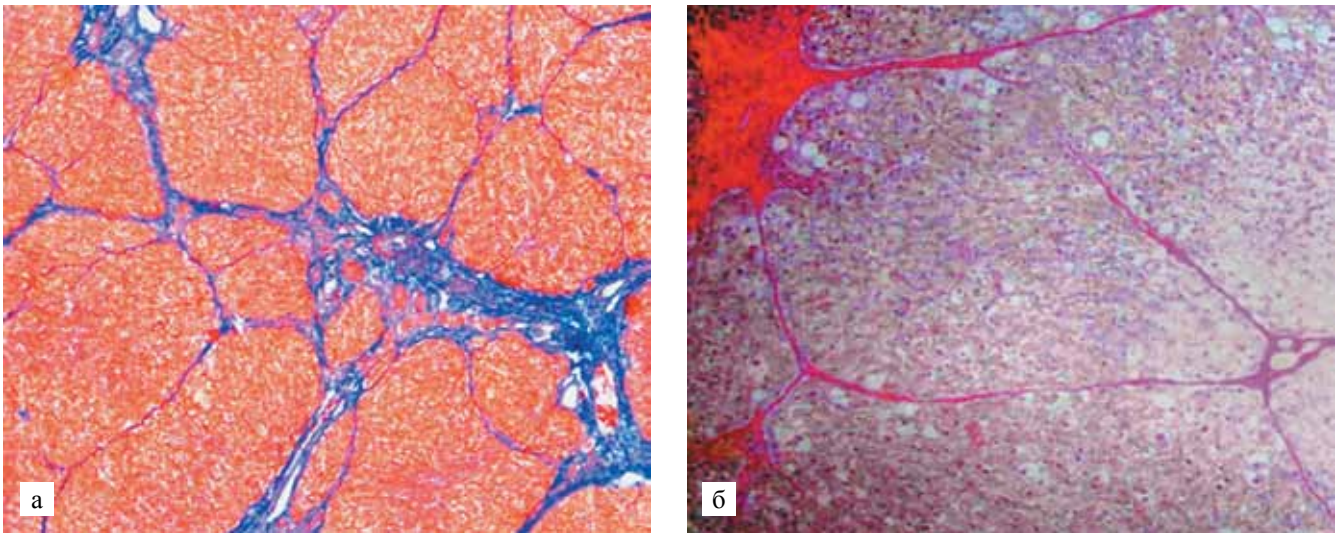

Рис. 2. Ткань печени крысы после окончания моделирования ХПН (затравка CCl_4 = 42 суток): а – срок 90 суток, ложные дольки; окраска на соединительную ткань по Маллори; б – срок 180 суток, сформированные ложные дольки, склероз и цирроз печени; окраска по Ван-Гизону. ×100

Fig. 2. Rat liver tissue after CLF modeling (CCl_4 injection = 42 days): a – 90 days, false lobules; Mallory staining for connective tissue; б – 180 days, formed false lobules, sclerosis and cirrhosis; Van Gieson's stain. ×100

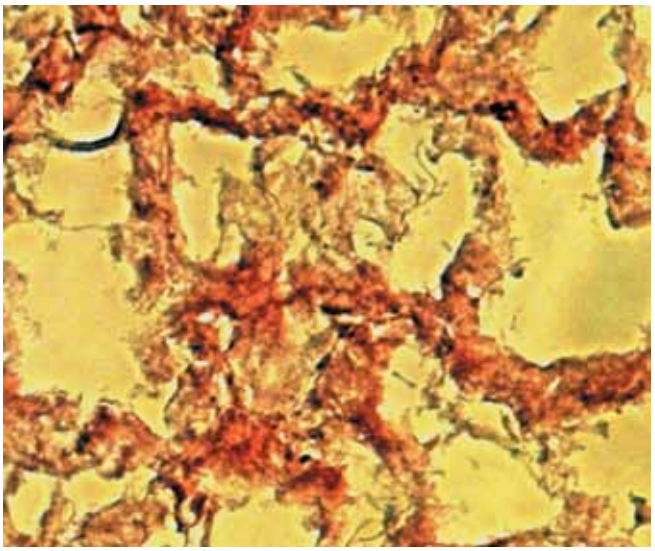

Рис. 3. Фрагмент децеллюляризованной печени крысы. Окраска гематоксилином и эозином. ×200

Fig. 3. Fragment of decellularized rat liver. H&E stain. ×200

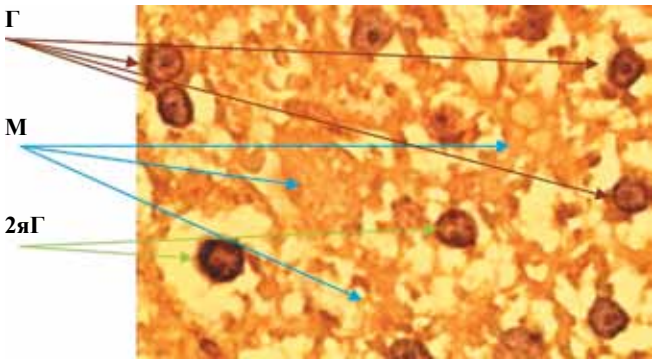

Рис. 4. Гепатоциты, адгезированные на тканеспецифическом матриксе печени. М – децеллюляризованный матрикс печени; Г – адгезированные гепатоциты; 2яГ – двуядерные гепатоциты. Окраска гематоксилином и эозином. ×400

Fig. 4. Hepatocytes adhered to the tissue-specific liver matrix. M – decellularized liver matrix; Г – adhered hepatocytes; 2яГ – binuclear hepatocytes. H&E stain. ×400

тур (определение удельной площади соединительной ткани и количества ложных долек в печени) на разных сроках в течение 180 суток. Было установлено, что в группе 2 через 60–90 суток после введения КИК печени происходит восстановление как паренхимы, так и непаренхиматозных структур. Это подтверждает динамическое морфометрическое исследование снижения удельной площади соединительной ткани печени и количества ложных долек в ней (рис. 6).

Оценку функции печени проводили в динамике путем измерения биохимических показателей сыворотки крови. Определение уровня ферментов цитолиза (АлАТ; АсАТ; ЩФ) в сыворотке крови животных (рис. 7) позволило установить резкое повышение уровня этих ферментов в течение первых 2 недель затравки. После окончания затравки спустя 7 суток уровень АлАТ и АсАТ повысился более чем в 4,5 и 3 раза соответственно, а уровень ЩФ увеличился почти в 5 раз. Спустя 28–30 суток после окончания затравки уровни ферментов цитолиза снижались, но продолжали длительно оставаться на достоверно ($p < 0,05$) более высоком уровне (рис. 7) по сравнению

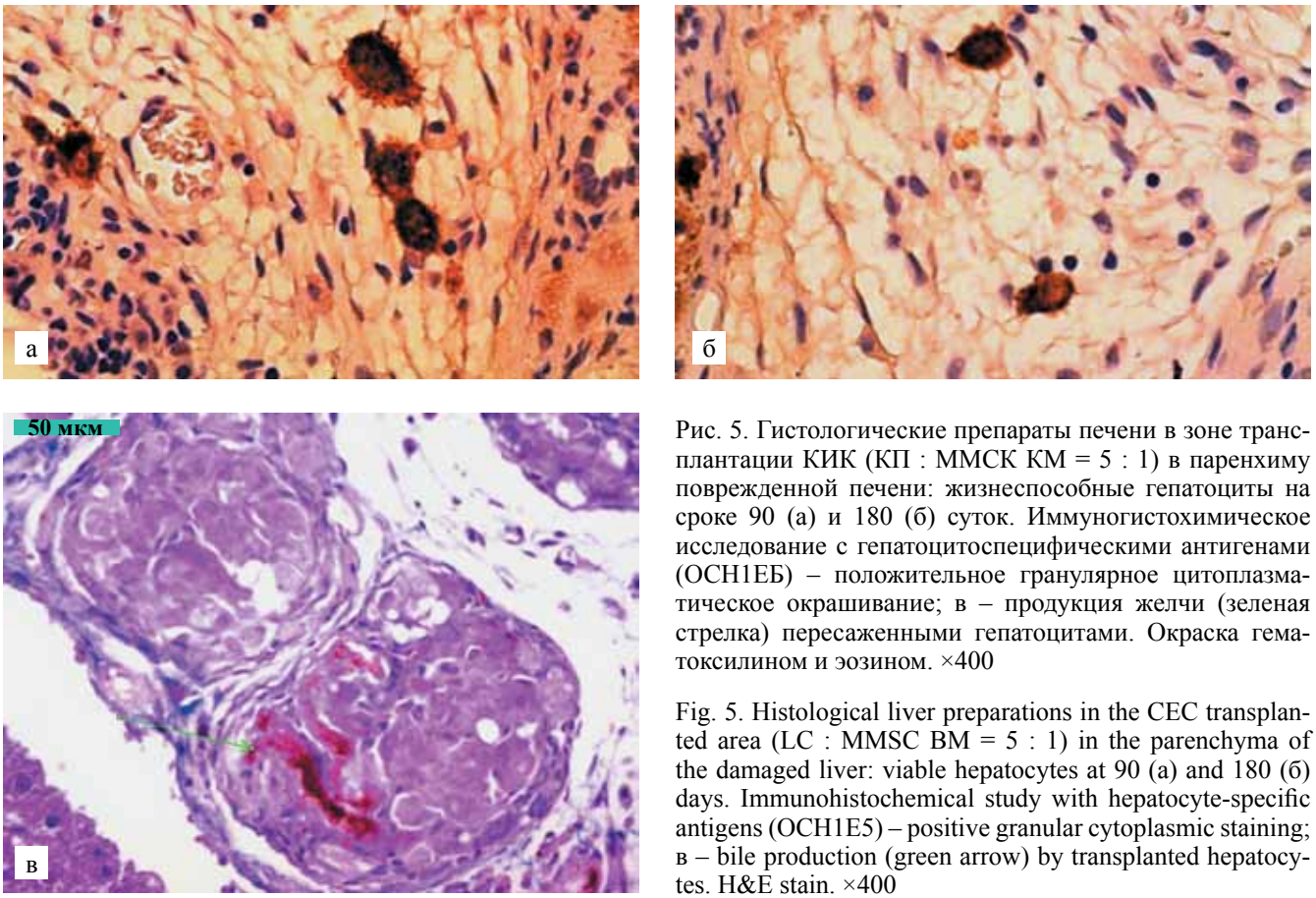

Рис. 5. Гистологические препараты печени в зоне трансплантации КИК (КП : ММСК КМ = 5 : 1) в паренхиму поврежденной печени: жизнеспособные гепатоциты на сроке 90 (а) и 180 (б) суток. Иммуногистохимическое исследование с гепатоцитоспецифическими антигенами (ОСН1ЕБ) – положительное гранулярное цитоплазматическое окрашивание; в – продукция желчи (зеленая стрелка) пересаженными гепатоцитами. Окраска гематоксилином и эозином. ×400

Fig. 5. Histological liver preparations in the CEC transplanted area (LC : MMSC BM = 5 : 1) in the parenchyma of the damaged liver: viable hepatocytes at 90 (a) and 180 (б) days. Immunohistochemical study with hepatocyte-specific antigens (OCH1E5) – positive granular cytoplasmic staining; в – bile production (green arrow) by transplanted hepatocytes. H&E stain. ×400

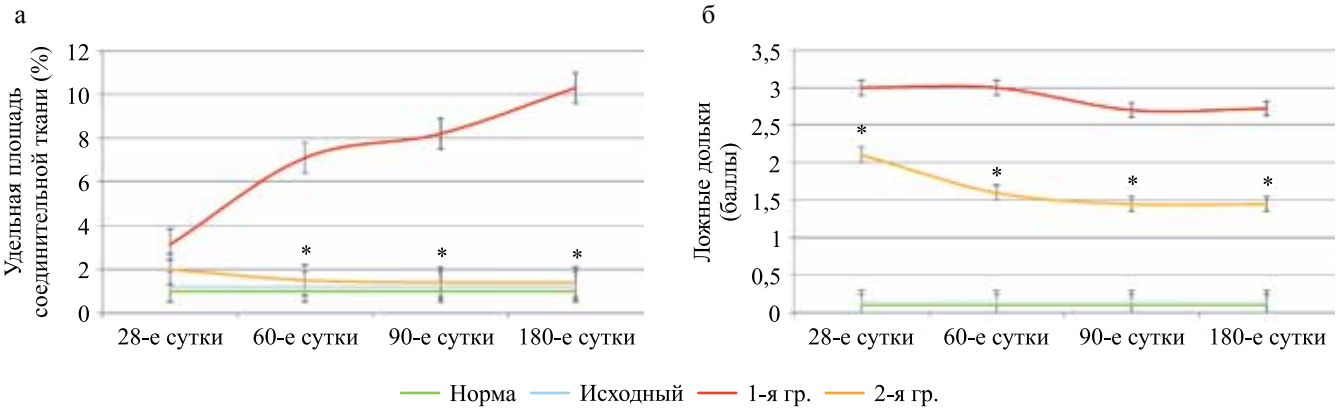

Рис. 6. Динамическая морфометрическая оценка состояния непаренхиматозных структур печени крыс при моделировании хронической печеночной недостаточности и имплантации КИК: а – изменение удельной площади соединительной ткани; б – подсчет количества ложных долек в печени. Группа 1 – контроль (физиологический раствор); группа 2 – КИК печени. * – Различие достоверно по сравнению с уровнем показателя в печени крыс контрольной группы, $p < 0,05$

Fig. 6. Dynamic morphometric assessment of the state of non-parenchymal structures of the rat liver during CLF modeling and CEC implantation: a – change in the specific area of connective tissue; б – counting the number of false lobules in the liver. Group 1 – control (saline); group 2 – liver CEC. * – The difference is significant compared to the level of the indicator in the rat liver in the control group, $p < 0.05$

с нормальными показателями у интактных животных на протяжении 180 суток. В экспериментальной группе также наблюдали цитолитические процессы в паренхиматозных клетках печени, но которые были достоверно менее интенсивные, чем в контрольной группе, а соответствующие показатели достигали нормальных значений к 30-м суткам после имплантации КИК, тогда как в контроле нормализация значе-

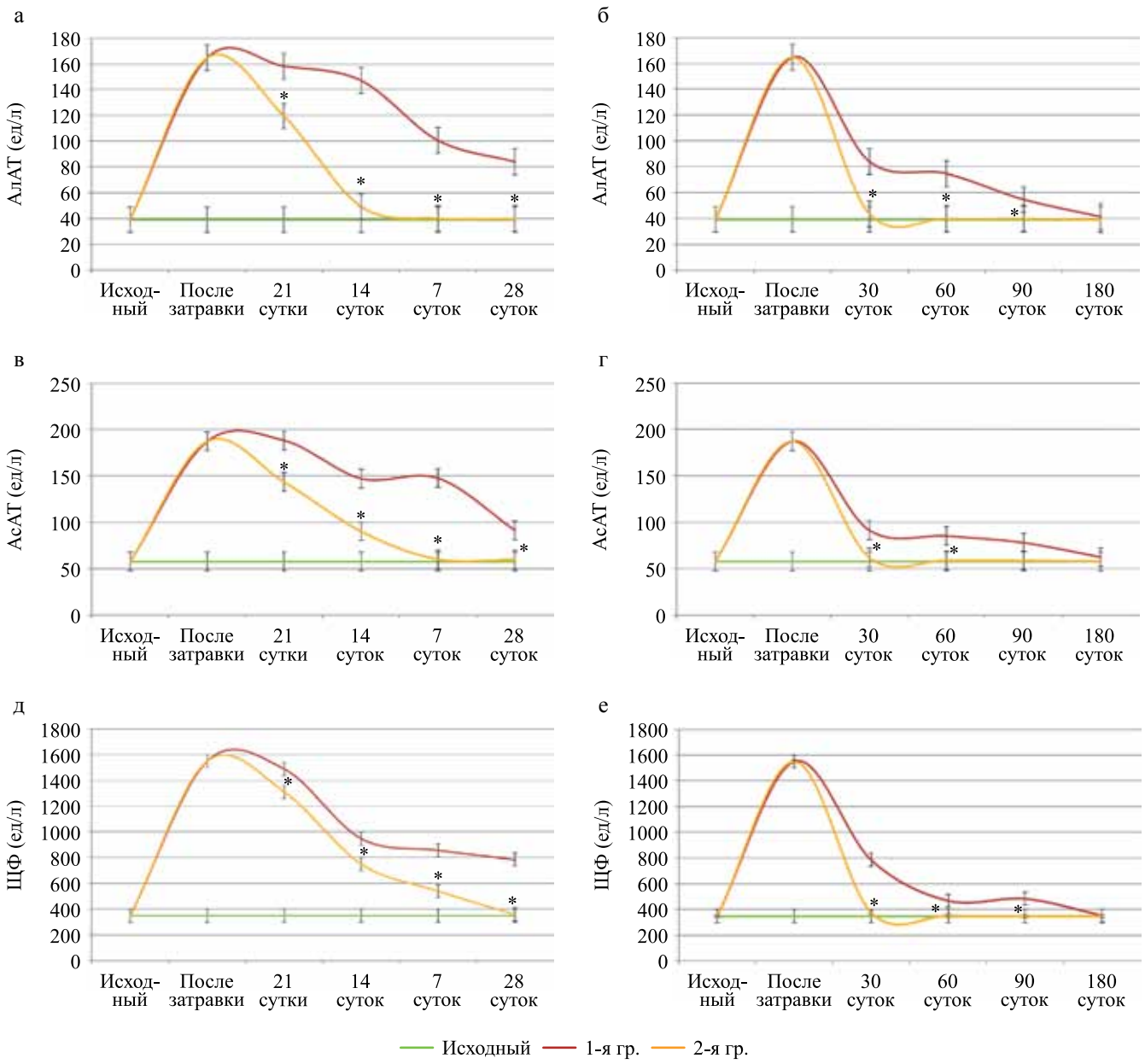

Рис. 7. Динамика нормализации уровня ферментов цитолиза (АлАТ, АсАТ, ЩФ) в сыворотке крови крыс после моделирования хронической печеночной недостаточности и имплантации КИК. Уровень для здоровых животных: АлАТ до 40 ед/л; АсАТ – до 60 ед/л; ЩФ – до 350 ед/л; а, в, д – срок наблюдения 28 суток; б, г, е – срок наблюдения 180 суток. * – Различие достоверно по сравнению с уровнем ферментов в контроле (группа 1); $p < 0,05$

Fig. 7. Dynamics of normalization of the cytolysis enzymes level (ALT, AST, ALP) in the blood serum of rats after CLF modeling and CEC implantation. Level for healthy rats: ALT up to 40 IU/L; AST – up to 60 IU/L; ALP – up to 350 IU/L; а, в, д – observation period 28 days; б, г, е – observation period 180 days. * – The difference is significant compared to the level of enzymes in the control (group 1); $p < 0.05$

ний АсАТ, АлАТ и ЩФ наступала только к 180-м суткам эксперимента (рис. 7).

Уровень гамма-глютамилтранспептидазы (γ-ГТП) и билирубина в сыворотке крови экспериментальных животных на всех сроках наблюдения оставался в пределах нормальных значений.

Наблюдаемые эффекты можно объяснить либо стимулированием внутреннего регенеративного потенциала поврежденной печени при имплантации КИК, либо активным функционированием пересаженных клеток в составе КИК на основе децеллюляризованного матрикса печени.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показано, что имплантация предложенной КИК обеспечивает более быструю нормализацию биохимических показателей крови и структурных нарушений поврежденной печени крыс (к 30-м суткам

после введения КИК вместо 180 суток в контроле) и снижение летальности животных с 50% до 0%, что обусловлено более ранней активацией процессов пролиферации жизнеспособных КП и более быстрым формированием новых кровеносных сосудов.

Таким образом, полученные результаты доказывают наличие функциональной активности КИК печени, имплантируемой в паренхиму печени лабораторным животным с моделью ХПН.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Salim MS, Issa AM, Farrag ARH, Gabr H.* Decellularized liver bioscaffold: a histological and immunohistochemical comparison between normal, fibrotic and hepatocellular carcinoma. *Clin Exp Hepatol.* 2019; 5 (1): 35–47. doi: 10.5114/ceh.2019.83155.
2. *Acun A, Oganesyan R, Uygun BE.* Liver bioengineering: promise, pitfalls, and hurdles to overcome. *Curr Transplant Rep.* 2019; 6 (2): 119–126. doi: 10.1007/s40472-019-00236-3.
3. *Mazza G, Al-Akkad W, Rombouts K, Pinzani M.* Liver tissue engineering: from implantable tissue to whole organ engineering. *Hepatol Commun.* 2017; 2 (2): 131–141. doi: 10.1002/hep4.1136.
4. *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; 10 (2): 287–296. doi: 10.4254/wjh.v10.i2.287.
5. *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.
6. *Uygun BE, Yarmush ML, Uygun K.* Application of whole-organ tissue engineering in hepatology. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology.* 2012; 9 (12): 738–744. doi: 10.1038/nrgastro.2012.140.
7. *Rossi EA, Quintanilha LF, Nonaka CKV, Souza BSF.* Advances in hepatic tissue bioengineering with decellularized liver bioscaffold. *Stem Cells Int.* 2019; 2019: 2693189. doi: 10.1155/2019/2693189.
8. *Ferng AS, Connell AM, Marsh KM, Qu N, Medina AO, Bajaj N et al.* Acellular porcine heart matrices: whole organ decellularization with 3D-bioscaffold & vascular preservation. *J Clin Transl Res.* 2017; 3 (2): 260–270.
9. *Figliuzzi M, Bonandrini B, Remuzzi A.* Decellularized kidney matrix as functional material for whole organ tissue engineering. *J Appl Biomater Funct Mater.* 2017; 15 (4): e326–e333. doi: 10.5301/jabfm.5000393.
10. *Kuna VK, Kvarnström N, Elebring E, Holgersson SS.* Isolation and decellularization of a whole porcine pancreas. *J Vis Exp.* 2018; (140): 58302. doi: 10.3791/58302. PMID: 30371658.
11. *Daryabari SS, Kajbafzadeh AM, Fendereski K, Ghorbani F, Dehnavi M, Rostami M et al.* Development of an efficient perfusion-based protocol for whole-organ decellularization of the ovine uterus as a human-sized model and in vivo application of the bioscaffolds. *J Assist Reprod Genet.* 2019; 36 (6): 1211–1223. doi: 10.1007/s10815-019-01463-4.
12. *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*. Tkanespetsificheskiy matriks dlya tkanevoy inzhenerii parenkhimatoznogo organa i sposob ego polucheniya. Patent na izobretenie RU 2693432 C2, 02.07.2019.
13. *Шумаков ВИ, Онищенко НА*. Биологические резервы клеток костного мозга и коррекция органных дисфункций: [монография]. М.: Лавр, 2009. 307. *Shumakov VI, Onishhenko NA*. Biologicheskie rezervy kletok kostnogo mozga i korrekcija organnyh disfunkcij: [monografija]. M.: Lavr, 2009. 307.
14. *Готье СВ, Шагидулин МЮ, Онищенко НА, Крашенинников МЕ, Никольская АО, Башкина ЛВ, Севастьянов ВИ.* Способ лечения печеночной недостаточности. Патент на изобретение RU 2586952 C1, 10.06.2016. *Gautier SV, Shagidulin MYu, Onishhenko NA, Krasheninnikov ME, Nikol'skaja AO, Bashkina LV, Sevast'janov VI.* Sposob lechenija pechenochnoj nedostatochnosti. Patent na izobretenie RU 2586952 C1, 10.06.2016.
15. *Шагидулин МЮ, Онищенко НА, Крашенинников МЕ, Ильинский ИМ, Можейко НП, Шмерко НП и др.* Выживание клеток печени, иммобилизированных на 3D-матриксах при моделировании печеночной недостаточности. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2011; 13 (3): 59–66. *Shagidulin MYu, Onishchenko NA, Krasheninnikov ME, Iljinsky IM, Mogeiko NP, Shmerko NP et al.* Survival of liver cells, immobilized on 3d-matrixes, in liver failure model. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs.* 2011; 13 (3): 59–66. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2011-3-59-66.
16. *Никольская АО, Гоникова ЗЗ, Кирсанова ЛА, Шагидулин МЮ, Онищенко НА, Севастьянов ВИ.* Способ моделирования тяжелого спонтанно необратимого повреждения печени. Патент на изобретение RU 2633296 C, 11.10.2017. *Nikol'skaja AO, Gonikova ZZ, Kirsanova LA, Shagidulin MJu, Onishhenko NA, Sevast'janov VI.* Sposob modelirovanija tjazhjologo spontanno neobratimogo povrezhdenija pecheni. Patent na izobretenie RU 2633296 C, 11.10.2017.
17. *Шагидулин МЮ, Онищенко НА, Крашенинников МЕ, Никольская АО, Волкова ЕА, Ильинский ИМ и др.* Влияние соотношения клеток печени и костного мозга в

имплантируемых клеточно-инженерных конструкциях на эффективность восстановительных процессов в печени при хронической печеночной недостаточности. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2019; 21 (1): 122–134. *Shagidulin MYu, Onishchenko NA, Krasheninnikov ME, Nikol'skaja AO, Volkova EA, Il'inskij IM et al.* The influence of the ratio of liver cells and bone marrow in the implantable cell-engineering structures of the liver on the recovery efficiency of functional and morphological parameters in chronic liver failure. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2019; 21 (1): 122–134. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2019-1-122-134.

18. *Автандилов ГГ.* Медицинская морфометрия. Руководство. М.: Медицина, 1990. 384. *Avtandilov GG.* Medicinskaja morfometrija. Rukovodstvo. M.: Medicina, 1990. 384.
19. *Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, Grootes J et al.* Гистологическая оценка стадии и степени хронического гепатита. *Клиническая гепатология*. 2010; 2: 8–11. *Ishak K., Baptista A, Bianchi L, Callea F, Grootes J et al.* Gistologicheskaya ocenka stadii i stepeni hronicheskogo gepatita. *Klinicheskaya gepatologiya*. 2010; 2: 8–11.

Статья поступила в редакцию 14.10.2020 г.
The article was submitted to the journal on 14.10.2020

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)

количество комплектов

на 2021 год по месяцам

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

Куда (почтовый индекс) (адрес)

Кому (фамилия, инициалы)

Ф. СП-1

ДОСТАВОЧНАЯ КАРТОЧКА

ПВ	место	литер

на журнал 80248 (индекс издания)

ВЕСТНИК ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ

стоимость	подписки	руб.	коп.	количество комплектов
	переадресовки	руб.	коп.	

на 2021 год по месяцам

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

Куда (почтовый индекс) (адрес)

Кому (фамилия, инициалы)

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-4-98-104

МИКРОНОСИТЕЛИ В ВИДЕ ВОЛОКОН ИЗ НАТУРАЛЬНОГО ШЕЛКА ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК

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

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

Разработка эффективных и универсальных микроносителей является актуальной задачей тканевой инженерии и регенеративной медицины. **Цель данной работы** – создание биосовместимых микрочастиц в виде волокон из коконов тутового шелкопряда *Bombyx mori*, изучение их структуры и биологических свойств. **Материалы и методы.** Для получения микрочастиц отмытые от серицина коконы тутового шелкопряда *Bombyx mori* подвергали криоизмельчению в жидком азоте. Анализ структуры полученных микрочастиц осуществляли методом сканирующей электронной микроскопии. Оценку цитотоксичности полученных волокон проводили методом МТТ с использованием культуры клеток мышиных фибробластов 3Т3. Анализ адгезии клеток проводили с использованием линии клеток гепатокарциномы человека Hep-G_2, визуализацию клеток осуществляли путем окрашивания ядер флуоресцентным красителем DAPI. **Результаты.** Были получены микрочастицы из натурального шелка в виде цилиндрических волокон со средней длиной 200–400 мкм и диаметром 15 мкм. Показано, что поверхность полученных микрочастиц имеет шероховатый рельеф, пор обнаружено не было. Микрочастицы являются не токсичными для клеток мышиных фибробластов 3Т3, поддерживают высокий уровень адгезии клеток гепатокарциномы человека Hep-G_2. **Заключение.** Разработанная нами методика получения биосовместимых микрочастиц из фиброина шелка в виде волокон без использования токсичных реагентов и значительных временных затрат является перспективной для культивирования клеток и доставки клеток в область повреждения для восстановления тканей и органов.

Ключевые слова: микроносители, фиброин шелка, волокна.

NATURAL SILK FIBER MICROCARRIERS FOR CELL CULTURE

M.M. Bobrova, L.A. Safonova, A.E. Efimov, O.I. Agapova, I.I. Agapov

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

The development of effective and versatile microcarriers is a pressing issue in tissue engineering and regenerative medicine. The **objective** of this work is to create biocompatible fiber microparticles from the cocoons of the *Bombyx mori* silkworm, and to study their structure and biological properties. **Materials and methods.** In obtaining microparticles, the *Bombyx mori* cocoons washed from sericin were cryo-milled in liquid nitrogen. The structure of the resulting microparticles was analyzed via scanning electron microscopy. The cytotoxicity of the obtained fibers was assessed using MTT-cell culture assay of 3T3 mouse fibroblasts. Cell adhesion analysis was performed using the Hep-G_2 human hepatocarcinoma cell line. Cell visualization was performed by staining the nuclei with DAPI fluorescent dye. **Results.** Natural silk microparticles were obtained in the form of cylindrical fibers with 200–400 μm average length and 15 μm diameter. It was shown that the surface of the resulting microparticles has a rough relief; no pores were found. The microparticles are non-toxic for 3T3 mouse fibroblasts, they maintain a high level of adhesion by human hepatocellular carcinoma HepG_2 cells. **Conclusion.** The method developed by us for fabrication of biocompatible silk fibroin microparticles in the form of fibers without using toxic reagents and significant time costs is promising for cell cultivation and delivery to the damaged area for tissue and organ regeneration.

Keywords: microcarriers, silk fibroin, fibers.

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., 123182, Moscow, Russian Federation.
Phone: (499) 190-66-19. E-mail: igor_agapov@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Традиционно используемое двухмерное культивирование клеток в некоторой степени искажает поведение клеток и их биологические функции по сравнению с клетками в нативной ткани [1, 2]. Так, при двухмерном культивировании *in vitro* опухолевых клеток был показан более медленный рост опухоли и более низкая лекарственная устойчивость по сравнению с опухолями *in vivo*, что приводит к снижению эффективности скрининга и тестирования лекарственных средств [3, 4]. Также малоэффективно терапевтическое применение культуры клеток из-за низкого уровня жизнеспособности клеток, и как следствие, минимальной эффективности регенерации поврежденной ткани [5–7]. Это главным образом связано с тем, что в двухмерной культуре *in vitro* клетки не способны воссоздать эффективные и разнонаправленные взаимодействия «клетка–клетка» и «клетка–межклеточный матрикс», присутствующие в нативном микроокружении, что вызывает изменения клеточной морфологии и экспрессии генов. Чтобы получить клетки с нормальной морфологией, метаболизмом и функциями, применяется трехмерное культивирование клеток на различных микроносителях [8, 9].

В регенеративной медицине микроносители широко используются как в качестве подложки для культивирования различных типов клеток, так и в качестве средства доставки клеток в поврежденный участок ткани или органа [10]. Когда микроносители используют в качестве системы доставки, клетки остаются жизнеспособными в течение более длительного периода времени [11], что дает им возможность секретировать факторы роста и активно участвовать в новообразовании межклеточного матрикса, способствуя регенерации ткани [12]. Используются как натуральные, так и синтетические биополимеры для получения микроносителей разных типов и для регенерации различных тканей [13–16].

Одним из перспективных материалов для создания биосовместимых микроносителей для тканевой инженерии и регенеративной медицины является фиброин шелка из коконов тутового шелкопряда *Bombyx mori* [17]. Структура фиброина шелка обеспечивает уникальные свойства, позволяющие использовать его в качестве материала для тканевой инженерии. Главное преимущество шелка по сравнению с другими биосовместимыми материалами заключается в его механических свойствах. К преимуществам фиброина как материала, применяемого в регенеративной медицине, относится и то, что конструкции из него биодеградируемые и биосовместимые, они могут быть получены в мягких условиях, и их изготовление не требует особой химической обработки. Фиброин шелка способствует клеточной адгезии, пролиферации и дифференцировке, в том числе мезенхимальных стволовых клеток [18–20]. Так, микрочастицы на основе фиброина шелка используются для регенерации костной ткани [21], нервной ткани [22], доставки стволовых клеток [23]. Таким образом, фиброин обладает уникальными свойствами, которые позволяют формировать из него двухмерные и трехмерные конструкции, в том числе микроносители, и широко использовать его в качестве биосовместимого материала в различных направлениях тканевой инженерии.

В рамках данного исследования разработаны биосовместимые микроносители из коконов тутового шелкопряда *Bombyx mori* в виде волокон, исследована их структура и показана возможность применения в тканевой инженерии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Получение микроносителей

В качестве источника волокон фиброина шелка использовали коконы тутового шелкопряда *Bombyx mori*, предоставленные директором Государственного научного учреждения «Республиканская научно-исследовательская станция шелководства Российской академии сельскохозяйственных наук» В.В. Богословским (Ставропольский край, г. Железноводск). На первом этапе коконы подвергали очистке от серицина по следующей методике. Навеску шелка из коконов массой 1 г кипятили на водяной бане в 500 мл бидистиллированной воды с добавлением 1260 мг соды в течение 40 минут. Затем промывали 3,6 л дистиллированной воды. Далее кипятили в 500 мл бидистиллированной воды 30 минут и промывали 3,6 л дистиллированной воды. Последнюю процедуру повторяли 3 раза. Очищенный фиброин шелка сушили на воздухе при комнатной температуре. Далее фиброин шелка массой 80 мг помещали в 3% водный раствор глицерина, инкубировали 120 минут и замораживали в жидком азоте, после чего фиброин измельчали в течение 5 минут при помощи ступки и пестика до среднего размера волокон 200–400 мкм. Полученные волокна переносили в 5 мл 70% этанола на 30 минут, а затем производили смену этанола [24].

Анализ структуры микроносителей методом сканирующей электронной микроскопии

Исследуемые образцы волокон фиксировали в 2,5% растворе глутарового альдегида в фосфатно-солевом буфере с pH = 7,4 в течение 2 часов в темноте при 4 °C, отмывку образцов от фиксирующего раствора проводили фосфатно-солевым буфером (pH = 7,4) 5 раз по 5 минут. Затем образцы дегидра-

тировали возрастающими концентрациями этанола. Использовали концентрации этанола 10, 20, 50, 70 и 96%, инкубируя образцы по 1 часу в этаноле каждой концентрации. После этого образцы переносили в ацетон на 30 минут, а затем производили смену ацетона.

Образцы высушивали методом перехода критической точки ($T_{кр.CO_2}$ = 31 °C, $p_{кр.CO_2}$ = 72,8 кг/см^2) с помощью прибора K850 (Quorum Technologies, Великобритания). Высушенные образцы покрывали слоем золота толщиной 10 нм в атмосфере аргона при ионном токе 20 мА и давлении 1 мбар с помощью вакуумной напылительной установки Q150R ES (Quorum Technologies, Великобритания), затем анализировали с помощью сканирующего электронного микроскопа Tescan Vega3 (Tescan, Чехия). Пространственное разрешение микроскопа 3 нм, рабочее напряжение 15 кВ. Получение и анализ изображений производили с помощью программного обеспечения VegaTC (Tescan, Чехия).

Анализ цитотоксичности микроносителей

В экспериментах использовали линию мышиных фибробластов 3T3. Клетки культивировали в пластиковых флаконах в среде DMEM с низким содержанием глюкозы, содержащей 10% бычьей эмбриональной сыворотки, 0,324 мг/мл глутамина и 10 мг/мл гентамицина при 37 °C и 5% CO_2. Смену культуральной среды производили каждые 48 часов. Монослой клеток дезагрегировали с помощью раствора трипсина-версена, производили подсчет клеток в камере Горяева и рассаживали в соотношении 1/3.

Анализ цитотоксичности всех полученных образцов проводили согласно ГОСТ ISO 10993-5-2011 [25] с помощью МТТ-теста [26] в модели линии клеток мышиных фибробластов 3T3.

Для этого мышиные фибробласты 3T3 культивировали в 300 мкл культуральной среды в 96-луночном планшете в термостате при 37 °C и 5% CO_2 в течение 3 дней. Затем производили смену культуральной среды и вносили 50 мкл суспензии волокон в лунки планшета. В качестве контроля использовали культуральный пластик. Планшеты инкубировали в термостате при 37 °C, 5% CO_2. Оценку цитотоксичности проводили на 3, 5 и 7-е сутки эксперимента. Для этого в каждую лунку планшета вносили по 60 мкл раствора МТТ с концентрацией 5 мг/мл. Инкубировали в термостате при 37 °C и 5% CO_2 в течение 4 часов до выпадения темно-синих кристаллов формазана. Затем волокна удаляли из лунок, а планшет центрифугировали в течение 5 минут при 885 g. Супернатант удаляли, осадок формазана растворяли в 300 мкл диметилсульфоксида в течение 20 минут и измеряли оптическую плотность раствора при длине волны 540 нм на установке Picon (Picon incorporated company, Униплан, Россия).

Анализ адгезии клеток на микроносителях

В эксперименте по адгезии использовали линию клеток гепатокарциномы человека Hep-G_2. Клетки инкубировали в пластиковых культуральных флаконах в смеси 1:1 сред DMEM с высоким содержанием глюкозы и Ham's F-12, содержащей 10% бычьей эмбриональной сыворотки, 0,324 мг/мл глутамина и 10 мг/мл гентамицина, при 37 °C и 5% CO_2.

Эксперимент проводили в 96-луночном планшете. Для проведения эксперимента суспензию волокон объемом 150 мкл переносили в лунки планшета. В качестве контроля использовали культуральный пластик. После этого в планшет вносили стерильный раствор фосфатно-солевого буфера (pH = 7,4) и инкубировали в течение 15 минут, после чего производили смену фосфатно-солевого буфера. Данную процедуру повторяли три раза. Далее в планшет вносили по 300 мкл среды инкубации на 30 минут.

Суспензию клеток в среде инкубации переносили в 96-луночные планшеты из расчета 1000 клеток в лунку. Инкубировали в термостате при 37 °C и 5% CO_2 в течение 7 дней.

Оценку адгезии проводили визуально с помощью микроскопа Carl Zeiss Axio Vert.A1 (Zeiss, Германия). Для этого образцы окрашивали флуоресцентным красителем DAPI, который связывается с ДНК клеток. Перед окрашиванием производили двукратную отмывку образцов от среды инкубации и неадгезированных клеток раствором фосфатно-солевого буфера (pH = 7,4). После этого вносили водный раствор красителя с концентрацией 3 мкг/мл из расчета 300 мкл на лунку и инкубировали в термостате при 37 °C и 5% CO_2 в течение 5 минут. Затем образцы двукратно отмывали от несвязавшегося красителя раствором фосфатно-солевого буфера (pH = 7,4). Полученные образцы анализировали на флуоресцентном микроскопе с помощью фильтра с диапазоном возбуждения 360–370 нм, диапазоном эмиссии 420–470 нм.

Изображения клеток получали с помощью камеры Axiocam 305 color (Carl Zeiss, Германия), полученные изображения обрабатывали в программе Zen 2.3 Blue Edition (Carl Zeiss, Германия).

Статистическая обработка результатов

Данные обрабатывали методом дисперсионного анализа. Статистическую значимость результатов оценивали с помощью критерия Манна–Уитни. Уровень статистической значимости α принимали равным 0,05.

Рис. 1. Получение микроносителей в виде волокон: а – коконы тутового шелкопряда *Bombyx mori*; б – очищенный от серицина фиброин шелка; в – микроносители в виде волокон. Масштабный отрезок 100 мкм

Fig. 1. Fabrication of fiber microcarriers: а – *Bombyx mori* silkworm cocoons; б – sericin-free silk fibroin; в – fiber microcarriers. Scale bar 100 μm

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В рамках данного исследования была получена суспензия микрочастиц из коконов тутового шелкопряда *Bombyx mori* с помощью криоизмельчения (рис. 1). Микрочастицы представляют собой цилиндрические фрагменты волокон кокона шелкопряда со средней длиной 200–400 мкм и диаметром 15 мкм. Такая форма микрочастиц имеет высокое отношение площади поверхности к объему, а следовательно, и большую площадь поверхности, доступной для адгезии клеток и для формирования большего количества клеточных контактов по сравнению со сферическими частицами. Фиброин шелка является одним из перспективных материалов для тканевой инженерии за счет уникальной комбинации механических свойств и высокого уровня биосовместимости и может найти применение во многих областях тканевой инженерии, как в качестве самостоятельного материала для создания конструкций, так и в качестве носителя для клеточной доставки или направленной доставки лекарственных средств [27]. Преимущество предлагаемой технологии изготовления микроносителей в виде волокон заключается в получении биосовместимых носителей для клеток регулируемого размера и формы без использования токсичных реагентов и значительных временных затрат. Регулирование размера и формы микроносителя может осуществляться за счет варьирования времени криоизмельчения и объема измельчаемого отмытого фиброина шелка. Также форма микроносителей в виде волокна позволяет упростить позиционирование клеток при направленной доставке и способствует ориентированию клеток.

Структура полученных микроносителей была исследована методом сканирующей электронной микроскопии. Поверхность волокон имеет микро- и нанорельеф в виде шероховатостей (рис. 2). Данным методом не было выявлено пор в структуре микроносителей. Известно, что поверхностная структура конструкции оказывает влияние на адгезию клеток [28, 29]. Это объясняется тем, что наличие шероховатостей на поверхности субстрата увеличивает площадь поверхности, доступную для адгезии клеток. В то же время для каждой культуры клеток существует оптимальный уровень шероховатости субстрата [30].

Полученные микроносители были исследованы на цитотоксичность методом МТТ. В ходе исследования оценивали влияние образцов на количество клеток, культивированных на пластике. В качестве контроля использовали культуральный пластик.

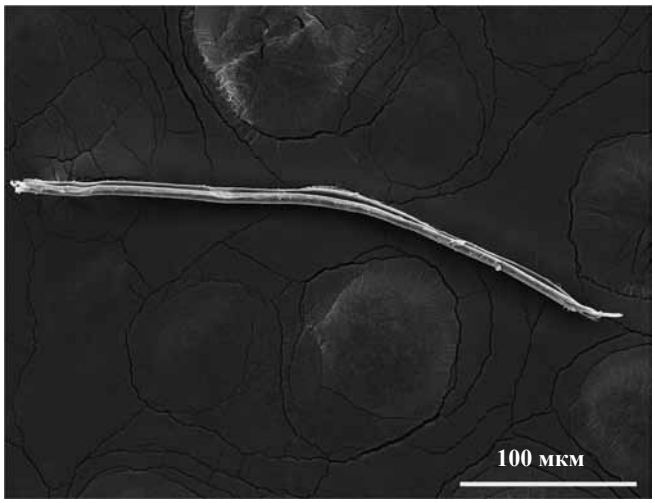

Рис. 2. Изображение микроносителя, полученное с помощью сканирующей электронной микроскопии. Масштабный отрезок 100 мкм

Fig. 2. Image of the microcarrier obtained using scanning electron microscopy. Scale bar 100 μm

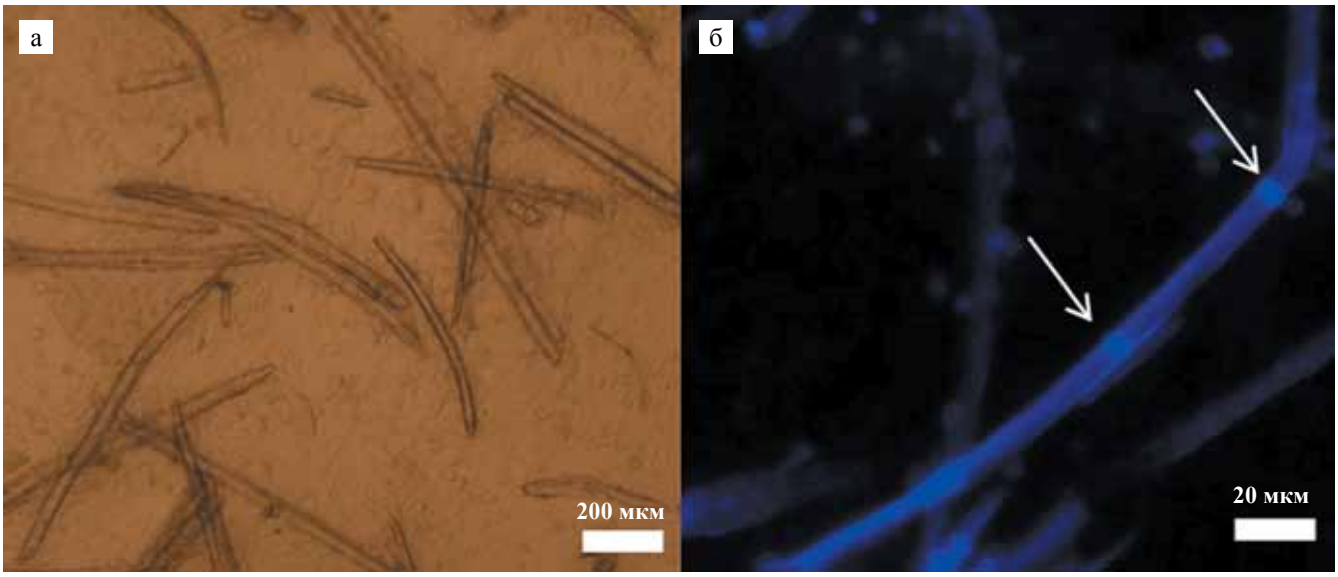

Рис. 3. Адгезия клеток Hep-G_2 на полученных микроносителях: а – изображение в проходящем свете, масштабный отрезок 200 мкм; б – флуоресцентное изображение, ядра адгезировавших клеток, окрашенных DAPI, обозначены стрелками, масштабный отрезок 20 мкм

Fig. 3. Adhesion of Hep-G2 cells on the obtained microcarriers: a – optical image, scale bar 200 μm; б – fluorescent image, nuclei of DAPI-stained adherent cells are indicated by arrows, scale bar 20 μm

В ходе эксперимента не было выявлено цитотоксического эффекта полученных волокон, количество клеток не отличалось в экспериментальных и контрольных образцах.

Анализ адгезии клеток на полученных микроносителях в виде волокон производили визуально с помощью флуоресцентного микроскопа, предварительно клетки окрашивали флуоресцентным красителем DAPI для визуализации ядер. Волокна позиционировали в лунках культуральных планшетов, в качестве контроля использовали культуральный пластик. Исследования проводили на примере линии клеток гепатокарциномы человека Hep-G_2. Результаты экспериментов представлены на рис. 3.

Морфология клеток оценивалась с помощью светового микроскопа, клетки образовывали филоподии и плотно адгезировали к субстрату, при этом адгезия клеток происходила неравномерно. Было выявлено, что полученные микроносители биосовместимы, поддерживают высокий уровень адгезии клеток, что может объясняться оптимальным уровнем шероховатости волокон и биосовместимыми свойствами фиброина шелка [31, 32]. Таким образом, полученные микроносители из фиброина шелка в виде волокон являются биосовместимыми и могут быть в дальнейшем использованы в регенеративной медицине как универсальные носители для клеток, полученные без использования токсичных реагентов и значительных временных затрат.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рамках представленной работы были получены микрочастицы из коконов тутового шелкопряда *Bombyx mori* в виде волокон со средней длиной 200–400 мкм и диаметром 15 мкм. Показано, что поверхность полученных микрочастиц имеет шероховатый рельеф, пор обнаружено не было. Микрочастицы являются не токсичными для культуры клеток мышиных фибробластов 3T3, поддерживают высокий уровень адгезии клеток гепатокарциномы человека Hep-G_2. Разработанная нами методика создания биосовместимых микроносителей из коконов тутового шелкопряда *Bombyx mori* в виде волокон является перспективной для культивирования клеток и доставки клеток в область повреждения для восстановления тканей и органов.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Asghar W, El Assal R, Shafiee H, Pitteri S, Paulmurugan R, Demirci U.* Engineering cancer microenvironments for *in vitro* 3-D tumor models. *Mater Today (Kidlington)*. 2015; 18 (10): 539–553. doi: 10.1016/j.mattod.2015.05.002. PMID: 28458612.
2. *In JG, Foulke-Abel J, Estes MK, Zachos NC, Kovbasnjuk O, Donowitz M.* Human mini-guts: new insights into intestinal physiology and host-pathogen interactions.

Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2016; 13 (11): 633–642. doi: 10.1038/nrgastro.2016.142. PMID: 27677718.

3. *Edmondson R, Broglie JJ, Adcock AF, Yang L*. Three-dimensional cell culture systems and their applications in drug discovery and cell-based biosensors. *Assay Drug Dev Technol*. 2014; 12 (4): 207–218. doi: 10.1089/adt.2014.573. PMID: 24831787.
4. *Skardal A, Devarasetty M, Rodman C, Atala A, Soker S*. Liver-Tumor Hybrid Organoids for Modeling Tumor Growth and Drug Response In Vitro. *Ann Biomed Eng*. 2015; 43 (10): 2361–2373. doi: 10.1007/s10439-015-1298-3. PMID: 25777294.
5. *Bao J, Shi Y, Sun H, Yin X, Yang R, Li L et al*. Construction of a portal implantable functional tissue-engineered liver using perfusion-decellularized matrix and hepatocytes in rats. *Cell Transplant.* 2011; 20 (5): 753–766. doi: 10.3727/096368910X536572.
6. *Soto-Gutierrez A, Zhang L, Medberry C, Fukumitsu K, Faulk D, Jiang H et al*. A whole-organ regenerative medicine approach for liver replacement. *Tissue Eng Part C Methods*. 2011; 17 (6): 677–686. doi: 10.1089/ten.TEC.2010.0698. PMID: 21375407.
7. *Zhou P, Lessa N, Estrada DC, Severson EB, Lingala S, Zern MA et al*. Decellularized liver matrix as a carrier for the transplantation of human fetal and primary hepatocytes in mice. *Liver Transpl*. 2011; 17 (4): 418–427. doi: 10.1002/lt.22270. PMID: 21445925.
8. *Pampaloni F, Reynaud EG, Stelzer EH*. The third dimension bridges the gap between cell culture and live tissue. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007; 8 (10): 839–845. doi: 10.1038/nrm2236. PMID: 17684528.
9. *Achilli TM, Meyer J, Morgan JR*. Advances in the formation, use and understanding of multi-cellular spheroids. *Expert Opin Biol Ther*. 2012; 12 (10): 1347–1360. doi: 10.1517/14712598.2012.707181. PMID: 22784238.
10. *Chen AK, Reuveny S, Oh SK*. Application of human mesenchymal and pluripotent stem cell microcarrier cultures in cellular therapy: achievements and future direction. *Biotechnol Adv*. 2013; 31 (7): 1032–1046. doi: 10.1016/j.biotechadv.2013.03.006. PMID: 23531528.
11. *Quittet MS, Touzani O, Sindji L, Cayon J, Fillesoye F, Toutain J et al.* Effects of mesenchymal stem cell therapy, in association with pharmacologically active microcarriers releasing VEGF, in an ischaemic stroke model in the rat. *Acta Biomater*. 2015; 15: 77–88. doi: 10.1016/j.actbio.2014.12.017. PMID: 25556361.
12. *Georgi N, van Blitterswijk C, Karperien M.* Mesenchymal stromal/stem cell-or chondrocyte-seeded microcarriers as building blocks for cartilage tissue engineering. *Tissue Eng Part A*. 2014; 20 (17–18): 2513–2523. doi: 10.1089/ten.TEA.2013.0681. PMID: 24621188.
13. *Yang Y, Rossi FM, Putnins EE*. *Ex vivo* expansion of rat bone marrow mesenchymal stromal cells on microcarrier beads in spin culture. *Biomaterials*. 2007; 28 (20): 3110–3120. doi: 10.1016/j.biomaterials.2007.03.015. PMID: 17433434.
14. *Chen M, Wang X, Ye Z, Zhang Y, Zhou Y, Tan WS*. A modular approach to the engineering of a centimeter-sized bone tissue construct with human amniotic mesenchymal stem cells-laden microcarriers. *Biomaterials.* 2011; 32 (30): 7532–7542. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.06.054. PMID: 21774980.
15. *Zhou Y, Yan Z, Zhang H, Lu W, Liu S, Huang X et al*. Expansion and delivery of adipose-derived mesenchymal stem cells on three microcarriers for soft tissue regeneration. *Tissue Eng Part A*. 2011; 17 (23–24): 2981–2997. doi: 10.1089/ten.tea.2010.0707. PMID: 21875329.
16. *Sun LY, Hsieh DK, Syu WS, Li YS, Chiu HT, Chiou TW.* Cell proliferation of human bone marrow mesenchymal stem cells on biodegradable microcarriers enhances in vitro differentiation potential. *Cell Prolif.* 2010; 43 (5): 445–456. doi: 10.1111/j.1365-2184.2010.00694.x. PMID: 20887551.
17. *Agapov II, Moisenovich MM, Vasilyeva TV, Pustovalova OL, Kon'kov AS, Arkhipova AY et al*. Biodegradable matrices from regenerated silk of *Bombix mori*. *Dokl Biochem Biophys*. 2010; 433: 201–204. doi: 10.1134/S1607672910040149.
18. *Uebersax L, Merkle HP, Meinel L*. Insulin-like growth factor I releasing silk fibroin scaffolds induce chondrogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *J Control Release.* 2008; 127 (1): 12–21. doi: 10.1016/j.jconrel.2007.11.006. PMID: 18280603.
19. *Altman AM, Gupta V, Ríos CN, Alt EU, Mathur AB*. Adhesion, migration and mechanics of human adipose-tissue-derived stem cells on silk fibroin-chitosan matrix. *Acta Biomater*. 2010; 6 (4): 1388–1397. doi: 10.1016/j.actbio.2009.10.034. PMID: 19861180.
20. *Kotliarova MS, Zhuikov VA, Chudinova YV Khaidapova DD, Moisenovich AM, Kon'kov AS et al.* Induction of osteogenic differentiation of osteoblast-like cells MG-63 during cultivation on fibroin microcarriers. *Moscow Univ Biol Sci Bull.* 2016; 71: 212–217. doi: 10.3103/S0096392516040052.
21. *Luetchford KA, Chaudhuri JB, De Bank PA*. Silk fibroin/gelatin microcarriers as scaffolds for bone tissue engineering. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2020; 106: 110116. doi: 10.1016/j.msec.2019.110116. PMID: 31753329.
22. *Moisenovich MM, Plotnikov EY, Moysenovich AM, Silachev DN, Danilina TI, Savchenko ES et al*. Effect of Silk Fibroin on Neuroregeneration After Traumatic Brain Injury. *Neurochem Res.* 2019; 44 (10): 2261–2272. doi: 10.1007/s11064-018-2691-8. PMID: 30519983.
23. *Perteghella S, Martella E, de Girolamo L, Perucca Orfei C, Pierini M, Fumagalli V et al.* Fabrication of Innovative Silk/Alginate Microcarriers for Mesenchymal Stem Cell Delivery and Tissue Regeneration. *Int J Mol Sci.* 2017; 18 (9): 1829. doi: 10.3390/ijms18091829. PMID: 28832547.
24. *Агапов ИИ, Агапова ОИ, Боброва ММ, Сафонова ЛА, Ефимов АЕ*. Микроноситель для клеток на основе натурального шелка и способ его получения. Патент на изобретение RU2732598 C1, 21.09.2020. *Agapov II, Agapova OI, Bobrova MM, Safonova LA, Efimov AE.* Mikronositel' dlya kletok na osnove natural'nogo shel-

ka i sposob ego polucheniya. Patent na izobretenie RU2732598 S1, 21.09.2020.

25. ГОСТ ISO 10993-1-2011 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 5. Исследование на цитотоксичность: методы *in vitro*». М.: Стандартинформ, 2014. GOST ISO 10993-1-2011 «Izdeliya meditsinskie. Otsenka biologicheskogo deystviya meditsinskikh izdeliy. Chast' 5. Issledovanie na tsitotoksichnost': metody *in vitro*». M.: Standartinform, 2014.
26. *Mosmann T*. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*. 1983; 65 (1–2): 55–63. doi: 10.1016/0022-1759(83)90303-4. PMID: 6606682.
27. *Kundu B, Rajkhowa R, Kundu SC, Wang X*. Silk fibroin biomaterials for tissue regenerations. *Adv Drug Deliv Rev*. 2013; 65 (4): 457–470. doi: 10.1016/j.addr.2012.09.043. PMID: 23137786.
28. *Zhang Q, Zhao Y, Yan S, Yang Y, Zhao H, Li M et al.* Preparation of uniaxial multichannel silk fibroin scaffolds for guiding primary neurons. *Acta Biomater*. 2012; 8 (7): 2628–2638. doi: 10.1016/j.actbio.2012.03.033. PMID: 22465574.
29. *Сафонова ЛА, Боброва ММ, Агапова ОИ, Котлярова МС, Архипова АЮ, Мойсенович ММ, Агапов ИИ.* Биологические свойства пленок из регенерированного фиброина шелка. *Современные технологии в медицине*. 2015; 7 (3): 6–13. *Safonova LA, Bobrova MM, Agapova OI, Kotliarova MS, Arkhipova AYu, Moisenovich MM, Agapov II*. Biological Properties of Regenerated Silk Fibroin Films. *Sovremennye tehnologii v medicine*. 2015; 7 (3): 6–13. [In English]. doi: 10.17691/stm2015.7.3.01.
30. *Сургученко ВА, Пономарева АС, Ефимов АЕ, Немец ЕА, Агапов ИИ, Севастьянов ВИ.* Особенности адгезии и пролиферации фибробластов мыши линии nih/3t3 на пленках из бактериального сополимера поли(3-гидроксибутират-со-3-гидроксивалерата) с различной шероховатостью поверхности. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2012; 14 (1): 72–77. *Surguchenko VA, Ponomareva AS, Efimov AE, Nemets EA, Agapov II, Sevastianov VI.* Characteristics of adhesion and proliferation of mouse nih/3t3 fibroblasts on the poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) films with different surface roughness values. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2012; 14 (1): 72–77. [In Russ. English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2012-1-72-77.
31. *Servoli E, Maniglio D, Motta A, Predazzer R, Migliaresi C*. Surface properties of silk fibroin films and their interaction with fibroblasts. *Macromol Biosci*. 2005; 5 (12): 1175–1183. doi: 10.1002/mabi.200500137. PMID: 16315185.
32. *Соколова АИ, Боброва ММ, Сафонова ЛА, Агапова ОИ, Мойсенович ММ, Агапов ИИ.* Зависимость биологических свойств скаффолдов из фиброина шелка и желатина от состава и технологии изготовления. *Современные технологии в медицине.* 2016; 8 (3): 6–15. *Sokolova AI, Bobrova MM, Safonova LA, Agapova OI, Moisenovich MM, Agapov II.* The Relation of Biological Properties of the Silk Fibroin/Gelatin Scaffolds with the Composition and Fabrication Technology. *Sovremennye tehnologii v medicine.* 2016; 8 (3): 6–15. [In English]. doi: 10.17691/stm2016.8.3.01.

Статья поступила в редакцию 16.10.2020 г.
The article was submitted to the journal on 16.10.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-4-105-114

БИОДЕГРАДИРУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ НА ОСНОВЕ ТКАНЕЙ ИЗ НАТУРАЛЬНОГО ШЕЛКА КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ СКАФФОЛДЫ ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ И РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ

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

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

Целью исследования была разработка методики получения скаффолдов на основе ткани из натурального шелка и изучение их биосовместимости *in vitro*. Для получения биодеградируемых скаффолдов на основе ткани из натурального шелка предложена обработка тканей из натурального шелка водно-спиртовым раствором хлорида кальция. Методом сканирующей электронной микроскопии выявлены различия в структуре полученных скаффолдов. Полученные скаффолды не являются токсичными для клеток, а также поддерживают адгезию и пролиферацию клеток. Проведенные исследования позволяют рассматривать полученные биодеградируемые скаффолды как перспективные конструкции для тканевой инженерии и регенеративной медицины.

Ключевые слова: шелк, ткань из натурального шелка, биодеградируемые скаффолды, скорость биодеградации.

BIODEGRADABLE MATERIALS BASED ON NATURAL SILK FABRIC AS PROMISING SCAFFOLDS FOR TISSUE ENGINEERING AND REGENERATIVE MEDICINE

L.A. Safonova, M.M. Bobrova, A.E. Efimov, O.I. Agapova, I.I. Agapov

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

Objective: to develop a method for obtaining scaffolds based on natural silk fabric and to study their biocompatibility in vitro. **Materials and methods**. To obtain biodegradable scaffolds based on natural silk fabric, we propose treating natural silk fabric with a water-ethanol solution of calcium chloride. Differences in the structure of the resulting scaffolds were identified via scanning electron microscopy. **Conclusion**. The resulting scaffolds are non-toxic to cells and support cell adhesion and proliferation. Our studies make it possible to consider the resulting biodegradable scaffolds as promising constructs for tissue engineering and regenerative medicine.

Keywords: silk, natural silk fabric, biodegradable scaffolds, biodegradation rate.

ВВЕДЕНИЕ

Разработка биодеградируемых конструкций (скаффолдов) для восстановления поврежденных органов и тканей является одной из важнейших и актуальных задач тканевой инженерии и регенеративной медицины. Такие конструкции должны быть биосовместимыми, иметь достаточно высокие механические показатели для осуществления хирургических манипуляций, а скорость их биодеградации должна соответствовать скорости восстановления поврежденной ткани.

Одним из наиболее перспективных природных полимеров для создания таких конструкций является фиброин шелка тутового шелкопряда *Bombyx mori*.

Для корреспонденции: Агапов Игорь Иванович. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1.
Тел. (985) 231-60-42. E-mail: igor_agapov@mail.ru

Corresponding author: Igor Agapov. Address: 1, Schukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation.
Phone: (985) 231-60-42. E-mail: igor_agapov@mail.ru

Различными группами исследователей показано успешное применение конструкций на основе фиброина шелка во множестве сфер тканевой инженерии, таких как культивирование клеток различных видов, восстановление костной и хрящевой ткани, регенерация кожи, роговицы, нервной ткани и др. [1–4].

Источником фиброина шелка могут служить как коконы тутового шелкопряда, так и коммерческие изделия из натурального шелка – шовные и тканые материалы. Использование шовных и тканых материалов не требует многостадийной обработки шелка и получения растворов регенерированного фиброина шелка, что может быть преимуществом для решения ряда задач тканевой инженерии и регенеративной медицины.

Уникальное сочетание высоких показателей механических характеристик (таких как прочность и эластичность) с биосовместимостью позволяет использовать фиброин шелка для армирования конструкций на основе ломких и непрочных материалов, обладающих более высокой биологической активностью.

Конструкции на основе фиброина шелка позиционируются в тканевой инженерии и регенеративной медицине как биодеградируемые, однако в некоторых случаях срок деградации конструкций на основе фиброина шелка может достигать 1 года [5]. Множество факторов, таких как вторичная структура полимера, технология обработки полимера в ходе получения конструкции, источник шелка и др., могут оказывать влияние на величину показателя скорости биодеградации получаемой конструкции. Структура фиброина шелка обеспечивает возможность контролировать скорость деградации конструкций на его основе, что может значительно расширить сферы применения фиброина шелка в тканевой инженерии и регенеративной медицине [6–8]. Поэтому разработка методов контроля и регуляции скорости деградации конструкций на основе фиброина шелка для увеличения эффективности и расширения сферы их применения является актуальной задачей.

Одна из стратегий работы в этом направлении заключается в использовании свободных химических групп, присутствующих в структуре молекулы фиброина шелка. Эти группы можно связывать за счет различных сшивающих агентов, таких как глутаровый альдегид и 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид (EDC) [9]. Регулируя степень перешивки фиброина шелка, можно изменять скорость деградации полученного материала. Однако сшивающие агенты могут снижать биосовместимость скаффолда вследствие своей токсичности, а применение аминокислотных последовательностей не во всех случаях оказывает значительный эффект на показатели скорости его биодеградации. При этом оба способа могут только снизить скорость деградации конструкций на основе фиброина шелка, однако в тканевой инженерии и регенеративной медицине зачастую требуется быстрая биодеградация материала для более эффективной пролиферации клеток.

Другая стратегия заключается в создании композитных материалов на основе фиброина шелка. Растворы фиброина шелка смешиваются с растворами синтетических и природных материалов, применяемых в тканевой инженерии и регенеративной медицине, таких как альгинаты, гиалуроновая кислота, желатин, коллаген, хитозан, полилактиды, поликапролактон и др. [10–15]. Это позволяет создавать композитные материалы и композитные конструкции, скорость деградации которых зависит от количественного соотношения различных веществ, входящих в состав конструкции. При этом появляется возможность, как повысить, так и понизить скорость биодеградации конструкции. Однако введение композитных добавок сопровождается изменением структуры конструкции и ее механических свойств, что ограничивает сферы применения таких конструкций в тканевой инженерии [16]. Помимо этого, деградация некоторых веществ (например, полилактидов), вводимых в состав конструкции, сопровождается образованием продуктов, которые не могут включаться в метаболизм клеток и создают неблагоприятные условия для их пролиферации, что снижает биосовместимость конструкций [17].

Ранее нами был предложен способ регулировки скорости биодеградации тканей из натурального шелка для получения биодеградируемых скаффолдов на их основе [18]. В рамках данного исследования показаны различные подходы к применению тканей из натурального шелка для получения биодеградируемых скаффолдов, изучены их структура и биосовместимость *in vitro*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Получение биодеградируемых скаффолдов

Для получения биодеградируемых скаффолдов использовали ткани из натурального шелка. В рамках данного исследования использовали два типа ткани разной плотности: газ-шифон (плотность 15 г/м^2) и атлас двусторонний (плотность 155 г/м^2). Образцы тканей для исследований получали согласно способу, ранее описанному авторами [18].

Предварительно ткани подвергали отмывке от примесей по следующей методике. Лоскуты ткани кипятили на водяной бане в растворе бикарбоната натрия, приготовленном из расчета 500 мл бидистиллированной воды, 1260 мг бикарбоната натрия на 1 г ткани, в течение 40 минут. Затем промывали 3,6 л

дистиллированной воды. Далее кипятили в 500 мл бидистиллированной воды 30 минут и промывали 3,6 л дистиллированной воды. Последнюю процедуру повторяли 3 раза. Лоскуты ткани высушивали на воздухе при комнатной температуре. Полученные лоскуты ткани разрезали на фрагменты 5 × 5 см. Таким образом были получены образцы групп 1 и 4 (табл.).

Далее фрагменты ткани подвергали обработке по следующей методике. На первом этапе ткани инкубировали в водно-спиртовом растворе хлорида кальция, содержащем 389 мг $CaCl_2$, 388 мкл C_2H_5OH и 544 мкл H_2O на 1 мл раствора, в течение 45 минут при температуре 37 °C. Затем проводили 16 отмывок бидистиллированной водой по 30 минут каждая и высушивали на воздухе при комнатной температуре. Таким образом были получены образцы групп 2 и 5 (табл.).

После этого фрагменты ткани инкубировали в растворе желатина типа А с концентрацией 20 мг/мл в течение 1 часа и высушивали на воздухе на поверхности полированного тефлона при комнатной температуре. Высушенные фрагменты ткани, обработанные раствором желатина, дополнительно подвергали фиксации в растворе, содержащем 30 мМ EDC, 8 мМ N-гидроксисукцинимида (NHS), 50 мМ дигидрофосфата натрия и 100 мМ хлорида натрия (pH = 6) в течение 2 часов при комнатной температуре. Затем проводили 16 отмывок бидистиллированной водой по 30 минут каждая и высушивали на воздухе при комнатной температуре. Таким образом были получены образцы групп 3 и 6 (табл.).

Анализ поверхностной структуры биодеградируемых скаффолдов методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ)

Образцы биодеградируемых скаффолдов размерами 8 × 8 мм фиксировали 2,5% раствором глутарового альдегида на фосфатно-солевом буфере с pH = 7,4 в течение 2 часов в темноте при 4 °C, после чего проводили пятикратную отмывку образцов от фиксирующего раствора фосфатно-солевым буфером с pH = 7,4 по 10 минут. Затем образцы дегидратировали возрастающими концентрациями этанола. Использовали концентрации этанола 10, 20, 50, 70 и 96%, инкубируя образцы по 1 часу в этаноле каждой концентрации. После этого образцы переносили в ацетон на 30 минут, а затем производили смену ацетона.

Подготовленные образцы высушивали методом перехода критической точки ($T_{кр.CO_2}$ = 31 °C, $p_{кр.CO_2}$ = 72,8 кг/см^2) с помощью установки K850 (Quorum Technologies, Великобритания). Высушенные образцы покрывали слоем золота толщиной 10 нм в атмосфере аргона при ионном токе 20 мА и давлении 1 мбар с помощью вакуумной напылительной установки Q150R ES (Quorum Technologies, Великобритания). Полученные образцы анализировали с помощью сканирующего электронного микроскопа Tescan Vega3 SBU (Tescan, Чехия) при рабочем напряжении 15 кВ. Получение и анализ изображений производили с помощью программного обеспечения VegaTC (Tescan, Чехия).

Анализ цитотоксичности полученных конструкций

В экспериментах использовали линию мышиных фибробластов 3T3. Клетки культивировали в пластиковых флаконах в среде DMEM с низким содержанием глюкозы, содержащей 10% бычьей эмбриональной сыворотки, 0,324 мг/мл глутамина и 10 мг/мл гентамицина при 37 °C, 5% CO_2. Смену культуральной среды производили каждые 48 часов. Монослой клеток дезагрегировали с помощью раствора трипсина-версена, производили подсчет клеток в камере Горяева и рассаживали в соотношении 1:3.

Анализ цитотоксичности всех полученных образцов проводили согласно ГОСТ ISO 10993-5-2011 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 5. Исследования на цитотоксичность: методы *in vitro*» с помощью МТТ-теста [19] в модели линии клеток мышиных фибробластов 3T3.

Для этого мышиные фибробласты 3T3 культивировали в 300 мкл культуральной среды в 96-луночном планшете в термостате при 37 °C и 5% CO_2 в течение 3 дней. Образцы биодеградируемых скаффолдов размером 3 × 3 мм стерилизовали в автоклаве MLS-3020U (Sanyo, Япония) при 121 °C в течение 15 минут. Перед проведением теста производили смену культуральной среды и вносили стерильные образцы биодеградируемых скаффолдов в лунки планшета. В качестве контроля использовали культуральный пластик. Планшеты инкубировали в термостате при 37 °C, 5% CO_2. Оценку цитотоксичности проводили на 3, 5 и 7-е сутки эксперимента. Для этого в каждую лунку планшета вносили по 60 мкл раствора МТТ с концентрацией 5 мг/мл. Инкубировали в термостате при 37 °C и 5% CO_2 в течение 4 часов до выпадения темно-синих кристаллов формазана. Затем образцы биодеградируемых скаффолдов удаляли из лунок, а планшет центрифугировали в течение 5 минут при 885 g. Супернатант удаляли, осадок формазана растворяли в 300 мкл диметилсульфоксида в течение 20 минут и измеряли оптическую плотность раствора при длине волны 540 нм.

Анализ адгезии и пролиферативной активности клеток на полученных конструкциях

В экспериментах использовали линию клеток гепатокарциномы человека Hep-G2. Клетки культивировали в пластиковых флаконах смеси 1:1 среды DMEM с высоким содержанием глюкозы и среды DMEM Ham's F12, содержащей 10% бычьей эмбриональной сыворотки, 0,324 мг/мл глутамина и 10 мг/мл гентамицина при 37 °C, 5% CO_2. Смену культуральной среды производили каждые 48 часов. Монослой клеток дезагрегировали с помощью раствора трипсина-версена, производили подсчет клеток в камере Горяева и рассаживали в соотношении 1/3.

Образцы биодеградируемых скаффолдов размером 4 × 4 мм стерилизовали в автоклаве MLS-3020U (Sanyo, Япония) при 121 °C в течение 15 минут. Стерильные образцы биодеградируемых скаффолдов размером 4 × 4 мм позиционировали в лунках стерильных 96-луночных культуральных планшетов. В качестве контроля использовали культуральный пластик. В лунки планшета вносили стерильный раствор фосфатно-солевого буфера и инкубировали в течение 15 минут, после чего производили смену фосфатно-солевого буфера. Данную процедуру повторяли три раза. Далее в лунки планшета вносили по 300 мкл среды инкубации на 30 минут.

Суспензию клеток в среде инкубации переносили в 96-луночные планшеты из расчета 1000 клеток на лунку в 300 мкл среды инкубации. Планшеты инкубировали в термостате при 37 °C и 5% CO_2.

Оценку адгезии клеток проводили визуально с помощью микроскопа Carl Zeiss Axio Vert.A1 (Zeiss, Германия). Оценку пролиферативной активности клеток проводили на 3, 5 и 7-й дни эксперимента с помощью МТТ [19]. Для этого в каждую лунку планшета вносили по 50 мкл раствора 3-[4,5-диметилтиазолил-2-ел]-2,5-дифенилтетразолиум бромида (МТТ) с концентрацией 200 мкг/мл. Планшеты инкубировали в термостате при 37 °C и 5% CO_2 в течение 4 часов до выпадения темно-синих кристаллов формазана, а затем центрифугировали в течение 5 минут при 885 g. Супернатант удаляли, осадок формазана растворяли в диметилсульфоксиде из расчета 300 мкл диметилсульфоксида на лунку и измеряли оптическую плотность раствора при длине волны 540 нм.

Статистическая обработка данных

Статистическую значимость результатов оценивали с помощью критерия Манна–Уитни. Уровень статистической значимости α принимали равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В рамках данного исследования были получены 6 групп образцов скаффолдов на основе двух разновидностей тканей из натурального шелка с различной плотностью (рис. 1). Состав образцов каждой группы описан в таблице.

Структура полученных скаффолдов была изучена методом СЭМ (рис. 2, 3). По данным СЭМ образцы скаффолдов на основе ткани с меньшей плотностью (группы 1–3) характеризуются регулярным расположением волокон ткани (рис. 2). Скаффолды

Таблица

Образцы скаффолдов на основе тканей из натурального шелка, полученные в ходе исследования

Samples of scaffolds based on natural silk fabric obtained during the study

Номер группы	Ткань из натурального шелка, используемая в качестве основы скаффолда	Способ обработки ткани из натурального шелка
1	Газ-шифон (плотность 15 г/м^2)	1) Отмывка ткани от примесей
2	Газ-шифон (плотность 15 г/м^2)	1) Отмывка ткани от примесей 2) Обработка водно-спиртовым раствором хлорида кальция
3	Газ-шифон (плотность 15 г/м^2)	1) Отмывка ткани от примесей 2) Обработка водно-спиртовым раствором хлорида кальция 3) Обработка раствором желатина, ковалентная перешивка раствором EDC/NHS
4	Атлас двусторонний (плотность 155 г/м^2)	1) Отмывка ткани от примесей
5	Атлас двусторонний (плотность 155 г/м^2)	1) Отмывка ткани от примесей 2) Обработка водно-спиртовым раствором хлорида кальция
6	Атлас двусторонний (плотность 155 г/м^2)	1) Отмывка ткани от примесей 2) Обработка водно-спиртовым раствором хлорида кальция 3) Обработка раствором желатина, ковалентная перешивка раствором EDC/NHS

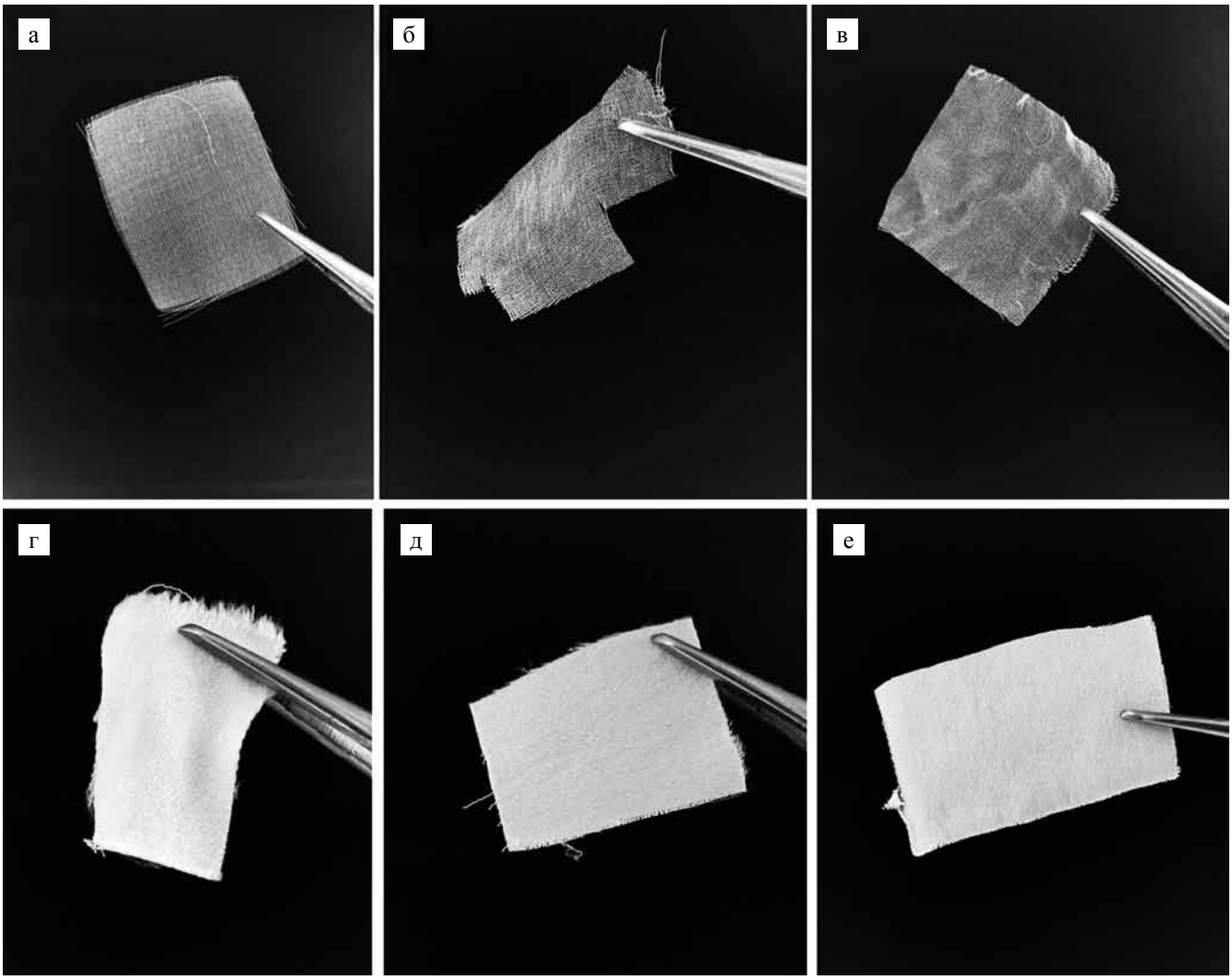

Рис. 1. Образцы скаффолдов на основе тканей из натурального шелка, полученные в ходе исследования: а – группа 1; б – группа 2; в – группа 3; г – группа 4; д – группа 5; е – группа 6

Fig. 1. Samples of scaffolds based on natural silk fabric obtained during the study: a – Group 1; б – Group 2; в – Group 3; г – Group 4; д – Group 5; e – Group 6

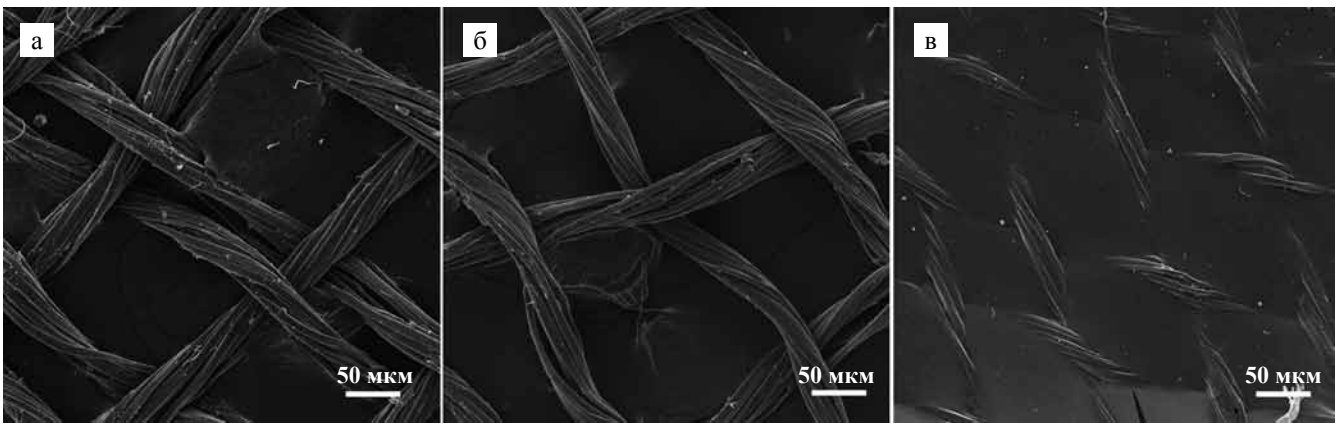

Рис. 2. Изображения образцов скаффолдов на основе ткани из натурального шелка плотностью 15 г/м^2 (газ-шифон): а – группа 1; б – группа 2; в – группа 3

Fig. 2. Images of scaffold samples based on natural silk fabric with a 15 g/m^2 density (gas-chiffon): a – Group 1; б – Group 2; в – Group 3

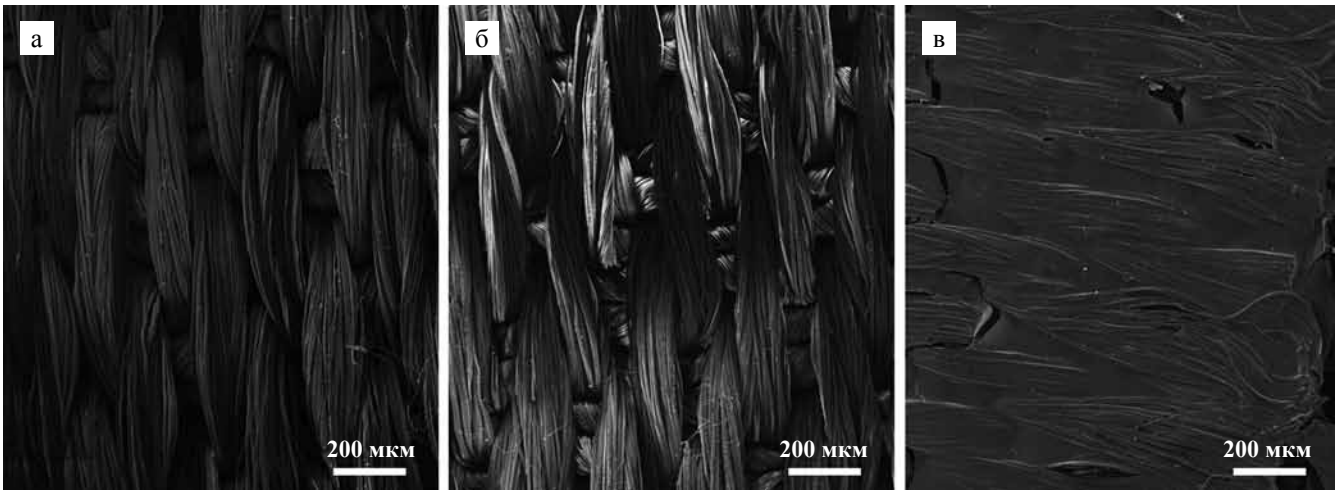

Рис. 3. Изображения образцов скаффолдов на основе ткани из натурального шелка плотностью 155 г/м^2 (атлас двусторонний): а – группа 4; б – группа 5; в – группа 6

Fig. 3. Images of scaffold samples based on natural silk fabric with a 155 g/m^2 density (double-sided satin): а – Group 4; б – Group 5; в – Group 6

групп 1 и 2 представляют собой сетку с примерными размерами ячеек 300 × 300 мкм, состоящую из одного слоя волокон ткани со средней толщиной 100–150 мкм. По данным СЭМ между образцами групп 1 и 2 (рис. 2, а, б) не было выявлено различий в поверхностной микроструктуре.

Скаффолды группы 3 представляют собой пленку из желатина, армированную волокнами ткани. При этом желатин в составе скаффолда равномерно покрывает волокна ткани, что приводит к выравниванию микрорельефа волокон ткани.

Образцы скаффолдов на основе тканей из натурального шелка с большей плотностью (группы 4–6) характеризуются плотным расположением волокон ткани с толщиной 150–200 мкм. Скаффолды группы 5 имеют более выраженный микрорельеф поверхности по сравнению со скаффолдами группы 4. Желатин образует равномерное покрытие на поверхности скаффолдов группы 3, что, как и в случае скаффолдов на основе ткани с меньшей плотностью, приводит к выравниванию микрорельефа ткани.

Далее было проведено исследование образцов всех полученных скаффолдов на цитотоксичность (рис. 4, а; 5, а), в ходе которого выявлено, что полученные образцы не оказывают токсического эффекта на клетки, что позволило провести дальнейшие исследования биосовместимости полученных скаффолдов.

Оценка адгезии клеток на полученных скаффолдах производилась на 1-е сутки эксперимента. Была выявлена адгезия клеток на всех образцах скаффолдов, морфология адгезированных клеток на различных образцах не отличалась.

Оценка пролиферативной активности клеток на полученных скаффолдах производилась на 3, 5 и 7-е сутки эксперимента (рис. 4, б; 5, б).

Пролиферативная активность клеток на образцах скаффолдов на основе ткани с меньшей плотностью (группы 1–3, рис. 4, б) равномерно увеличивалась в течение эксперимента. При этом отличий в пролиферативной активности клеток на образцах разных групп выявлено не было.

Аналогичные результаты были получены для образцов скаффолдов на основе ткани с большей плотностью, однако с 5-го по 7-й дни эксперимента пролиферативная активность клеток на образцах рассматриваемых скаффолдов не изменялась и оставалась на высоком уровне.

ОБСУЖДЕНИЕ

Для исследования были получены 6 групп образцов скаффолдов на основе тканей из натурального шелка (рис. 1). Авторами была разработана методика регулирования скорости биодеградации скаффолдов на основе ткани из натурального шелка, заключающаяся в обработке ткани из натурального шелка водно-спиртовым раствором хлорида кальция [18]. В рамках данного исследования ткани подвергали обработке раствором в течение 45 минут при температуре 37 °С. Обработка водно-спиртовым раствором хлорида кальция на водяной бане используется различными научными группами как одна из стадий получения водного раствора фиброина шелка для осуществления перехода молекул фиброина шелка в состояние α-конформации, которая способствует растворению белка [12, 20, 21]. Также известно, что скорость деградации конструкций на основе фибро-

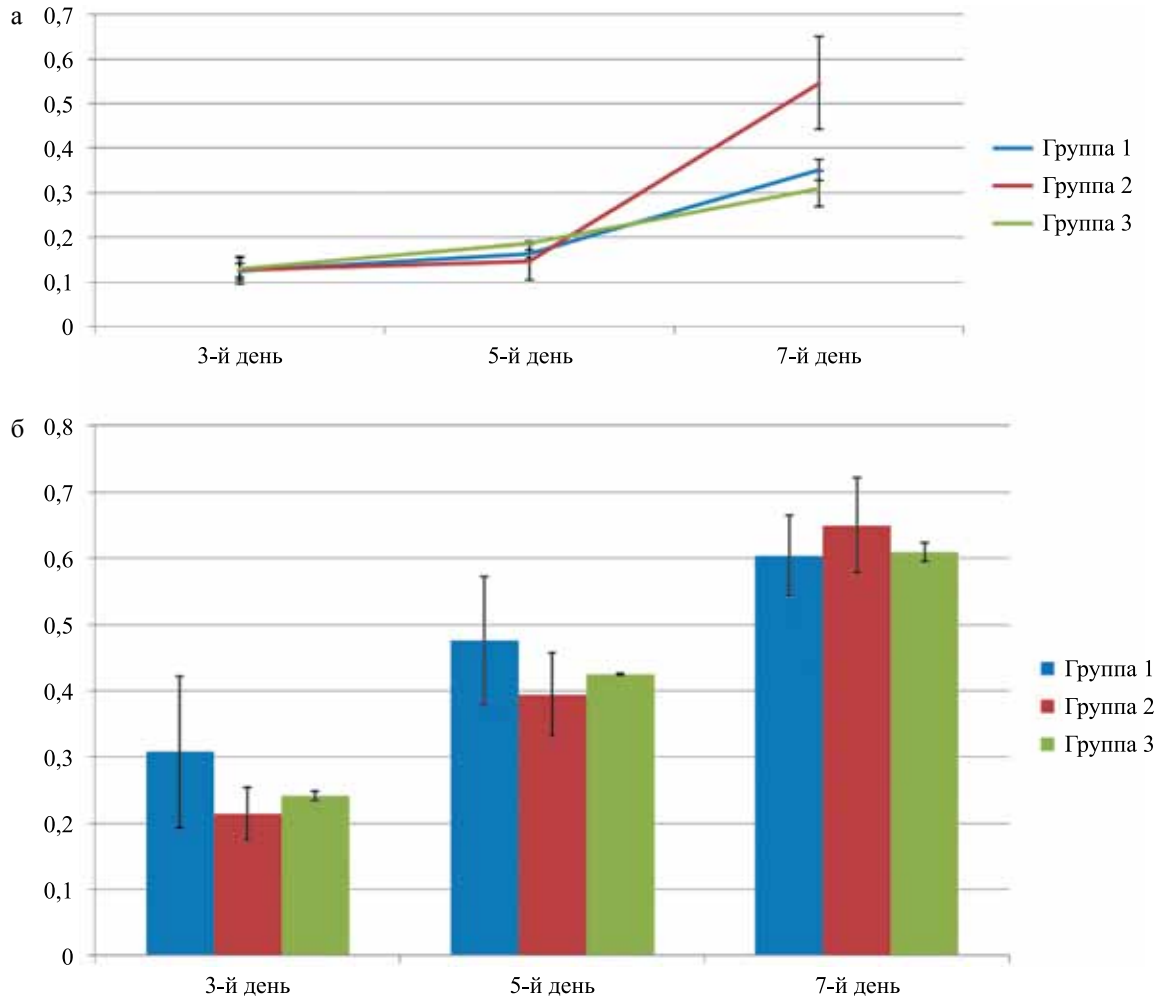

Рис. 4. Результаты исследований биосовместимости образцов скаффолдов на основе ткани из натурального шелка плотностью 15 г/м^2 (газ-шифон, группы 1–3): а – цитотоксичность; б – пролиферативная активность клеток линии Hep-G2. Указаны значения стандартного отклонения для 5 независимых измерений

Fig. 4. Results of biocompatibility studies of scaffold samples based on natural silk fabric with a 15 g/m^2 density (gas-chiffon, Groups 1–3): a – cytotoxicity; б – proliferative activity of Hep-G2 cells. Standard deviation values are shown for 5 independent measurements

ина шелка зависит от конформации молекул белка в составе конструкций. Было показано, что при увеличении доли молекул в состоянии α-спиралей скорость деградации конструкций на основе фиброина шелка увеличивается [22]. Таким образом, рассматриваемая в исследовании разработка основана на осуществлении фазового перехода фиброина шелка без его растворения за счет мягких условий, в которых проводится обработка.

Изменение поверхностной микроструктуры полученных образцов скаффолдов в результате обработки было показано методом СЭМ. В ходе исследования выявлено увеличение шероховатости скаффолда на основе ткани с большей плотностью после обработки. Аналогичный эффект после обработки ткани с меньшей плотностью не был выявлен данным методом, поэтому изучение структуры данных образцов с высоким разрешением для выявления особенностей микро- и наноструктуры необходимо проводить с помощью методов, обеспечивающих более высокую разрешающую способность, например, сканирующей зондовой нанотомографии [23].

Протокол обработки водно-спиртовым раствором хлорида кальция, используемый в данном исследовании, не приводит к разрушению ткани и существенному изменению ее органолептических свойств, что позволяет производить дальнейшие манипуляции с обработанной тканью.

В данном исследовании образцы биодеградируемых скаффолдов на основе тканей из натурального шелка обрабатывали раствором желатина типа А. Желатин типа А широко применяется в области клеточных технологий и тканевой инженерии для улучшения биосовместимых свойств конструкций из

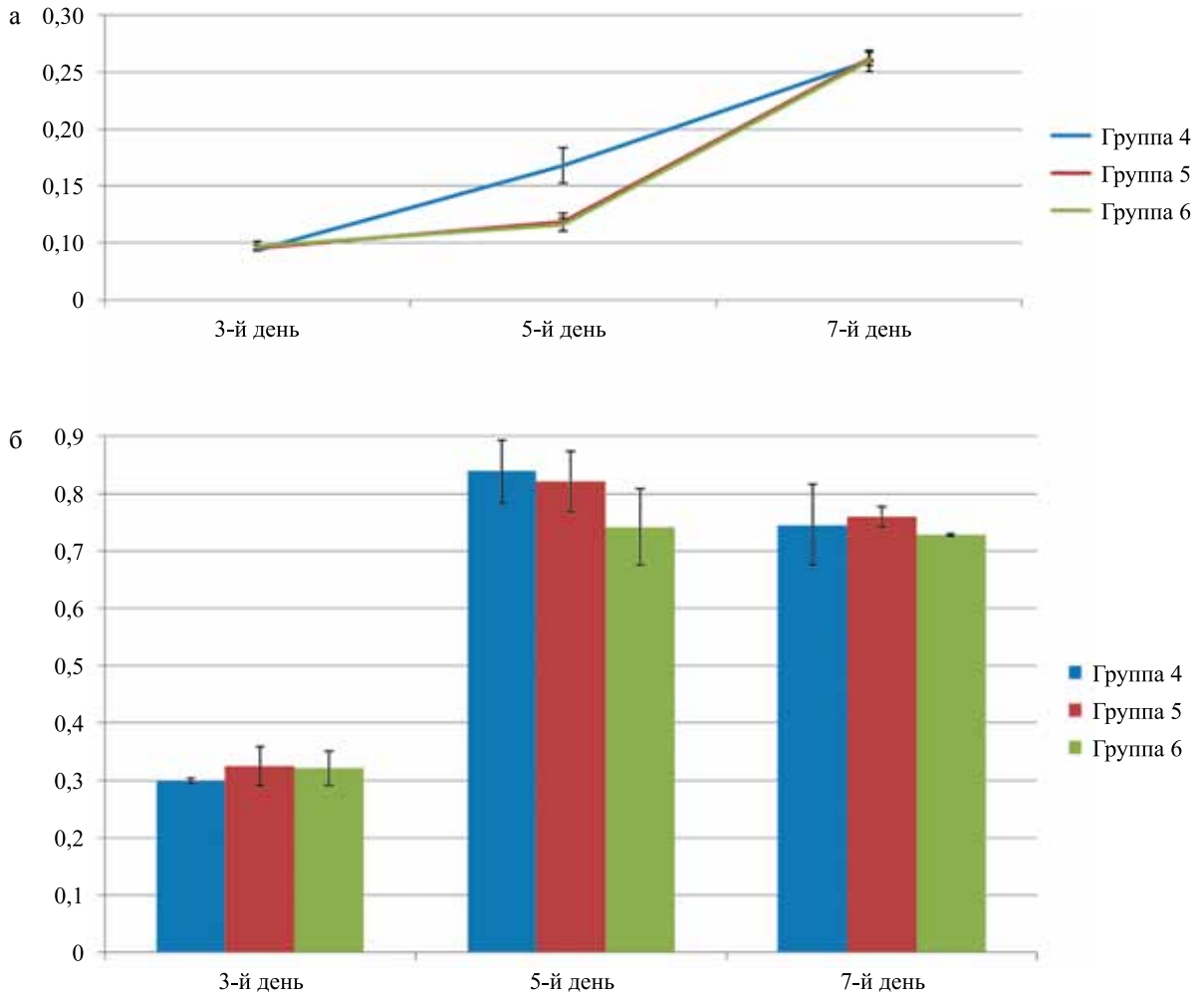

Рис. 5. Результаты исследований биосовместимости образцов скаффолдов на основе ткани из натурального шелка, плотностью 155 г/м^2 (атлас двусторонний, группы 4–6): а – цитотоксичность; б – пролиферативная активность клеток линии Hep-G2. Указаны значения стандартного отклонения для 5 независимых измерений

Fig. 5. Results of biocompatibility studies of scaffold samples based on natural silk fabric with a 155 g/m^2 density (double-sided satin, Groups 4–6): a – cytotoxicity; б – proliferative activity of Hep-G2 cells. Standard deviation values are shown for 5 independent measurements

других полимеров, а также для обеспечения гемосовместимости [24, 25]. Обработка биодеградируемых скаффолдов на основе тканей из натурального шелка желатином позволяет проиллюстрировать несколько возможных путей применения такой конструкции.

На сегодняшний день для различных задач тканевой инженерии и регенеративной медицины применяется широкий спектр полимеров природного происхождения, таких как хитозан, альгинат, желатин, коллаген и др., основным недостатком которых являются низкие показатели механических характеристик, таких как прочность и эластичность, что приводит к хрупкости конструкций, получаемых на их основе [26]. Применение тканей из натурального шелка в качестве армирующего компонента таких конструкций может обеспечить необходимые механические характеристики и расширить сферы применения данных полимеров. Так, ткань с меньшей плотностью в рамках данного исследования можно рассматривать в качестве армирующего компонента пленки из желатина.

Другим перспективным направлением применения тканей из натурального шелка является их использование в качестве носителей для направленной доставки лекарственных средств с целью их постепенного высвобождения. Таким образом можно получить скаффолд с заданным сроком деградации, содержащий различные биологически активные вещества или лекарственные средства, которые будут высвобождаться из скаффолда по мере его деградации и обеспечивать эффективное восстановление органов и тканей.

Образцы полученных биодеградируемых скаффолдов не проявляют цитотоксического эффекта

и являются биосовместимыми, что проявляется в поддержании высокого уровня пролиферативной активности клеток. В ходе экспериментов не было выявлено различий в пролиферативной активности клеток между скаффолдами разных групп. Это может объясняться тем, что применение желатина снижает шероховатость поверхности скаффолдов, тем самым затрудняя адгезию клеток, что сказывается на уровне пролиферативной активности. При этом растворения желатина в составе скаффолда не происходит вследствие обработки перешивающими агентами – EDC и NHS, которые снижают скорость деградации покрытия из желатина.

Таким образом, использованный в исследовании подход к применению тканей из натурального шелка позволяет получать биосовместимые скаффолды на их основе. Использование тканей из натурального шелка является перспективным технологическим решением для получения биосовместимых биодеградируемых скаффолдов и их применения в различных областях тканевой инженерии и регенеративной медицины.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанная методика позволяет получать скаффолды на основе тканей из натурального шелка. Полученные скаффолды являются биосовместимыми, что открывает возможность их применения в различных областях тканевой инженерии и регенеративной медицины. Структура полученных скаффолдов, а также динамика деградации *in vitro* и *in vivo* требуют дальнейшего детального анализа.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Koh L-D, Cheng Y, Teng C-P, Khin Y-W, Loh X-J, Tee S-Y et al.* Structures, mechanical properties and applications of silk fibroin materials. *Progress in Polymer Science*. 2015; 46: 86–110. doi: 10.1016/j.progpolymsci.2015.02.001.
2. *Ding Z, Han H, Fan Z, Lu H, Sang Y, Yao Y et al.* Nanoscale Silk–Hydroxyapatite Hydrogels for Injectable Bone Biomaterials. *ACS applied materials & interfaces*. 2017; 9: 16913–16921. doi: 10.1021/acsami.7b03932. PMID: 28471165.
3. *Kim DK, Sim BR, Khang G.* Nature-derived aloe vera gel blended silk fibroin film scaffolds for cornea endothelial cell regeneration and transplantation. *ACS applied materials & interfaces*. 2016; 8: 15160–15168. doi: 10.1021/acsami.6b04901. PMID: 27243449.
4. *Dinis T, Elia R, Vidal G, Dermigny Q, Denoeud C, Kaplan D et al.* 3D multi-channel bi-functionalized silk electrospun conduits for peripheral nerve regeneration. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*. 2015; 41: 43–55. doi: 10.1016/j.jmbbm.2014.09.029. PMID: 25460402.
5. *Wang Y, Rudym DD, Walsh A, Abrahamsen L, Kim H-J, Kim HS et al. In vivo* degradation of three-dimensional silk fibroin scaffolds. *Biomaterials*. 2008; 29: 3415–3428. doi: 10.1016/j.biomaterials.2008.05.002. PMID: 18502501.
6. *Gupta P, Lorentz KL, Haskett DG, Cunnane EM, Ramaswamy AK, Weinbaum JS et al.* Bioresorbable silk grafts for small diameter vascular tissue engineering applications: *In vitro* and *in vivo* functional analysis. *Acta Biomater*. 2020; 15 (105): 146–158. doi: 10.1016/j.actbio.2020.01.020. PMID: 31958596.
7. *Hasturk O, Jordan KE, Choi J, Kaplan DL.* Enzymatically crosslinked silk and silk-gelatin hydrogels with tunable gelation kinetics, mechanical properties and bioactivity for cell culture and encapsulation. *Biomaterials*. 2019; 232: 119720. doi: 10.1016/j.biomaterials.2019.119720. PMID: 31896515.
8. *Wang Y, Fan S, Li Y, Niu C, Li X, Guo Y et al.* Silk fibroin/sodium alginate composite porous materials with controllable degradation. *Int J Biol Macromol*. 2019; 1 (150): 1314–1322. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.10.141. PMID: 31747567.
9. *Ratanavaraporn J, Kanokpanont S, Damrongsakkul S.* The development of injectable gelatin/silk fibroin microspheres for the dual delivery of curcumin and piperine. *J Mater Sci Mater Med*. 2014; 25 (2): 401–410. doi: 10.1007/s10856-013-5082-3. PMID: 24186150.
10. *Yang W, Xu H, Lan Y, Zhu Q, Liu Y, Huang S et al.* Preparation and characterisation of a novel silk fibroin/hyaluronic acid/sodium alginate scaffold for skin repair. *Int J Biol Macromol*. 2019; 1 (130): 58–67. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.02.120. PMID: 30797808.
11. *Marcolin C, Draghi L, Tanzi M, Faré S.* Electrospun silk fibroin-gelatin composite tubular matrices as scaffolds for small diameter blood vessel regeneration. *J Mater Sci Mater Med*. 2017; 28 (5): 80. doi: 10.1007/s10856-017-5884-9. PMID: 28397163.
12. *Сафонова ЛА, Боброва ММ, Агапова ОИ, Архипова АЮ, Гончаренко АВ, Агапов ИИ.* Пленки на основе фиброина шелка для заживления полнослойной раны кожи у крыс. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2016; 18 (3): 80–83. *Safonova LA, Bobrova MM, Agapova OI, Arkhipova AYu, Goncharenko AV, Agapov II*. Fibroin Silk Based Films For Rat's Full-Thickness Skin Wound Regeneration. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2016; 18 (3): 74–84. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2016-3-74-84.
13. *Li T, Song X, Weng C, Wang X, Gu L, Gong X et al.* Silk fibroin/carboxymethyl chitosan hydrogel with tunable biomechanical properties has application potential as cartilage scaffold. *Int J Biol Macromol*. 2019; 137: 382–391. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.06.245. PMID: 31271796.

14. *Wang F, Wu H, Venkataraman V, Hu X.* Silk fibroin-poly(lactic acid) biocomposites: Effect of protein-synthetic polymer interactions and miscibility on material properties and biological responses. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2019; 104: 109890. doi: 10.1016/j.msec.2019.109890. PMID: 31500018.
15. *Roy T, Maity PP, Rameshbabu AP, Das B, John A, Dutta A et al.* Core-Shell Nanofibrous Scaffold Based on Polycaprolactone-Silk Fibroin Emulsion Electrospinning for Tissue Engineering Applications. *Bioengineering (Basel).* 2018; 5 (3): 68. doi: 10.3390/bioengineering5030068. PMID: 30134543.
16. *Zhou F, Zhang X, Cai D, Li J, Mu Q, Zhang W et al.* Silk fibroin-chondroitin sulfate scaffold with immuno-inhibition property for articular cartilage repair. *Acta Biomater.* 2017; 63: 64–75. doi: 10.1016/j.actbio.2017.09.005. PMID: 28890259.
17. *Shen Y, Tu T, Yi B, Wang X, Tang H, Liu W, Zhang Y.* Electrospun acid-neutralizing fibers for the amelioration of inflammatory response. *Acta Biomater.* 2019; 97: 200–215. doi: 10.1016/j.actbio.2019.08.014. PMID: 31400522.
18. *Агапов ИИ, Агапова ОИ, Ефимов АЕ, Соколов ДЮ, Боброва ММ, Сафонова ЛА*. Способ получения биодеградируемых скаффолдов на основе тканей из натурального шелка. Патент на изобретение RU2653428 C1, 08.05.2018. *Agapov II, Agapova OI, Efimov AE, Sokolov DYu, Bobrova MM, Safonova LA*. Sposob polucheniya biodegradiruemykh skaffoldov na osnove tkaney iz natural'nogo shelka. Patent na izobretenie RU2653428 S1, 08.05.2018.
19. *Mosmann T.* Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. *J lmmunol Methods.* 1983; 65 (1–2): 55–63. doi: 10.1016/0022-1759(83)90303-4. PMID: 6606682.
20. *Shen T, Wang T, Cheng G, Huang L, Chen L, Wu D.* Dissolution behavior of silk fibroin in a low concentration $CaCl_2$-methanol solvent: From morphology to nanostructure. *Int J Biol Macromol*. 2018; 1 (113): 458–463. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.02.022. PMID: 29421494.
21. *Hino T, Tanimoto M, Shimabayashi S.* Change in secondary structure of silk fibroin during preparation of its microspheres by spray-drying and exposure to humid atmosphere. *J Colloid Interface Sci.* 2003; 266 (1): 68–73. doi: 10.1016/s0021-9797(03)00584-8. PMID: 12957583.
22. *Hu Y, Zhang Q, You R, Wang L, Li M.* The Relationship between Secondary Structure and Biodegradation Behavior of Silk Fibroin Scaffolds. *Adv Mater Sci and Eng*. 2012; 2012: 21–25. https://doi.org/10.1155/2012/185905.
23. *Ефимов АЕ, Агапова ОИ, Сафонова ЛА, Боброва ММ, Агапов ИИ.* Трехмерный анализ микро- и наноструктуры биоматериалов и клеток методом сканирующей зондовой крионанотомографии. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2017; 19 (4): 78–87. *Efimov AE, Agapova OI, Safonova LA, Bobrova MM, Agapov II.* Three-dimensional analysis of micro and nanostructure of biomaterials and cells by method of scanning probe nanotomography. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2017; 19 (4): 78–87. doi: 10.15825/1995-1191-2017-4-78-87.
24. *Zhang F, Xu S, Wang Z.* Pre-treatment optimization and properties of gelatin from freshwater fish scales. *Food Bioprod Proc.* 2011; 89: 185–193. doi: 10.1016/j.fbp.2010.05.003.
25. *Su K., Wang C.* Recent advances in the use of gelatin in biomedical research. *Biotechnol Lett.* 2015; 37 (11): 2139–2145. doi: 10.1007/s10529-015-1907-0. PMID: 26160110.
26. *Abdulghani S, Mitchell GR.* Biomaterials for In Situ Tissue Regeneration: A Review. *Biomolecules.* 2019; 9 (11): 750. doi: 10.3390/biom9110750. PMID: 31752393; PMCID: PMC6920773.

Статья поступила в редакцию 16.10.2020 г.
The article was submitted to the journal on 16.10.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-4-115-122

ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРО- И НАНОСТРУКТУРЫ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ, КУЛЬТИВИРОВАННЫХ НА БИОДЕГРАДИРУЕМЫХ СКАФФОЛДАХ НА ОСНОВЕ ФИБРОИНА ШЕЛКА, МЕТОДОМ СКАНИРУЮЩЕЙ ЗОНДОВОЙ ОПТИЧЕСКОЙ НАНОТОМОГРАФИИ

О.И. Агапова, А.Е. Ефимов, 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 клеток печени, культивированных на биодеградируемых скаффолдах в виде пленок на основе фиброина шелка. **Материалы и методы.** Для исследования, были получены образцы биодеградируемых скаффолдов на основе фиброина шелка с культивированными клетками печени крысы породы Wistar. Изучение трехмерной структуры клеток печени, культивированных на скаффолдах, было выполнено методом сканирующей зондовой оптической нанотомографии при помощи экспериментальной установки, объединяющей ультрамикротом и сканирующий зондовый микроскоп в корреляции с флуоресцентной микроскопией. **Результаты.** Получены наномасштабные изображения и трехмерные нанотомографические реконструкции участков клеток печени крысы, культивированных на скаффолде. Определены морфологические параметры клеток печени: средняя шероховатость, удельная эффективная площадь. Установлено, что средняя шероховатость поверхности клеток печени R_a составляет 124,8 ± 8,2 нм, в то время как эффективная площадь поверхности σ составляет 1,13 ± 0,02. Анализ объемного распределения липидных капель показал, что они занимают 28% объема клетки. **Выводы.** Полученные в результате исследования данные демонстрируют, что технология сканирующей зондовой оптической нанотомографии позволяет успешно анализировать наноструктуру и определять количественные характеристики наноморфологии клеток печени, культивированных на биодеградируемых скаффолдах.

Ключевые слова: клетки печени, биодеградируемые скаффолды, фиброин шелка, сканирующая зондовая микроскопия, флуоресцентная микроскопия, нанотомография.

INVESTIGATION OF THE MICRO- AND NANO-STRUCTURE OF LIVER CELLS CULTURED ON BIODEGRADABLE SILK FIBROIN-BASED SCAFFOLDS USING SCANNING PROBE OPTICAL NANOTOMOGRAPHY

O.I. Agapova, A.E. Efimov, 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 nano-structure and quantitative morphological parameters of liver cells cultured on biodegradable silk fibroin-based film scaffolds. **Materials and methods.** Samples of biodegradable silk fibroin-based scaffolds with cultured Wistar rat liver cells were obtained for the study. The 3D structure of liver cells cultivated on the scaffolds was studied by scanning probe optical nanotomography using an experimental setup combining an ultramicrotome and a scanning probe microscope in correlation with fluorescence

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., 123182, Moscow, Russian Federation.
Phone: (499) 190-66-19. E-mail: igor_agapov@mail.ru

microscopy. **Results.** Nanoscale images and 3D nanotomographic reconstructions of rat liver cells cultured on scaffold were obtained. The morphological parameters of liver cells (average roughness, specific effective area) were determined. The average surface roughness of the liver cells R_a was found to be 124.8 ± 8.2 nm, while the effective surface area σ was 1.13 ± 0.02. Analysis of the volume distribution of lipid droplets showed that they occupy 28% of the cell volume. **Conclusion.** Scanning probe optical nanotomography can successfully analyze the nanostructure and quantify the nanomorphology of liver cells cultured on biodegradable scaffolds.

Keywords: liver cells, biodegradable scaffolds, silk fibroin, scanning probe microscopy, fluorescence microscopy, nanotomography.

ВВЕДЕНИЕ

Задачи современной трансплантологии включают в себя поиск новых материалов для создания скаффолдов с повышенными адгезионными свойствами для разработки конструкций для тканевой инженерии и регенеративной медицины. При решении данных задач необходимо использование новых технологических подходов для анализа микро- и наноструктурных особенностей конструкций и клеток в их составе, а также параметров взаимодействия клеток с поверхностью конструкций на микро- и наноуровне.

Комбинирование различных методик микроскопии (электронной микроскопии, сканирующей зондовой микроскопии, оптической микроспектроскопии высокого разрешения) позволяет проводить коррелятивные исследования микро- и наноструктуры с высоким разрешением [1]. Информация, получаемая в ходе анализа с помощью различных микроскопических технологий, позволяет комплексно охарактеризовать структуру биологических объектов и получить новые знания об их свойствах [2].

Одним из наиболее востребованных направлений в этой области является разработка методов и подходов для анализа трехмерной микро- и наноструктуры биоматериалов, биологических объектов и тканеинженерных конструкций, которые позволяли бы получать коррелятивную информацию как о наноморфологии, так и о биологической структуре изучаемых объектов.

Уникальная методика сканирующей оптическо-зондовой нанотомографии (СОЗНТ) позволяет объединить функциональные возможности сканирующего зондового микроскопа (СЗМ) и ультрамикротома и в одном устройстве в корреляции с методами флуоресцентной оптической микроскопии [3, 4]. Использование методики СОЗНТ позволяет изучать трехмерную наноструктуру биоматериалов, клеток, тканей и тканеинженерных конструкций в корреляции с исследованием локализации флуоресцентных маркеров в объеме измеряемых образцов. Анализ получаемых трехмерных реконструкций структуры биологических объектов и материалов позволяет количественно определять такие важные параметры их наноморфологии, как микро- и нанопористость [5], эффективную площадь и шероховатость поверхности [6], отношение площади поверхности к объему [7].

В качестве объектов настоящего исследования были выбраны биодеградируемые скаффолды на основе фиброина шелка в виде пленок с культивированными клетками печени крысы.

Фиброин шелка тутового шелкопряда *Bombyx mori* является одним из перспективных материалов для тканевой инженерии. Данный биополимер не только удовлетворяет всем требованиям, предъявляемым к материалам в регенеративной медицине, но и обладает рядом преимуществ перед другими материалами. Его биосовместимость, оптимальные механические свойства, биодеградируемость обеспечивают возможное применение во многих областях регенеративной медицины, как в качестве самостоятельного материала, так и в качестве компонента различных композитов на его основе [8]. Все эти свойства позволяют получать из него двухмерные и трехмерные конструкции для различных целей [9–11].

В настоящее время рассматривается множество материалов, которые можно эффективно использовать для изготовления скаффолдов для культивирования клеток печени. Известны материалы, покрытия из которых поддерживают адгезию гепатоцитов, но формирование конструкций из них сопряжено с трудностями. К таким материалам, например, относятся хитозан, желатин, коллаген и др. Фиброин шелка привлекает внимание исследователей, так как сам по себе поддерживает адгезию и пролиферацию гепатоцитов, а также имеет подходящие механические свойства [12]. Фиброин также может применяться в составе композитных материалов. К примеру, трехмерные пористые скаффолды, изготовленные из фиброина и хитозана, смешанных в различных соотношениях, поддерживают адгезию и пролиферацию клеток гепатокарциномы человека *in vitro*, причем адгезивная способность клеток на скаффолдах гораздо выше, чем на контрольном субстрате [13]. Скаффолды аналогичного состава, изготовленные с применением технологии электроспиннинга, также были использованы для культивирования гепатоцитов мыши [12].

В рамках данной работы выполнены исследования микро- и наноструктуры клеток печени крысы,

адгезированных на биодеградируемых скаффолдах на основе фиброина шелка в виде пленок. Подобное исследование для данных типов клеток с использованием технологии СЗОНТ выполнено впервые.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изготовление скаффолдов для клеток в виде пленок на основе фиброина тутового шелкопряда *Bombyx mori*

Фиброин для изготовления скаффолдов для клеток в виде пленок выделяли из шелковых нитей тутового шелкопряда *Bombyx mori*. Для этого взвешивали 1 г нитей шелка, разрезали нити на фрагменты по 0,5 см. Кипятили на водяной бане в течение 40 минут в растворе с добавлением двууглекислого натрия для очистки нитей от серицина и других примесей. Затем промывали 3600 мл дистиллированной воды. Кипятили 3 раза по 30 минут в бидистиллированной воде, промывая после каждого кипячения дистиллированной водой, после чего высушивали в сушильном шкафу.

Для получения водного раствора фиброина в раствор, приготовленный из расчета 389 мг $CaCl_2$, 388 мкл C_2H_5OH и 544 мкл H_2O на 1 мл раствора, вносили навеску фиброина массой 130 мг/мл. Нагревали на водяной бане при 40 °С в течение 4 часов. После этого производили диализ раствора против бидистиллированной воды. Оптическую плотность раствора фиброина шелка в полученном после диализа растворе определяли спектрофотометрически при длине волны 280 нм, затем рассчитывали концентрацию по формуле D = ECL, где E – коэффициент экстинкции фиброина шелка, равный 1,07.

Далее водный раствор фиброина шелка, полученный по описанной выше методике, наносили на дно чашки Петри и высушивали при комнатной температуре. Высушенный фиброин шелка растворяли в муравьиной кислоте из расчета 20 мг/мл при нагревании до 40 °С на водяной бане в течение 30 минут. Полученный раствор центрифугировали 5 минут при 12 100 g.

Образцы биодеградируемых скаффолдов в виде пленок из фиброина шелка были получены методом полива. Для изготовления пленки 150 мкл раствора заданного состава наносили на дно лунок 48-луночного культурального планшета и высушивали в течение двух суток при комнатной температуре. Общая концентрация белка в пленке составляла 20 мг/мл. После высыхания раствора фиброина в лунки планшета наносили по 100 мкл раствора фибронектина с концентрацией 10 мкг/мл и высушивали в течение двух суток при комнатной температуре.

Перед культивированием клеток скаффолды в виде пленок подвергали стерилизации: обрабатывали 70% этанолом в течение 30 минут, затем облучали ультрафиолетом в течение 30 минут. После этого в лунки планшета вносили стерильный раствор фосфатно-солевого буфера и инкубировали в течение 15 минут, после чего производили смену фосфатно-солевого буфера. Данную процедуру повторяли три раза. Далее в лунки планшета вносили по 300 мкл среды инкубации на 30 минут.

Подготовка образцов клеток печени крысы породы Wistar, культивированных на скаффолдах из фиброина шелка, для исследований методами сканирующей зондовой оптической нанотомографии

Выделение клеток печени крысы производили следующим образом. В эксперименте использовали самцов крыс возрастом 1 год породы Wistar (вес особи 250–350 г). Крысу усыпляли при помощи ингаляционного наркоза с применением диэтилового эфира. Далее крысу помещали брюхом вверх на операционный стол и расправляли лапы. Пинцетом, оттягивая кожу на брюхе, ножницами делали продольный разрез кожи на средней линии брюшной стороны тела от полового отверстия до грудины. Кожу отворачивали и закрепляли. Затем вскрывали брюшную полость, сделав продольный разрез по средней линии, мышечные лоскуты отворачивали в стороны. Производили забор печени, отсекая полые вены, портальную вену, печеночные артерии и вены. После забора печень помещали в стерильный 0,9% раствор хлорида натрия и отмывали от крови. Далее фрагмент печени переносили во вторую порцию стерильного 0,9% раствора хлорида натрия и измельчали печень с помощью ножниц на фрагменты размером 5 × 5 мм, а затем обмывали каждый фрагмент печени раствором 0,9% хлорида натрия при помощи шприца без иглы. После отмывки от крови фрагмент печени переносили в стерильную сухую чашку Петри и обкалывали раствором коллагеназы 2-го типа с концентрацией 2 мг/мл при помощи инсулинового шприца, затем ткань инкубировали в течение 20 минут. Далее измельчали печень с помощью ножниц и инкубировали еще 5 минут, затем переносили на лед. После этого к ткани печени добавляли 5 мл раствора 0,9% хлорида натрия. Полученный раствор переносили в пробирку, перемешивали, и центрифугировали в течение 5 минут при 1770 g и температуре –5 °С. Супернатант удаляли, к полученному осадку добавляли культуральную среду, перемешивали и суспензию клеток переносили в предварительно подготовленные 48-луночные планшеты. Клетки инкубировали в термостате при 37 °С и 5% CO_2 в течение 2 дней.

Клетки печени для дальнейших экспериментов с помощью метода СЗОНТ визуально локализовали с помощью оптического микроскопа.

Для исследований клеток на скаффолдах методом флуоресцентной сканирующей оптическо-зондовой нанотомографии клетки предварительно окрашивали флуоресцентными красителями FITC и DAPI. Лунки дважды промывали стерильным 0,9% раствором хлорида натрия, затем вносили раствор DAPI с концентрацией 3 мкг/мл и инкубировали 5 минут при 37 °С. Затем производили две короткие отмывки стерильным 0,9% раствором хлорида натрия, после чего в лунки вносили 2,5% раствор глутарового альдегида в натрий-фосфатном буфере (pH = 7,4) и инкубировали в течение 2 часов в темноте при +4 °С. Далее производили одну короткую отмывку стерильным 0,9% раствором хлорида натрия и одну короткую отмывку раствором карбонат-бикарбонатного буфера (pH = 9,0). Затем раствор FITC в ДМСО с концентрацией 1 мг/мл вносили в лунки и инкубировали в течение 40 минут в темноте, после чего производили две короткие отмывки раствором карбонат-бикарбонатного буфера (pH = 9,0).

Для изготовления препарата для СОЗНТ производили дегидратацию образцов скаффолдов с культивированными клетками печени 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.

Образцы отмывали трехкратно 100% этиловым спиртом по 10 минут, а затем инкубировали в смеси 100% этилового спирта и эпоксидной смолы в соотношении 1:1 в течение 30 минут, после чего образцы переносили в смесь 100% этилового спирта 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 12 часов, после чего продолжали инкубацию в течение 72 часов при температуре 60 °С. Затем скаффолды в эпоксидной смоле отделяли от дна планшетов с помощью скальпеля.

Для заливки образцов использовалась эпоксидная среда (Epoxy Embedding Medium), смешиваемая с равным по массе количеством отвердителя заливочной среды (додеценилянтарный ангидрид DDSA) и 4% по массе 2,4,6-трис-(диметиламинометил)-фенола (DMP-30).

Сканирующая зондовая оптическая нанотомография

Для исследований образцов клеток печени крысы методами СЗНТ использовалась экспериментальная установка Ntegra Tomo. Данный комплекс позволяет производить последовательные СЗМ-измерения поверхности образцов непосредственно после выполнения среза ультрамикротомом. Последовательные срезы образца толщиной 100 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 клетки печени были получены в программе ImagePro Plus 6.0 (Media Cybernetics, Inc, США).

Коррелятивные измерения срезов при помощи метода флуоресцентной оптической микроскопии выполнялись при помощи флуоресцентного инвертированного микроскопа AxioVert.A1 (Carl Zeiss, Германия), оснащенного ртутной лампой HBO 100. Флуоресцентные изображения были получены с использованием иммерсионного объектива Carl Zeiss EC Plan-Neofluar 100x/1.30 Oil Ph3. Для анализа флуоресцентных изображений использовался программный пакет Zen (Carl Zeiss, Германия).

Анализ реконструированных методом СЗОНТ 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. Используемые алгоритмы вычислений данных параметров приведены в [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Подготовленные образцы клеток печени крысы, культивированные на скаффолдах из фиброина шелка, были исследованы при помощи технологии СЗОНТ. После отделения залитых в эпоксидную среду образцов скаффолдов от планшетов выполнялась локализация культивированных клеток печени в плоскости скаффолдов с использованием флуоресцентной микроскопии. На основе анализа полученных изображений отбирались скаффолды для дальнейшего СЗОНТ-анализа, затем выполнялись первичные срезы образца ультрамикротомом в плоскости, перпендикулярной плоскости скаффолда,

и при помощи флуоресцентной микроскопии измерялось расстояние от плоскости первичного среза до регистрируемых клеток печени. В соответствии с выполненными измерениями производились последующие срезы изучаемого скаффолда с контролируемой суммарной толщиной, для того чтобы получить срезы клеток печени. На рис. 1 приведено флуоресцентное изображение образца пленки на основе фиброина шелка с адгезированными на нем клетками печени, линией отмечена плоскость среза, стрелка указывает на область локализации клеток, в которой выполнялся СЗОНТ-анализ.

На рис. 2 представлены изображения, полученные в ходе анализа образцов клеток печени, адгезированных на скаффолды в виде пленок на основе фиброина шелка. В ходе СЗМ-анализа (рис. 2, а) было выявлено наличие ядра, а также включений в виде липидной капли, занимающих значительный объем клетки. Такие включения являются одной из характерных особенностей клеток печени. Полученные данные подтверждаются коррелятивными флуоресцентными изображениями. Распределение красителя DAPI подтверждает наличие ядра в клетке (рис. 2, в), в

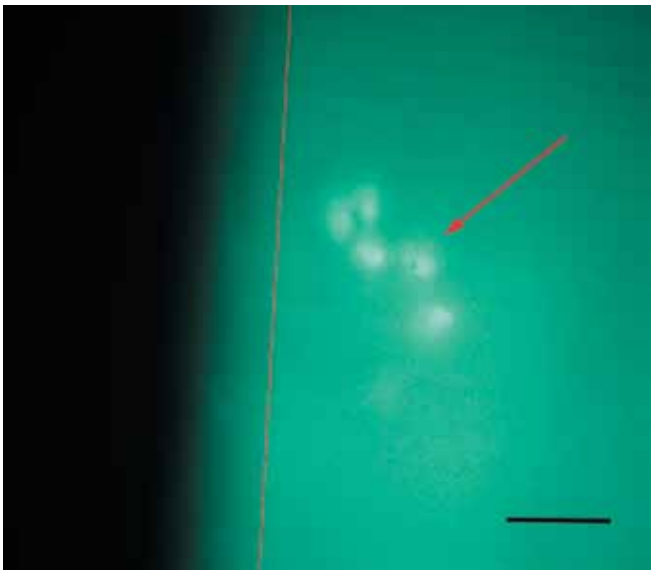

Рис. 1. Флуоресцентное изображение образца пленки фиброина шелка с адгезированным на ней клетками печени, окрашивание FITC, ×200, размерный отрезок – 50 мкм

Fig. 1. Fluorescent image of a silk fibroin film sample with liver cells adhered to it; FITC stain, ×200, scale bar – 50 μm

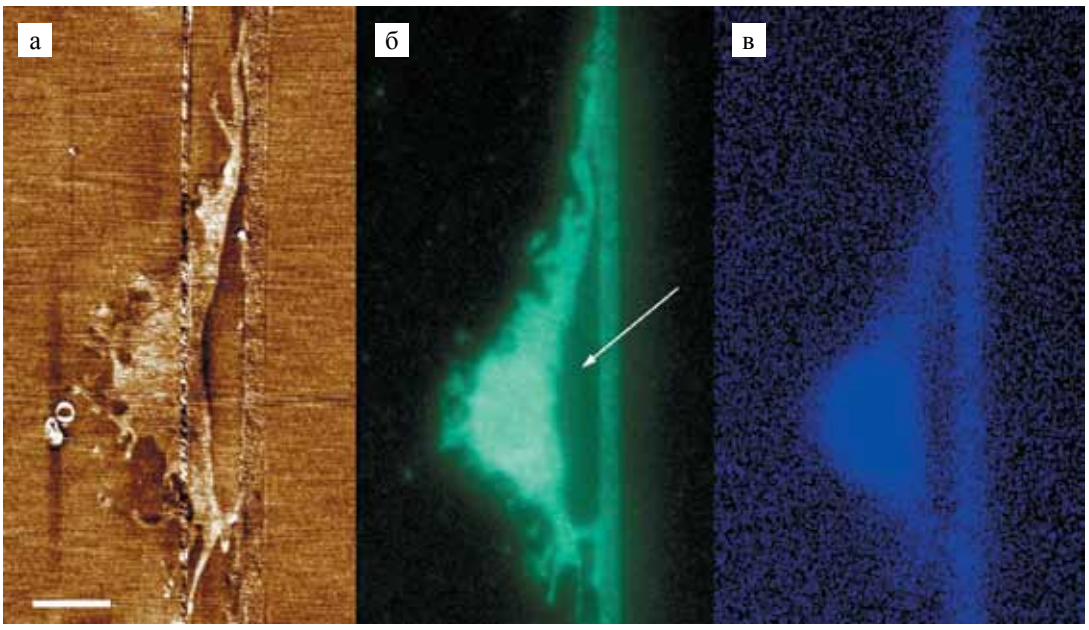

Рис. 2. Анализ образцов клеток печени, культивированных на скаффолдах в виде пленок на основе фиброина шелка: а – СЗМ-изображение топографии поверхности среза скаффолда в виде пленки на основе фиброина шелка с адгезированной клеткой печени: размер скана 25 × 12 мкм, диапазон вариации высоты 11 нм, размерный отрезок – 3 мкм; б – коррелятивное флуоресцентное изображение среза скаффолда в виде пленки на основе фиброина шелка с адгезированной клеткой печени, окрашивание FITC, ×1000, стрелкой указана липидная капля; в – коррелятивное флуоресцентное изображение поверхности среза скаффолда в виде пленки на основе фиброина шелка с адгезированной клеткой печени, окрашивание DAPI, ×1000

Fig. 2. Analysis of liver cell samples cultured on silk fibroin-based film scaffolds: a – SPM image of the surface topography of a cross-section of the silk fibroin-based film scaffold with adhered liver cell: scan size 25 × 12 μm, height variation range 11 nm, scale bar 3 μm; б – correlative fluorescent image of a cross-section of the silk fibroin-based film scaffold with adhered liver cell, FITC stain, ×1000, the arrow indicates a lipid droplet; в – correlative fluorescent image of a cross-section of the silk fibroin-based film scaffold with adhered liver cell, DAPI stain, ×1000

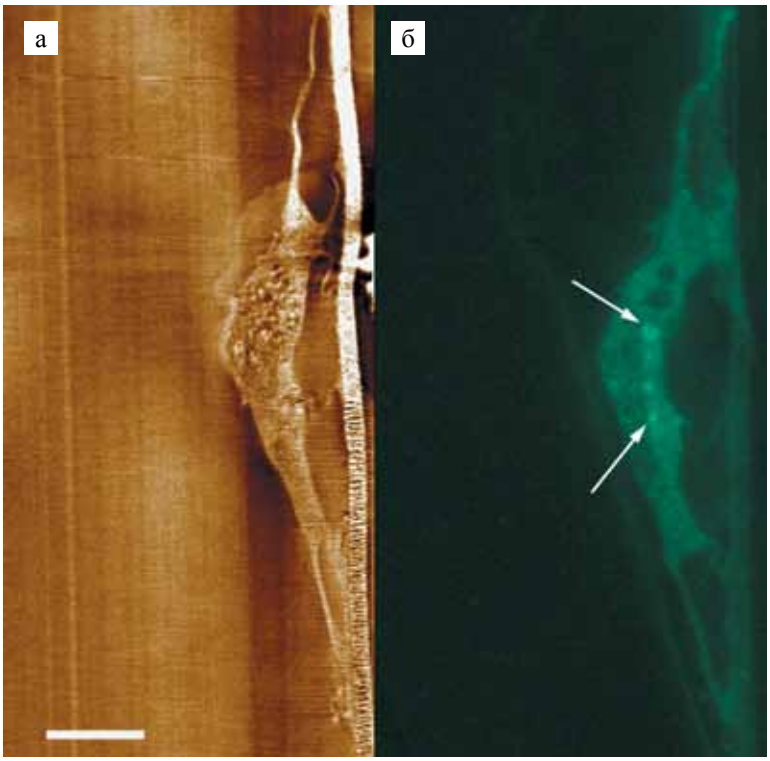

Рис. 3. Анализ образцов клеток печени, культивированных на скаффолдах в виде пленок на основе фиброина шелка: а – СЗМ-изображение топографии поверхности среза скаффолда в виде пленки на основе фиброина шелка с адгезированной клеткой печени: размер скана 32 × 15 мкм, диапазон вариации высоты 40 нм, размерный отрезок 4 мкм; б – флуоресцентное изображение поперечного среза скаффолда в виде пленки на основе фиброина шелка с адгезированной клеткой печени, окрашивание FITC, ×1000, стрелками указаны гранулы гликогена

Fig. 3. Analysis of liver cell samples cultured on silk fibroin-based film scaffold: a – SPM image of the surface topography of a cross-section of the silk fibroin-based film scaffold with adhered liver cell: scan size 32 × 15 μm, height variation range 40 nm, scale bar 4 μm; б – correlative fluorescent image of a cross-section of the silk fibroin-based film scaffold with adhered liver cell, FITC stain, ×1000, the arrows indicate glycogen granules

области липидной капли не наблюдается флуоресценция красителей (рис. 2, б, в).

Дальнейший анализ структуры клеток печени крысы, адгезированных на скаффолды на основе фиброина шелка в виде пленок, выявил наличие большого количества включений. В ходе анализа изображений, представленных на рис. 3, в структуре клеток печени были выявлены включения в виде липидных капель, в области которых не регистрируется флуоресценция (рис. 3, б), и оформленных гранул, предположительно гликогена (указаны стрелками на рис. 3, б).

Анализ структуры клеток печени крысы, адгезированных на скаффолды на основе фиброина шелка в виде пленок с высоким разрешением, выявил обширные участки цитоплазмы с неоднородной структурой (рис. 4), наличие которых может свидетельствовать о высоком уровне метаболизма клеток за счет развитой системы эндоплазматического ретикулума.

Для оценки трехмерной морфологии клетки печени, адгезированной на поверхность скаффолда на основе фиброина шелка в виде пленки, была выполнена трехмерная реконструкция фрагмента клетки при помощи метода СЗНТ. Для этого выполнено 14 последовательных срезов образца толщиной 200 нм и получено 14 последовательных СЗМ-изображений участка скаффолда размером 32 × 16 мкм. Полученная визуализация трехмерной структуры клетки печени показана на рис. 5.

Анализ полученных трехмерных данных позволил определить морфологические параметры реконструированной трехмерной структуры клетки печени. Так, средняя шероховатость поверхности клетки Ra составляет 124,8 ± 8,2 нм, в то время как эффективная площадь поверхности σ, вычисляемая как отношение площади поверхности к площади ее двухмерной проекции на плоскость, составляет 1,13 ± 0,02. Данный безразмерный параметр определяет степень развитости поверхности. Анализ объемного распределения липидных капель показал, что они занимают 28% объема реконструированного фрагмента клетки.

Рис. 4. СЗМ-изображение топографии поверхности среза скаффолда в виде пленки на основе фиброина шелка с адгезированной клеткой печени: размер скана 7,0 × 6,0 мкм, диапазон вариации высоты 20 нм, размерный отрезок 1 мкм

Fig. 4. SPM image of the topography of a cross-section of the silk fibroin-based film scaffold with adhered liver cell: scan size 7.0 × 6.0 μm, height variation range 20 nm, scale bar 1 μm

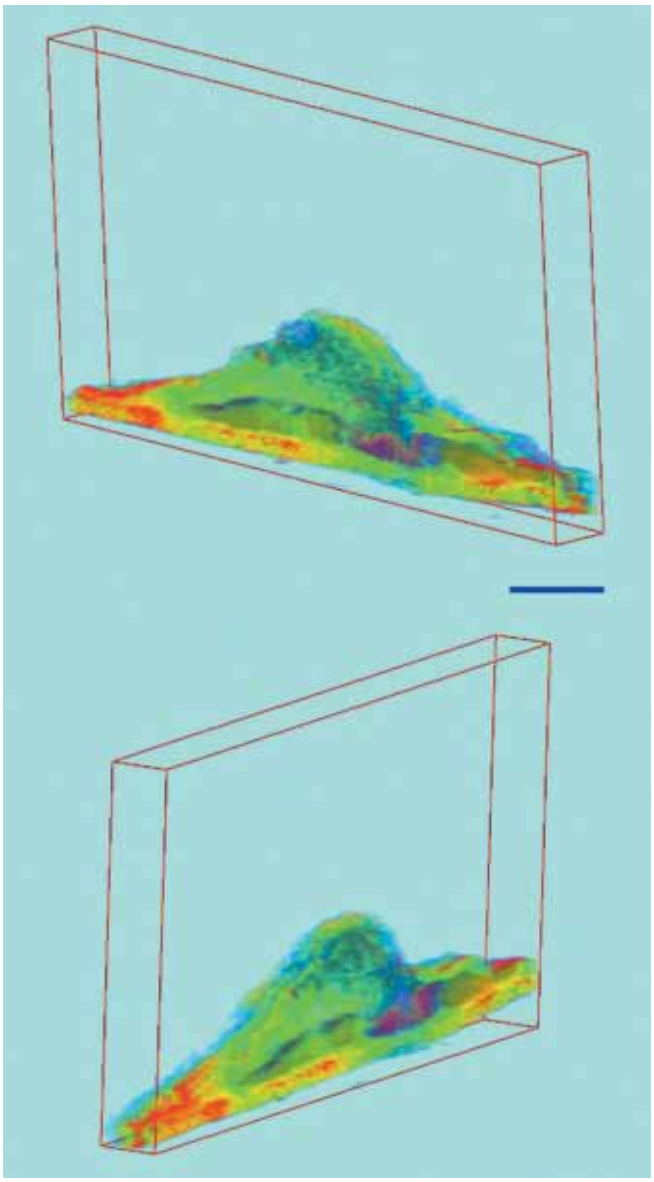

Рис. 5. Трехмерная СЗНТ-реконструкция клетки печени, адгезированной на скаффолд в виде пленки на основе фиброина шелка, 32,0 × 15,0 × 2,8 мкм, толщина среза 200 нм, размерный отрезок 5 мкм

Fig. 5. SPNT 3D-reconstruction of the liver cell adhered to the silk fibroin-based film scaffold, 32.0 × 15.0 × 2.8 μm, slice thickness 200 nm, scale bar 5 μm

Отработанная нами методика исследования наномасштабных структур клеток печени крысы, адгезированных на биодеградируемые скаффолды, при помощи сканирующей оптическо-зондовой нанотомографии применима для исследования особенностей трехмерной структуры клеток разных типов на микро- и наноуровне.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В представленной работе при помощи метода СЗОНТ выполнены исследования наномасштабных структур клеток печени крысы, адгезированных на биодеградируемые скаффолды в виде пленок на основе фиброина шелка. Получены трехмерные реконструкции клетки печени крысы и его корреляционные флуоресцентные изображения; определены параметры трехмерной наноморфологии клеток. Полученные результаты продемонстрировали, что разработанный метод флуоресцентной сканирующей оптическо-зондовой нанотомографии может быть эффективно использован для корреляционного анализа структуры биодеградируемых скаффолдов на основе фиброина шелка с культивированными на них клетками.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Caplan J, Niethammer M, Taylor RMII, Czymmek KJ.* The Power of Correlative Microscopy: Multi-modal,

Multi-scale, Multi-dimensional. *Curr Opin Struct Biol.* 2011; 21 (5): 686–693. doi: 10.1016/j.sbi.2011.06.010.

2. *Balashov V, Efimov A, Agapova O, Pogorelov A, Agapov I, Agladze K.* High resolution 3D microscopy study of cardiomyocytes on polymer scaffold nanofibers reveals formation of unusual sheathed structure. *Acta Biomaterialia.* 2018; 68 (1): 214–222. doi: 10.1016/j.actbio.2017.12.031.
3. *Efimov AE, Agapov II, Agapova OI, Oleinikov VA, Mezin AV, Molinari M et al.* A novel design of a scanning probe microscope integrated with an ultramicrotome for serial block-face nanotomography. *Review of Scientific Instruments.* 2017; 88 (2): 023701. doi: 10.1063/1.4975202.
4. *Mochalov KE, Chistyakov AA, Solovyeva DO, Mezin AV, Oleinikov VA, Molinari M et al.* An instrumental approach to combining confocal microspectroscopy and 3D scanning probe nanotomography. *Ultramicroscopy.* 2017; 182: 118–123. doi: 10.1016/j.ultramic.2017.06.022.
5. *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.
6. *Ефимов АЕ, Агапова ОИ, Сафонова ЛА, Боброва ММ, Агапов ИИ.* Трехмерный анализ микро- и наноструктуры ткани легкого методом сканирующей зондовой нанотомографии. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2020; 22 (3): 143–148. *Efimov AE, Agapova OI, Safonova LA, Bobrova MM, Agapov II.* 3D analysis of the micro- and nanostructure of lung tissue by scanning probe nanotomography. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2020; 22 (3): 143–148. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2020-3-143-148.
7. *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.
8. *Kim HH, Park JB, Kang MJ, Park YH.* Surface-modified silk hydrogel containing hydroxyapatite nanoparticle with hyaluronic acid–dopamine conjugate. *Int J Biol Macromol.* 2014; 70: 516–522. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2014.06.052.
9. *Gil ES, Panilaitis B, Bellas E, Kaplan DL.* Functionalized Silk Biomaterials for Wound Healing. *Adv Healthc Mater.* 2013; 2: 206–217. doi: 10.1002/adhm.201200192.
10. *Zhua M, Wanga K, Meia J, Lib C, Zhanga J, Zhenga W et al.* Fabrication of highly interconnected porous silk fibroin scaffolds for potential use as vascular grafts. *Acta Biomater.* 2014; 10 (5): 2014–2023. doi: 10.1016/j.actbio.2014.01.022.
11. *Gu Y, Zhu J, Xue C, Li Z, Ding F, Yang Y, Gu X.* Chitosan/silk fibroin-based, Schwann cell-derived extracellular matrix modified scaffolds for bridging rat sciatic nerve gaps. *Biomaterials*. 2014; 35 (7): 2253–2263. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.11.087.
12. *Kasoju N, Bora U.* Silk fibroin based biomimetic artificial extracellular matrix for hepatic tissue engineering applications. *Biomed Mater.* 2012; 7 (4): 1–12. doi: 10.1088/1748-6041/7/4/045004.
13. *She Z, Jin C, Huang Z, Zhang B, Feng Q, Xu Y.* Silk fibroin/chitosan scaffold: preparation, characterization, and culture with HepG2 cell. *J Mater Sci: Mater Med.* 2008; 19: 3545–3553. doi: 10.1007/s10856-008-3526-y.

Статья поступила в редакцию 19.10.2020 г.
The article was submitted to the journal on 19.10.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-4-123-132

ОСОБЕННОСТИ МЕХАНИЗМОВ РЕАЛИЗАЦИИ ДИСТАНТНОГО СТИМУЛИРУЮЩЕГО ЭФФЕКТА АУТОТРАНСПЛАНТАЦИИ КОЖНОГО ЛОСКУТА НА ПЕРФУЗИЮ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА В УСЛОВИЯХ ЛОКАЛЬНЫХ И СИСТЕМНЫХ НАРУШЕНИЙ

А.Н. Иванов, Д.Д. Лагутина, Т.В. Степанова

ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов, Российская Федерация

Цель настоящего исследования – изучение особенностей механизмов реализации дистантного стимулирующего действия аутотрансплантации полнослойного кожного лоскута (АТПКЛ) на перфузию микроциркуляторного русла при локальных и системных микроциркуляторных нарушениях. **Материалы и методы.** Эксперимент проведен на 87 белых крысах-самцах, разделенных на 5 групп: 1) контрольная; 2) животные с локальными нарушениями микроциркуляции, вызванными перерезкой и нейрорафией седалищного нерва; 3) животные с системными нарушениями микроциркуляции, вызванными аллоксановым диабетом; 4) животные, которым вместе с нейрорафией проведена АТПКЛ; 5) животные, которым на фоне аллоксанового диабета проведена АТПКЛ. Микроциркуляцию кожи тыльной поверхности стопы исследовали методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ). В крови животных определяли содержание вазоактивных веществ, включая катехоламины (КА), гистамин и васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF). Проводили морфологическое исследование тканей области аутотрансплантации на 42-е сутки эксперимента. **Результаты.** АТПКЛ на 42-е сутки эксперимента приводит к нормализации перфузии при локальных и системных нарушениях микроциркуляции. АТПКЛ при повреждении нерва, и в большей степени при аллоксановом диабете, приводит к снижению уровня КА. Под влиянием АТПКЛ концентрация гистамина в крови более выраженно увеличивалась у животных с травмой нерва. У животных с травмой нерва АТПКЛ увеличивала содержание VEGF в крови, чего не отмечалось у крыс с аллоксановым диабетом. Морфология зоны аутотрансплантации характеризовалась дегенеративными изменениями эпидермиса и дермы аутотрансплантата вне зависимости от модели микроциркуляторных нарушений. Зона аутотрансплантата инфильтрируется эозинофилами более выраженно при травме нерва, чем у крыс с аллоксановым диабетом. **Заключение.** АТПКЛ оказывает дистантное стимулирующее действие на микроциркуляцию, которое проявляется в одинаковом объеме в условиях как локальных, так и системных нарушений микрокровотока. Механизм реализации дистантного стимулирующего действия АТПКЛ на микроциркуляцию многокомпонентный и включает комплекс регуляторных реакций, степень выраженности которых неодинакова в условиях локальных и системных нарушений микрокровотока.

Ключевые слова: аутотрансплантация, микроциркуляция, регенерация, кожный лоскут.

Для корреспонденции: Иванов Алексей Николаевич. Адрес: 410054, Саратов, ул. Большая Садовая, д. 137, корп. 5. Тел. (927) 279-95-99. E-mail: lex558452@gmail.com

Corresponding author: Alexey Ivanov. Address: 137/5, Bolshaya Sadovaya str., Saratov, 410054, Russian Federation. Phone: (927) 279-95-99. E-mail: lex558452@gmail.com

CHARACTERISTICS OF MECHANISMS OF THE DISTANT STIMULATING EFFECT OF SKIN FLAP AUTOGRAFT ON MICROVASCULAR PERFUSION IN LOCAL AND SYSTEMIC MICROCIRCULATION DISORDERS

A.N. Ivanov, D.D. Lagutina, T.V. Stepanova
Saratov State Medical University, Saratov, Russian Federation

Objective: to study the characteristics of mechanisms of the distant stimulating effect of full-thickness skin autograft (FTSG) on microvascular perfusion in local and systemic microcirculation disorders. **Materials and methods.** The experiment was carried out on 87 white male rats, divided into 5 groups: 1) control; 2) animals with local microcirculation disorders induced by sciatic nerve transection and neuroraphy; 3) animals with systemic microcirculation disorders caused by alloxan-induced diabetes; 4) animals that underwent FTSG after sciatic nerve transection and neurography; 5) animals that underwent FTSG in alloxan-induced diabetes. Laser Doppler flowmetry (LDF) was used to study microcirculation of the dorsal skin of the rear paw. Serum concentrations of vasoactive substances, including catecholamines (CA), histamine, and vasculoendothelial growth factor (VEGF) in the experimental animals were measured. A morphological study of the tissues of the autograft site was carried out on day 42 of the experiment. **Results.** On day 42 of the experiment, FTSG normalized perfusion in local and systemic microcirculation disorders. FTSG decreases CA level in nerve injury, and to a greater extent in alloxan-induced diabetes. Serum histamine increase under FTSG was more pronounced in rats with nerve injury. Serum VEGF in rats with nerve injury and FTSG increased, which was not observed in alloxan-induced diabetes. Histological assay of the autograft site revealed degenerative changes in the epidermis and dermis of the autotransplant in both experimental models of microcirculatory disorders. Eosinophilic infiltration of the autograft site was more pronounced in nerve injury than in alloxan-induced diabetes. **Conclusion.** FTSG has a distant stimulating effect on microcirculation, which manifests itself in the same degree in both local and systemic microcirculation disorders. The distant stimulating effect of FTSG on microcirculation is multicomponent in nature and includes a set of regulatory reactions, whose severity differs in local and systemic microcirculatory disorders.

Keywords: autograft, microcirculation, regeneration, skin flap.

ВВЕДЕНИЕ

Физиологической основой поддержания гомеостаза в тканях и органах живых организмов является транскапиллярный обмен в микроциркуляторном русле, при этом нормальное функционирование микроциркуляции связано с метаболической активностью клеток [1]. Кроме того, нарушения микрокровотока являются основным звеном в патогенезе различных патологических процессов, а также играют важную роль в процессе саногенеза, обеспечивая трофическую поддержку репаративных процессов [2]. Системные и местные метаболические нарушения оказывают влияние на состояние микроциркуляторного русла, что ведет к еще большему усугублению дисметаболизма в органах и тканях [3, 4]. В условиях нормы и патологии собственные клетки и ткани организма способны влиять на состояние микроциркуляции за счет синтеза и выделения биологически активных веществ, регулирующих микроциркуляцию на местном и системном уровнях [5].

Современный уровень развития научных знаний определяет процесс регенерации тканей и органов организма как сложный комплекс взаимосвязанных последовательных местных и общих реакций организма, которые протекают с участием многих регуляторных систем с разным уровнем организации [6]. При этом следует отметить, что у разных клеток и тканей организма регенераторный потенциал и интенсивность продукции биологически активных веществ, стимулирующих репаративные процессы, различны. Так, некоторыми исследователями было продемонстрировано ускорение процессов регенерации под влиянием препаратов на основе плаценты [7, 8]. Несмотря на эффективность применения аллотканей, включая ткани фетоплацентарного комплекса, в регенеративной медицине, их использование связано с риском развития инфекционных и иммунных осложнений. Поэтому более перспективным методом стимуляции регенераторных процессов является использование аутотканей, в частности кожи. Показано, что жировая ткань подкожной клетчатки богата биологически активными веществами, которые обеспечивают высокий регенераторный потенциал [9]. Было экспериментально показано, что аутотрансплантация жировой ткани стимулирует микрокровоток, а также положительно влияет на системные изменения метаболических процессов [10, 11]. Кроме того, в состав клеточных популяций кожи входят лейкоцитарные клетки, кото-

рые продуцируют различные биологически активные вещества [12].

Ранее было продемонстрировано, что аутотрансплантация полнослойного кожного лоскута (АТПКЛ) в межлопаточную область обладает дистантным стимулирующим эффектом на микроциркуляцию в коже тыльной поверхности стопы у интактных белых крыс, у животных при повреждении седалищного нерва, а также в условиях экспериментального аллоксанового диабета [13, 14]. Было показано, что механизм действия АТПКЛ многокомпонентный и включает в себя комплекс изменений гистологии зоны аутотрансплантации, концентраций вазоактивных веществ в крови, механизмов модуляции микрокровотока [13, 14]. Вместе с тем в предыдущих исследованиях не учитывалась зависимость биостимулирующего эффекта АТПКЛ от распространенности поражения микроциркуляторного русла, в частности, не установлены различия в степени реализации эффекта при локальном и системном поражении сосудистого русла, что критически важно для определения ограничений применения данного метода при системных нарушениях микроциркуляции. Кроме того, в настоящее время отсутствуют данные о влиянии этиологии поражения сосудистой системы на реализацию данного эффекта, которые могут способствовать выявлению дополнительных ограничений для практического применения метода, так как в ряде случаев изменение метаболических процессов, обусловливающих нарушение микроциркуляции, может количественно и качественно изменять характер регуляторных реакций при АТПКЛ, включая модуляцию воспалительной реакции, вазомоторную активность и другие. Как указывалось выше, механизм дистантного стимулирующего действия АТПКЛ сложен и включает в себя множество регуляторных реакций, взаимодействия и иерархия которых остаются невыясненными. В частности, имеющиеся данные не позволяют однозначно судить о том, какие регуляторные реакции имеют триггерное значение, а какие вторичны, не ясно, какие из них универсальны, а какие строго специфичны для определенного способа моделирования нарушений микроциркуляции. В этой связи научную и практическую значимость представляет выявление зависимости особенностей комплекса регуляторных реакций при биостимуляции собственными тканями организма от характера и распространенности поражения микроциркуляторного русла, что и определило направление настоящего исследования, целью которого являлось изучение особенностей реализации дистантного стимулирующего действия АТПКЛ на перфузию микроциркуляторного русла кожи при локальных и системных нарушениях микрокровотока.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования были выполнены на 87 белых нелинейных крысах. Эксперимент проводился в соответствии с рекомендациями этического комитета Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского (протокол № 1 от 05.02.2019 года). Все манипуляции выполнялись под общей анестезией внутримышечным введением ксилазина («Interchemie», Нидерланды) в дозе 1 мг/кг и золетила («VirbacSanteAnimale», Франция) в дозе 0,1 мл/кг. В процессе эксперимента было сформировано 5 групп животных: 1-я группа – контрольная, которая включала в себя 10 интактных крыс; 2-я группа – сравнительная, состоящая из 27 крыс с локальными нарушениями микроциркуляции, вызванными перерезкой и нейрорафией седалищного нерва; 3-я группа – сравнительная – из 20 крыс с системными нарушениями микроциркуляции, вызванными аллоксановым сахарным диабетом; 4-я группа – опытная, включала 20 крыс, которым проводили АТПКЛ в межлопаточную область одновременно с нейрорафией седалищного нерва; 5-я группа – опытная – из 10 крыс, которым на 21-е сутки после введения аллоксана выполняли АТПКЛ.

В качестве модели локальных нарушений микроциркуляции использовали денервационную гиперчувствительность, которая возникает и развивается при перерезке и отсроченной нейрорафии седалищного нерва и сопровождается спазмом сосудов микроциркуляторного русла и ухудшением состояния микрокровотока [15]. Пересечение седалищного нерва выполнялась на уровне средней трети бедра. Нейрорафия осуществлялась через 21 сутки после перерезки нерва путем наложения эпиневральных швов с применением атравматических игл и шовного материала 7/0 USP.

Системные нарушения микроциркуляции моделировали путем развития у животных сахарного диабета, вызванного аллоксаном, который оказывает прямое β-цитотоксическое действие на островковый аппарат поджелудочной железы и вызывает абсолютную недостаточность инсулина, характерную для сахарного диабета 1-го типа [16]. Аллоксан в дозе 100 мг/кг веса животного вводили подкожно однократно. Развитие сахарного диабета верифицировано статистически значимым ($p < 0,05$) повышением уровня гликированного гемоглобина в 1,7 раза по сравнению с интакными животными до 9,3 (6,9; 12,1) %.

АТПКЛ у животных опытных групп осуществляли на 21-е сутки от начала эксперимента (перерезки седалищного нерва или введения аллоксана соответственно). Полнослойный кожный лоскут размером 0,1% от площади поверхности тела животного иссекался в межлопаточной области, обрабатывали

поочередно в перекиси водорода 3%, этиловом спирте 70% и физиологическом растворе 0,9%. В ране, образовавшейся при иссечении лоскута, формировали подкожный карман, в который помещали обработанный аутотрансплантат. Операционная рана ушивалась наглухо [17].

Микрокровоток кожи тыльной поверхности стопы исследовали с помощью «ЛАКК-ОП» (НПП «Лазма», Россия) на 42-е сутки эксперимента у животных сравнительных и опытных групп. В качестве контроля были использованы ЛДФ-граммы интактных животных. Состояние микроциркуляции оценивали по величине показателя перфузии в перфузионных единицах.

Забор крови у животных осуществляли на 42-е сутки эксперимента пункцией правых отделов сердца с использованием пробирок «VACUETTE» (Greiner Bio-One, Австрия) с активатором свертывания и разделительным полиэфирным гелем для получения сыворотки, а также с 3,2% цитратом натрия для получения плазмы и изготовления мазков.

Уровень катехоламинов (КА) в крови в качестве основных васоконстрикторных веществ определяли микроскопией с помощью микровизора μ-Vizo 101 (ЛОМО, Россия) мазков, окрашенных цитохимическим методом по А.И. Мардарь и Д.П. Кладиенко (1986) нитратом серебра и эозином с предварительной экспозицией в растворе бихромата калия для получения адренохромов сорбированных на эритроцитах. Уровень КА в крови выражали в условных единицах, определяемых как количество адсорбированных на 100 эритроцитах мазка гранул импрегнированных серебром адренохромов.

Определение концентрации в крови вазодилататорных веществ, включая гистамин и фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), выполняли иммуноферментным анализом с использованием полуавтоматических ридеров StatFax4200 (Awareness Technology, США) и Epoch (BioTekInstruments, США), а также реагентов VEGF Rat (RnDSystems, США) и Histamine-ELISA (IBL International, Германия).

Животные выводились из эксперимента передозировкой препаратов для наркоза непосредственно после забора крови. Ткани зоны АТПКЛ забирались и фиксировались в 10% формалине для гистологического исследования. В качестве контроля использовали образцы кожи интактных животных. Гистологические срезы толщиной 5 мкм окрашивались гематоксилином Майера (ООО «Биовитрум», Россия) и эозином (ООО «Биовитрум», Россия). Микроскопию препаратов зоны АТПКЛ выполняли с помощью системы AxioImager Z2 (CarlZeiss, Германия). Количественный подсчет клеточных популяций дермы аутотрансплантата выполнялся при увеличении объектива ×40.

Статистическую обработку выполняли средствами пакета программ Statistica 10.0. Большинство полученных данных не соответствовали закону нормального распределения, поэтому представлены в виде медианы и интерквартильного размаха. Сравнение между группами проводилось с расчетом U-критерия Манна–Уитни и показателя достоверности различия p, критический уровень которого принимали равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При исследовании микроциркуляции кожи тыльной поверхности стопы у группы животных, которым выполнялась перерезка и отсроченная нейрорафия седалищного нерва, отмечалось значимое снижение перфузионного показателя относительно контрольных значений на 42-е сутки эксперимента. У животных, которым одновременно с нейрорафией выполнялась АТПКЛ, на 42-е сутки эксперимента наблюдалось улучшение состояния микроциркуляции, о чем свидетельствовало достоверное повышение показателя перфузии на 44% по сравнению с его величиной у животных в соответствующей группе сравнения. Показатель перфузии у животных данной группы не отличался от значений, наблюдаемых в контрольной группе (рис.).

Показано, что у животных с экспериментальным диабетом к 42-м суткам после введения аллоксана наблюдалось статистически значимое снижение перфузии кожи тыльной поверхности стопы по сравнению с животными в контрольной группе, что свидетельствует о редукции микрокровотока. У животных, которым на фоне аллоксанового диабета выполнялась АТПКЛ, на 42-е сутки эксперимента наблюдалось статистически значимое увеличение данного показателя относительно группы животных с нарушенным углеводным обменом на 43%, что свидетельствовало об улучшении состояния микроциркуляции. При сравнении двух опытных групп установлено, что уровень перфузии статистически выше у животных, которым выполнялась АТПКЛ на фоне системных нарушений микрокровотока (рис.).

При исследовании роли изменений симпатической регуляции сосудистого тонуса в реализации дистантного стимулирующего эффекта АТПКЛ установлено, что у крыс, которым выполнялась нейрорафия, на 42-е сутки после оперативного вмешательства наблюдается статистически значимое увеличение содержание катехоламинов в крови относительно контроля. У животных данной группы обнаружено, что под действием АТПКЛ происходит снижение количества катехоламинов примерно в 1,5 раза относительно группы животных, которым АТПКЛ на фоне нейрорафии не проводилась (табл. 1).

Вместе с тем у животных с системными нарушениями микроциркуляции, индуцированными

аллоксановым диабетом, к 42-м суткам также наблюдается значительное повышение содержания катехоламинов в крови. АТПКЛ у крыс с аллоксановым диабетом почти вдвое снижает уровень катехоламинов в крови относительно соответствующей группы сравнения. Следовательно, АТПКЛ лимитирует активность симпатической нервной системы более выраженно при системных микроциркуляторных нарушениях, возникающих на фоне нарушенного углеводного обмена (табл. 1).

При исследовании уровня гистамина выявлено, что перерезка и нейрорафия не вызывает его значи-

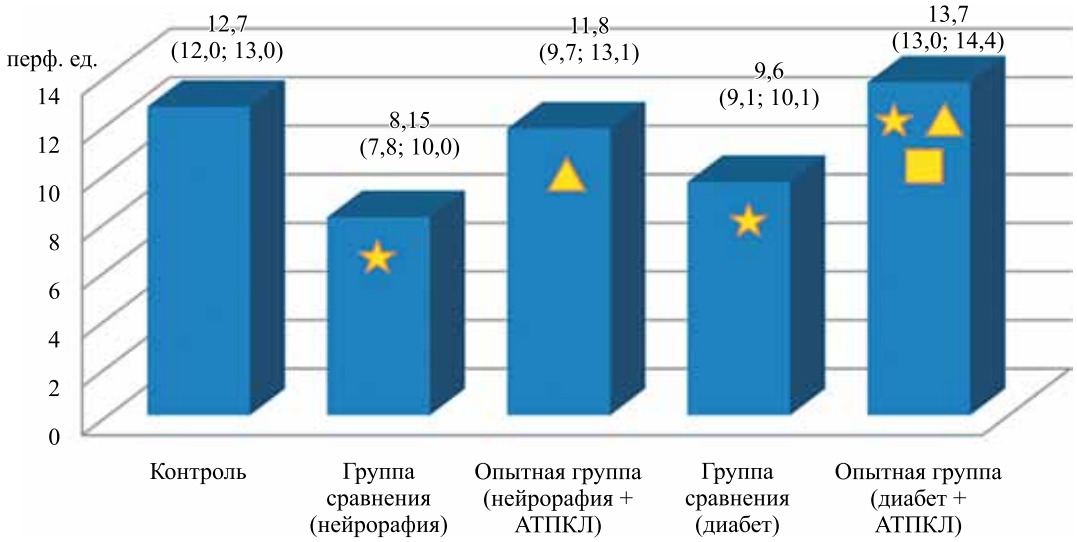

Рис. Изменение перфузионного показателя кожи тыльной поверхности стопы при АТПКЛ на фоне повреждения седалищного нерва и аллоксанового диабета. Статистически значимые различия ($p < 0,05$) обозначены: звездой – по сравнению с контролем, треугольником – относительно соответствующей группы сравнения и квадратом – при сравнении опытных групп между собой

Fig. Changes in the perfusion index of the dorsal skin of the rear paw with FTSG autotransplantation in sciatic nerve injury and alloxan-induced diabetes. Statistically significant differences ($p < 0.05$) are indicated by: a star (relative to the control), a triangle (relative to the corresponding comparison group), and a square (when the experimental groups are compared to each other)

Таблица 1

Изменение содержания вазоактивных веществ в крови после АТПКЛ у животных с повреждением седалищного нерва и аллоксановым диабетом

Changes in the serum concentrations of vasoactive substances after FTSG autotransplantation in rats with sciatic nerve injury and alloxan-induced diabetes

Группа / Показатель	Контроль	Группа сравнения (нейрорафия)	Опытная группа (нейрорафия + АТПКЛ)	Группа сравнения (диабет)	Опытная группа (диабет + АТПКЛ)
Концентрация КА в крови, у. е.	22 (16; 25)	105 (95; 110) $p_1 = 0,000161$	65 (60; 70) $p_1 = 0,000176$ $p_2 = 0,021572$	56 (49; 60) $p_1 = 0,000001$	30 (26; 33) $p_1 = 0,001236$ $p_2 = 0,000001$ $p_3 = 0,000003$
Гистамин, мг/л	1,7 (0,6; 2,1)	1,34 (1,19; 2,1) $p_1 = 0,885234$	3,16 (2,59; 3,69) $p_1 = 0,000939$ $p_2 = 0,001764$	1,1 (0,6; 2,2) $p_1 = 0,732678$	2,8 (2,2; 3,2) $p_1 = 0,025348$ $p_2 = 0,021828$ $p_3 = 0,023271$
VEGF, пг/мл	9,4 (7,3; 15,7)	8,6 (4,65; 9,96) $p_1 = 0,222082$	16,97 (9,96; 28,5) $p_1 = 0,004041$ $p_2 = 0,045501$	85,2 (79,6; 97,5) $p_1 = 0,000453$	83,3 (78,9; 86,3) $p_1 = 0,001033$ $p_2 = 0,286423$ $p_3 = 0,001033$

Примечание. p_1 – значимость различий относительно контроля; p_2 – значимость различий относительно группы сравнения; p_3 – значимость различий при сравнении опытных групп между собой.

Note. p_1 – significance of differences relative to the control; p_2 – significance of differences relative to the comparison group; p_3 – significance of differences when the two experimental groups are compared to each other.

мых изменений относительно контроля. Вместе с тем у животных опытной группы, которым выполнялась АТПКЛ, концентрация гистамина в плазме на 42-е сутки эксперимента превышает как контрольные значения, так и значения соответствующей группы сравнения. Установлено, что АТПКЛ, выполненная на фоне нарушенного углеводного обмена, увеличивает концентрацию гистамина в плазме на 42-е сутки эксперимента, которая превышает как контрольные значения, так и значения группы сравнения в среднем в 2,5 раза (табл. 1). При этом концентрация гистамина в плазме крови у животных, которым проводилась АТПКЛ на фоне аллоксанового диабета, значимо ниже, чем у крыс с АТПКЛ, выполненной на фоне повреждения и нейрорафии седалищного нерва.

Установлено, что АТПКЛ, выполненная одновременно с нейрорафией поврежденного седалищного нерва, вызывает увеличение концентрации VEGF в сыворотке на 42-е сутки эксперимента, которая превышает контрольные значения в 1,8 раза (табл. 1). Выявлено, что введение аллоксана вызывает у крыс значимое увеличение концентрации в крови VEGF. При этом у животных, которым выполнялась АТПКЛ, также наблюдалась повышенная концентрация VEGF относительно контрольных значений, которая не имела значимых различий с таковой у крыс соответствующей группы сравнения (табл. 1).

При микроскопии препаратов тканей области аутотрансплантации обнаружено истончение кожного лоскута, сопровождающееся деградацией эпидермиса. Вместе с тем отмечается изменение состава клеточных популяций дермы аутотрансплантата, проявляющееся увеличением числа фибробластов, лимфоцитов и макрофагов. Отличительной особенностью препаратов данной группы является увеличенное количество эозинофилов в среднем до 6 клеток в поле зрения (табл. 2).

В ходе морфологического анализа препаратов у животных с аллоксановым диабетом было обнаружено, что к 42-м суткам эксперимента наблюдалось истончение аутотрансплантата. У 20% крыс данной группы в нем отсутствовал эпидермис. Толщина гиподермы резко сокращалась у всех животных. В дерме и гиподерме наблюдались полнокровные артериальные и венозные сосуды. В составе дермы присутствовали дегенерирующие волосяные фолликулы. Дерма аутотрансплантата содержала большое количество фибробластов, была умеренно инфильтрирована лейкоцитами. В составе лейкоцитарной инфильтрации доминировали лимфоциты и клетки макрофагального ряда. У животных на фоне нарушенного углеводного обмена присутствовали единичные эозинофилы в дерме аутотрансплантата, но

Таблица 2

Динамика клеточных популяций дермы аутотрансплантата у животных с повреждением седалищного нерва и аллоксановым диабетом

Dynamics of cell populations of the autograft dermis in sciatic nerve injury and alloxan-induced diabetes

Группа / Показатель	Контроль	Группа сравнения (нейрорафия + АТПКЛ)	Опытная группа (аллоксановый диабет + АТПКЛ)
Фибробласты	42 (27; 52)	104 (60; 182) $p_1 = 0{,}000077$	119 (97; 165) $p_1 = 0{,}000028$ $p_2 = 0{,}394742$
Фиброциты	18 (13; 23)	21 (14; 32) $p_1 = 0{,}558185$	27 (21; 44) $p_1 = 0{,}034962$ $p_2 = 0{,}183147$
Нейтрофилы	0 (0; 0)	1 (0; 4) $p_1 = 0{,}005414$	0 (0; 1) $p_1 = 0{,}291698$ $p_2 = 0{,}044686$
Эозинофилы	0 (0; 0)	3 (2; 8) $p_1 = 0{,}000016$	1 (0; 2) $p_1 = 0{,}010519$ $p_2 = 0{,}000292$
Лимфоциты	0 (0; 2)	13 (5; 19) $p_1 = 0{,}000034$	20 (14; 27) $p_1 = 0{,}000017$ $p_2 = 0{,}077135$
Моноциты / гистиоциты / макрофаги	0 (0; 0)	1 (1; 3) $p_1 = 0{,}001393$	2 (0; 3) $p_1 = 0{,}047679$ $p_2 = 0{,}394742$

Примечание. p_1 – значимость различий относительно контроля; p_2 – значимость различий относительно группы сравнения.

Note. p_1 – significance of differences relative to the control; p_2 – significance of differences relative to the comparison group

их количество было значимо меньше, чем у крыс с повреждением седалищного нерва (табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Механизм развития локальных микроциркуляторных нарушений при повреждении седалищного нерва обусловлен, с одной стороны, денервационной гиперчувствительностью сосудов прекапиллярного звена микроциркуляторного русла, характеризующейся повышением экспрессии альфа-1-адренорецепторов на мембране гладкомышечных клеток и их чувствительности к катехоламинам [15]. С другой стороны, травматическое повреждение нервного ствола сопровождается активацией симпатической нервной системы, и как свидетельствуют полученные данные, повышением содержания катехоламинов в крови. В совокупности эти два фактора приводят к повышению тонуса гладкомышечных клеток сосудов прекапиллярного звена и вазококонстрикции мелких артерий и артериол, что проявляется уменьшением перфузии кожи тыльной поверхности стопы оперированной конечности. Недавние исследования свидетельствуют, что у мышей введение аллоксана также сопровождается повышением экспрессии альфа-1-адренорецепторов в гладкомышечных клетках сосудов кожи в период 2–4 недель развития аллоксанового диабета. С помощью лазерной спекл-контрастной визуализации было показано, что у этих животных норадреналин вызывает редукцию артериального и венозного кровотока кожи спины без последующего восстановления, что отражает стойкую вазоспастическую реакцию, обусловленную гиперчувствительностью сосудов к катехоламинам [18]. Полученные в ходе настоящего исследования результаты свидетельствуют, что у крыс при аллоксановом диабете повышается уровень циркулирующих катехоламинов. Повышение содержания катехоламинов в крови при аллоксановом диабете может быть связано с влиянием гипергликемии на активность ферментов, обеспечивающих синтез и разрушение этих биогенных аминов. Так, в условиях эксперимента было показано, что гипергликемия у мышей с диабетом повышает в мезангиальных клетках почек экспрессию тирозингидроксилазы, сопровождающуюся повышенным потреблением тетрагидробиоптерина и увеличением продукции катехоламинов. При этом наблюдалось снижение активности моноаминоксидазы, что препятствовало разрушению катехоламинов [19]. Следовательно, развивающиеся при диабете микроциркуляторные нарушения, так же, как и при травме нерва, обусловлены, с одной стороны, повышением уровня циркулирующих катехоламинов, с другой – увеличением экспрессии альфа-1-адренорецепторов на мембране гладкомышечных клеток, обусловливающих развитие гиперчувствительности сосудов к действию циркулирующих катехоламинов. То есть наблюдаемые микроциркуляторные нарушения у крыс с травматическим повреждением седалищного нерва и животных с аллоксановым диабетом не только аналогичны, но и имеют гомологичные механизмы развития. Однако в случае травмы нерва нарушения микроциркуляции носят преимущественно локальный характер, а при аллоксановом диабете – системный.

АТПКЛ в межлопаточной области на фоне как повреждения нерва, так и при аллоксановом диабете оказывает дистантное стимулирующее действие на микроциркуляцию кожи тыльной поверхности стопы у белых крыс. Перфузионный показатель кожи поверхности стопы у экспериментальных животных опытных групп увеличивался в среднем на 43–44% относительно соответствующих групп сравнения, что свидетельствует об одинаковой степени выраженности дистантного стимулирующего действия АТПКЛ как при локальных, так и при системных нарушениях микроциркуляции. Ранее проведенные исследования свидетельствуют, что реализация дистантного стимулирующего эффекта АТПКЛ на микроциркуляцию у интактных крыс в условиях повреждения седалищного нерва и при нарушениях углеводного обмена сопряжена со снижением нейрогенного тонуса сосудов [14, 17]. Представленная в настоящей работе динамика содержания катехоламинов в крови согласуется с ранее полученными данными и свидетельствует, что АТПКЛ в межлопаточной области на фоне локальных и системных нарушений микрокровотока ограничивает активность симпатоадреналовой системы. Ограничение влияния симпатической системы на сосуды микроциркуляторного русла под влиянием аутотрансплантации может объяснять поддержание адекватной перфузии в дистальной конечности у крыс опытных групп. Механизм ограничения активности симпатоадреналовой системы под влиянием АТПКЛ может быть обусловлен обнаруженными дегенеративными изменениями кожного лоскута, которые могут сопровождаться образованием пептидных фрагментов, выполняющих функцию цитомединов. Цитомедины в качестве пептидных регуляторов способны оказывать дистантные эффекты, в том числе и на функционирование нервной системы [20]. Аналогичный механизм ограничения эффектов симпатической нервной системы на сосудистое русло был описан для пептидного препарата «СЕМАКС», действие которого характеризовалось уменьшением экспрессии альфа-адренорецепторов в условиях эксперимента на белых крысах [21]. Полученные при выполнении настоящей работы данные свидетельствуют, что ограничение влияния симпатической нервной системы на микроциркуляцию при АТПКЛ более выражено при системных микроциркуляторных нарушениях, обусловленных абсолютной инсулиновой недостаточностью.

Ранее было отмечено, что АТПКЛ, выполненная на фоне нейрорафии седалищного нерва, оказывает эффект не только на содержание циркулирующих катехоламинов, но и других биогенных аминов, в том числе обладающих вазодилатационной активностью, в частности, повышает концентрацию гистамина в плазме крови [13]. Результаты настоящей работы демонстрируют, что АТПКЛ оказывает аналогичное действие на плазменную концентрацию гистамина и после введения аллоксана. Вместе с тем среднее значение концентрации гистамина в группе животных, которым АТПКЛ выполнялась после введения аллоксана, на 12% ниже значений опытной группы, крысам которой аутотрансплантация проводилась на фоне повреждения седалищного нерва.

Одним из возможных механизмов реализации дистантного стимулирующего эффекта АТПКЛ на микроциркуляцию в условиях нормального углеводного обмена при нарушенной иннервации конечности является способность пролонгировать продукцию ростовых факторов, в частности VEGF и нейротрофина 3 [13, 22]. Источниками ростовых факторов могут выступать фибробласты [23] и клетки лейкоцитарной инфильтрации аутотрансплантата, в частности эозинофилы [24], тучные клетки [25], макрофаги [26] выделяют VEGF, стимулирующий ангиогенез, вызывающий дилатацию сосудов и повышение их проницаемости. Однако в ходе данного исследования обнаружено, что АТПКЛ не реализует данный механизм действия в условиях аллоксанового диабета у крыс. У животных опытной группы концентрация данного фактора в сыворотке крови значимо превышает контрольные значения, но не имеет отличий от сравнительной группы крыс с аллоксановым диабетом. При системных нарушениях микроциркуляции, вызванных экспериментальным диабетом, высокий уровень VEGF в крови связан с системной альтерацией эндотелия гипергликемией, что является компенсаторным механизмом восстановления сосудистой стенки [27]. В этой связи, вероятно, исходно высокий уровень VEGF у крыс с аллоксановым диабетом блокирует его продукцию клетками аутотрансплантата по механизму отрицательной обратной связи.

Описанные выше биохимические механизмы реализации дистантного стимулирующего действия АТПКЛ на микроциркуляцию тесно взаимосвязаны с гистоморфологической перестройкой аутотрансплантата. Гистоморфологические изменения аутотрансплантата стереотипны и включают деградацию эпидермиса, истончение дермы и гиподермы, слабо выраженную лейкоцитарную инфильтрацию. Незначительные различия между опытными группами заключаются в количестве эозинофилов в составе клеточных популяций дермы аутотрансплантата. Их присутствие в тканях аутотрансплантата связано с выделением гистамина тучными клетками, который участвует в реализации дистантного вазодилатирующего эффекта [28]. У животных на фоне нарушенного углеводного обмена наблюдалось меньшее количество эозинофилов в зоне аутотрансплантата по сравнению с животными с нейрорафией. Данные результаты гистологического исследования согласуются с биохимическими данными, отражающими менее выраженное увеличение концентрации гистамина в крови под влияниями АТПКЛ у животных с аллоксановым диабетом. Авторами в работе [29] было показано, что аллоксан у крыс значительно снижает содержание тучных клеток в коже. Учитывая менее выраженное увеличение уровня гистамина в плазме при АТПКЛ в условиях нарушений углеводного обмена, можно предположить, что малое число эозинофилов в составе аутотрансплантата у крыс с аллоксановым диабетом обусловлено снижением интенсивности дегрануляции тучных клеток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

АТПКЛ оказывает дистантное стимулирующее действие на микроциркуляцию, которое проявляется в одинаковом объеме в условиях как локальных, так и системных нарушений микрокровотока, и не имеет явной зависимости от этиологического фактора, их индуцирующего. Полученные данные сравнительного анализа эффектов АТПКЛ на двух моделях сосудистой альтерации у белых крыс свидетельствуют, что локальные структурно-функциональные изменения аутотрансплантата стереотипны, следовательно, могут считаться триггерными, а биохимические сдвиги концентраций регуляторных веществ имеют неодинаковую степень выраженности в зависимости от этиологии и распространенности нарушений микрокровотока. Различия концентраций биологически активных веществ в кровотоке позволяют выделить в комплексе регуляторных механизмов АТПКЛ универсальные и вариабельные реакции. К универсальным реакциям следует отнести изменение баланса биогенных аминов в крови, в частности изменение концентрации катехоламинов и гистамина. Следует также отметить, что коррекция вазоконстрикторной активности с помощью АТПКЛ более выражена при системных нарушениях микроциркуляции, индуцированных аллоксановым диабетом. В противоположность этому реализация влияния АТПКЛ на продукцию вазодилататорных веществ, в частности гистамина, более выражена при локальных нарушениях микрокровотока в денервированной конечности. Вариабельные реакции зависят от этиологии моделируемых микроциркуляторных нарушений, в частности, для микроциркуляторных эффектов АТПКЛ при денервации конечности специфическими являются изменения продукции ростовых факторов, включая VEGF.

Таким образом, взаимосвязи структурно-функциональных изменений тканей в области аутотрансплантации и циркулирующих в системном кровотоке факторов регуляции микроциркуляции обусловливают компенсаторное изменение баланса регуляторных механизмов, что обеспечивает стабильную реализацию дистантного стимулирующего влияния АТПКЛ на микрокровоток, вне зависимости от распространенности и этиологии его поражения.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Миронов СП, Крупаткин АИ, Голубев ВГ, Панов ДЕ.* Диагностика и выбор тактики лечения при повреждениях периферических нервов. *Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова*. 2005; 2: 33–39. *Mironov SP, Krupatkin AI, Golubev VG, Panov DE.* Diagnostika i vybor taktiki lecheniya pri povrezhdeniyah periphericheskih nervov. *Vestnik travmatologii i ortopedii im. N.N. Priorova*. 2005; 2: 33–39.
2. *Щаницын ИН, Иванов АН, Бажанов СП, Нинель ВГ, Пучиньян ДМ, Норкин ИА*. Стимуляция регенерации периферического нерва: современное состояние, проблемы и перспективы. *Успехи физиологических наук.* 2017; 48 (3): 92–112. *Shchanicyn IN, Ivanov AN, Bazhanov SP, Ninel' VG, Puchin'yan DM, Norkin IA.* Stimulyaciya regeneracii periphericheskogo nerva: sovremennoe sostoyanie, problem i perspektivy. *Uspekhi fiziologicheskih nauk*. 2017; 48 (3): 92–112.
3. *Inanc M, Tekin K, Kiziltoprak H, Ozalkak S, Doguizi S, Aycan Z.* Changes in Retinal Microcirculation Precede the Clinical Onset of Diabetic Retinopathy in Children With Type 1 Diabetes Mellitus. *J Ophthalmol*. 2019; 207: 37–44. doi: 10.1016/j.ajo.2019.04.011.
4. *Стаценко МЕ, Туркина СВ, Шилина НН, Косивцова МА, Лопушкова ЮЕ, Винникова АА и др.* Особенности состояния микроциркуляции у больных хронической сердечной недостаточностью и сахарным диабетом второго типа. *Волгоградский научно-медицинский журнал.* 2015; 1 (45): 35–39. *Stacenko ME, Turkina SV, Shilina NN, Kosivcova MA, LopushkovaYuE, Vinnikova AA i dr.* Osobennosti sostoyaniya mikrocirkulyacii u bol'nyh hronicheskoj serdechnoj nedostatochnost'yu i saharnym diabetom vtorogo tipa. *Volgogradskij nauchno-medicinskij zhurnal.* 2015; 1 (45): 35–39.
5. *Kuo L, Hein TW.* Vasomotor regulation of coronary microcirculation by oxidative stress: role of arginase. *Front Immunol.* 2013; 19 (4): 237.
6. *Михайлусов РН.* Факторы роста – перспективные технологии воздействия на раневой процесс. Харківська хірургічна школа. 2014; 5 (68): 90–98. *Mihajlusov RN.* Faktory rosta – perspektivnye tekhnologii vozdejstviya na ranevoj process. *Harkivs'ka hirurgichna shkola*. 2014; 5 (68): 90–98.
7. *Громова ОА, Торшин ИЮ, Волков АЮ.* Элементный состав препарата Лаеннек и его ключевая роль в фармакологическом воздействии препарата. *Пластическая хирургия и косметология.* 2010; 4: 1–7. *Gromova OA, Torshin IYu, Volkov AYu*. Elementnyj sostav preparata Laennek i ego klyuchevaya rol' v farmakologicheskom vozdejstvii preparata. *Plasticheskaya hirurgiya i kosmetologiya*. 2010; 4: 1–7.
8. *Öhnstedt E, Lofton Tomenius H, Vågesjö E, Phillipson M.* The discovery and development of topical medicines for wound healing. *Expert Opinionon Drug Discovery*. 2019; 14: 485–497. doi: 10.1080/17460441.2019.1588879/.
9. *Ноздрин ВИ, Белоусова ТА, Альбанова ВИ, Лаврик ОИ*. Гистофармакологические исследования кожи (наш опыт). М., 2006. 376. *Nozdrin VI, Belousova TA, Al'banova VI, Lavrik OI.* Gistofarmakologicheskie issledovaniya kozhi (nash opyt). M., 2006. 376.
10. *Hocking SL, Stewart RL, Brandon AE*. Subcutaneous fat transplantation alleviates diet-induced glucose intolerance and inflammation in mice. *Diabetologia.* 2015; 58 (7): 1587–600.
11. *Foster MT, Shi H, Softic S et al.* Transplantation of non-visceral fat to the visceral cavity improves glucose tolerance in mice: investigation of hepatic lipids and insulin sensitivity. *Diabetologia*. 2011; 54 (11): 2890–2899.
12. *Храмцова ЮС, Арташян ОС, Юшков БГ, Волкова ЮЛ, Незговорова НЮ*. Влияние тучных клеток на репаративную регенерацию тканей с разной степенью иммунологической привилегированности. *Цитология.* 2016; 58 (5): 356–363. *Hramcova YuS, Artashyan OS, Yushkov BG, Volkova YuL, Nezgovorova NYu.* Vliyanie tuchnyh kletok na reparativnuyu regeneraciyu tkanej s raznoj stepen'yu immunologicheskoj privilegirovannosti. *Citologiya*. 2016; 58 (5): 356–363.
13. *Иванов АН, Лагутина ДД, Гладкова ЕВ, Матвеева ОВ, Мамонова ИА, Шутров ИЕ и др*. Механизмы дистантного стимулирующего действия аутотрансплантации кожного лоскута при повреждении периферического нерва. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2018; 11: 1313–1324. *Ivanov AN, Lagutina DD, Gladkova EV, Matveeva OV, Mamonova IA, Shutrov IE i dr.* Mekhanizmy distantnogo stimuliruyushchego dejstviya autotransplantacii kozhnogo loskuta pri povrezhdenii periphericheskogo nerva. *Rossijskij fiziologicheskij zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2018; 11: 1313–1324.
14. *Иванов АН, Попыхова ЭБ, Степанова ТВ, Пронина ЕА, Лагутина ДД*. Изменение показателей микроциркуляции при аутотрансплантации полнослойного кожного лоскута на фоне экспериментального сахарного диабета у крыс. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2019; 4: 72–80. *Ivanov AN, Popyhova EB, Stepanova TV, Pronina EA, Lagutina DD*. Izmenenie pokazatelej mikrocirkulyacii pri autotransplantacii polnoslojnogo kozhnogo loskuta na fone eksperimental'nogo saharnogo diabeta u krys. *Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrocirkulyaciya.* 2019; 4: 72–80.
15. *Иванов АН, Норкин ИА, Нинель ВГ, Щаницын ИН, Шутров ИЕ, Пучиньян ДМ.* Особенности измене-

ний микроциркуляции при регенерации седалищного нерва в условиях эксперимента. *Фундаментальные исследования.* 2014; 4 (2): 281–285. *Ivanov AN, Norkin IA, Ninel' VG, Shchanicyn IN, Shutrov IE, Puchin'yan DM.* Osobennosti izmenenij mikrocirkulyacii pri regeneracii sedalishchnogo nerva v usloviyah eksperimenta. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2014; 4 (2): 281–285.

16. *Джафарова РЭ.* Сравнительное исследование различных моделей аллоксан-индуцированного сахарного диабета. *Казанский медицинский журнал.* 2013; 94 (6): 915–919. *Dzhafarova RE*. Sravnitel'noe issledovanie razlichnyh modelej alloksan-inducirovannogo saharnogo diabeta. *Kazanskij medicinskij zhurnal*. 2013; 94 (6): 915–919.
17. *Иванов АН, Шутров ИЕ, Норкин ИА.* Аутотрансплантация полнослойного кожного лоскута как способ биостимуляции микроциркуляции в условиях нормальной и нарушенной иннервации. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2015; 3 (55): 59–65. *Ivanov AN, Shutrov IE, Norkin IA*. Autotransplantaciya polnoslojnogo kozhnogo loskuta kak sposob biostimulyacii mikrocirkulyacii v usloviyah normal'noj i narushennoj innervacii. *Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrocirkulyaciya.* 2015; 3 (55): 59–65.
18. *Feng W, Shi R, Zhang C, Liu S, Yu T, Zhu D*. Visualization of skin microvascular dysfunction of type 1 diabetic mice using *in vivo* skin optical clearing method. *J Biomed Opt*. 2018; 24 (3): 1–9.
19. *Marco GS, Colucci JA, Fernandes FB, Vio CP, Schor N, Casarini DE*. Diabetes induces changes of catecholamines in primary mesangial cells. *Int J Biochem Cell Biol.* 2008; 40 (4): 747–754.
20. *Анохова ЛИ, Патеюк АВ, Кузник БИ, Кохан СТ.* Сравнительное влияние полипептидов эндометрия и тималина на некоторые показатели иммунитета и гемостаза в опытах *in vitro* и *in vivo*. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН.* 2011; 6: 156–159. *Anohova LI, Pateyuk AV, Kuznik BI, Kohan ST*. Sravnitel'noe vliyanie polipeptidov endometriya i timalina na nekotorye pokazateli immuniteta i gemostaza v opytah *in vitro* i *in vivo*. *Byulleten' VSNC SO RAMN*. 2011; 6: 156–159.
21. *Горбачева АМ, Бердалин АБ, Стулова АН, Никогосова АД, Лин МД, Буравков СВ и др.* Изменение симпатической иннервации хвостовой артерии крысы при экспериментальном инфаркте миокарда; влияние пептида «СЕМАКС». *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2016; 4: 462–467. *Gorbacheva AM, Berdalin AB, Stulova AN, Nikogosova AD, Lin MD, Buravkov SV i dr.* Izmenenie simpaticheskoj innervacii hvostovoj arterii krysy pri eksperimental'nom infarkte miokarda; vliyanie peptida «SEMAKS». *Byulleten' eksperimental'noj biologii i mediciny*. 2016; 4: 462–467.
22. *Иванов АН, Шутров ИЕ, Нинель ВГ, Коршунова ГА, Гладкова ЕВ, Матвеева ОВ и др.* Влияние аутотрансплантации кожного лоскута и прямой электростимуляции седалищного нерва на регенерацию нервных волокон. *Цитология*. 2017; 7: 489–497. *Ivanov AN, Shutrov IE, Ninel' VG, Korshunova GA, Gladkova EV, Matveeva OV i dr.* Vliyanie autotransplantacii kozhnogo loskuta i pryamoj elektrostimulyacii sedalishchnogo nerva na regeneraciyu nervnyh volokon. *Citologiya.* 2017; 7: 489–497.
23. *Chakroborty D, Sarkar Ch, Lu K, Bhat M*. Activation of dopamine d1 receptors in dermal fibroblasts restores vascular endothelial growth factor-a production by these cells and subsequent angiogenesis in diabetic cutaneous wound tissues. *Am J Pathol*. 2016; 186 (9): 2262–2270. doi: 10.1016/j.ajpath.2016.05.008.
24. *Panagopoulos V, Zinonos I, Leach D, Evdokiou A*. Human peripheral blood eosinophils induce angiogenesis. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2005; 37 (3): 628–636. doi: 10.1016/j.biocel.2004.09.001.
25. *Lee AJ, Ro MJ, Park JI, Jang JH, Kim JH*. The synthesis of VEGF in allergen-stimulated mast cells is through a leukotriene B4 receptor-2-dependent signaling pathway. *J Immunol*. 2016; 1: 196.
26. *Монастырская ЕА, Лямина СВ, Малышев ИЮ*. М1 и М2 фенотипы активированных макрофагов и их роль в иммунном ответе и патологии. *Патогенез*. 2008; 4: 31–39. *Monastyrskaya EA, Lyamina SV, Malyshev IYu.* M1 i M2 fenotipy aktivirovannyh makrofagov i ih rol' v immunnom otvete i patologii. *Patogenez*. 2008; 4: 31–39.
27. *Искакова СС, Жармаханова ГМ, Дворацка М.* Место ангиогенеза в развитии сахарного диабета и его осложнений (обзор литературы). *Вестник КазНМУ.* 2014; 2 (2): 303–307. *Iskakova SS, Zharmahanova GM, Dvoracka M.* Mesto angiogeneza v razvitii saharnogo diabeta i ego oslozhnenij (obzor literatury). *Vestnik KazNMU*. 2014; 2 (2): 303–307.
28. *Swartzendruber JA, Byrne AJ, Bryce PJ.* Cutting edge: histamine is required for IL-4-driven eosinophilic allergic responses. *J Immunol*. 2012; 188 (2): 536–540.
29. *De F Carvalho V, Campos LV, Farias-Filho FA, Florim LT, Barreto EO, Pirmez C et al.* Suppression of allergic inflammatory response in the skin of alloxan-diabetic rats: relationship with reduced local mast cell numbers. *Int Arch Allergy Immunol.* 2008; 147 (3): 246–254.

Статья поступила в редакцию 6.03.2020 г.
The article was submitted to the journal on 6.03.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-4-133-139

АУТОЛОГИЧНЫЕ СТИМУЛЯТОРЫ РЕГЕНЕРАЦИИ ПРИ ИМПЛАНТАЦИИ АЛЛОГЕННЫХ КОСТНОПЛАСТИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

К.А. Воробьев[1], Т.О. Скипенко[1], Н.В. Загородний[1], Д.В. Смоленцев[1], А.Р. Закирова[1], В.И. Севастьянов[2]

[1] ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени Н.Н. Приорова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация
[2] ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

В настоящее время существует множество разных методов хирургического восстановления костной ткани, но все большее развитие получают способы биологической реконструкции, основной целью которых является не только восполнение дефекта, но стимуляция процессов регенерации и восстановления кости как органа. В данной публикации авторы описывают базовые принципы ортобиологии и основные ортобиологические материалы. Приведен клинический случай, где применена комбинация аллогенных костнопластических материалов с аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмой для реконструкции полостного дефекта большеберцовой кости.

Ключевые слова: ортобиология, регенерация кости, костный дефект, костный трансплантат, аллогенный костнопластический материал, аспират костного мозга, обогащенная тромбоцитами плазма.

AUTOLOGOUS REGENERATIVE STIMULANTS FOR BONE ALLOGRAFT IMPLANTATION

K.A. Vorobyov[1], T.O. Skipenko[1], N.V. Zagorodniy[1], D.V. Smolentsev[1], A.R. Zakirova[1], V.I. Sevastianov[2]

[1] Priorov National Medical Research Center for Traumatology and Orthopedics, Moscow, Russian Federation
[2] Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation

There are many different surgical techniques for bone reconstruction. However, biological reconstruction methods are being increasingly developed. The main purpose is not only to fill up defects, but to stimulate the processes of reconstruction and regeneration of bone as a complete organ. In this report, we describe the basic principles of orthobiology and the essential orthobiological materials. A clinical case is presented where a combination of allogeneic osteoplastic materials with autologous platelet-rich plasma is used to reconstruct a cavity defect in the tibia.

Keywords: orthobiology, bone regeneration, bone defect, bone graft, allogeneic bone graft material, bone marrow aspirate, platelet-rich plasma.

ВВЕДЕНИЕ

Ортобиология – это концептуальное понятие, которое включает в себя группу биологических материалов и субстратов, способствующих костной регенерации, таких как костные трансплантаты, костнопластические материалы, факторы роста, белки-регуляторы, клеточные биомедицинские продукты [1–2]. Роль ортобиологии в заживлении кости заключается в остеокондукции, остеоиндукции и остеогенезе, которые являются частью концепции

Для корреспонденции: Воробьев Константин Александрович. Адрес: 127299, Москва, ул. Приорова, д. 10. Тел. (905) 222-10-00. E-mail: vorobyov_doc@mail.ru

Corresponding author: Konstantin Vorobyov. Adress: 10, Priorova str., Moscow, 127299, Russian Federation. Phone: (905) 222-10-00. E-mail: vorobyov_doc@mail.ru

восстановления кости («diamond concept»), предложенной Giannoudis с соавторами [3], в которой автор выделил четыре основных условия, необходимых для успешного заживления кости: клетки с остеогенным потенциалом, остеокондуктивная матрица, остеоиндуктивный стимул, механическая стабильность.

Трансплантация кости

Трансплантация кости в классическом представлении возможна только при условии сохранения костной ткани в нативном виде и применима только для двух типов материалов – аутологичная кость и аллотрансплантат. Аутотрансплантаты обладают тремя функциональными свойствами (остеокондуктивность, остеоиндуктивность и остеогенность) и демонстрируют наиболее высокие способности к остеоинтеграции и ремоделированию, поэтому по праву считаются «золотым стандартом» для костной пластики. Однако их применение ограничено ввиду возможности использования в малом объеме и необходимости формирования дополнительного доступа для забора донорского фрагмента [4]. Губчатые костные аутотрансплантаты благодаря небольшому количеству остеобластов и остеоцитов и значительному содержанию мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) создают остеогенный потенциал к неоостеогенезу из трансплантата, а содержащиеся в аутотрансплантате белки позволяют сохранять естественный остеоиндуктивный потенциал [2]. В ранней фазе после аутотрансплантации, на стадии гематомы и воспаления, содержащиеся ММСК позволяют быстро сформировать грануляционную ткань, некротические ткани удаляются макрофагами, и происходит неоваскуляризация трансплантата [3].

Аллогенные костные материалы

В отличие от аутотрансплантатов аллотрансплантаты обладают иммуногенностью и демонстрируют реакцию отторжения, которая вызвана антигенами главного комплекса гистосовместимости (ГКГС) [5]. Начальная фаза остеоинтеграции сопровождается выраженным воспалением вследствие иммунного ответа, вызывая некроз остеопрогениторных клеток [6]. Необходимыми условиями для использования аллотрансплантатов следует считать снижение иммуногенности и проведение исследований совместимости донор/реципиент, по аналогии с трансплантацией органов [7]. Другая проблема – это риск передачи инфекции, которая решена в большинстве стран мира благодаря широкому развитию сети тканевых банков и прогрессивным технологиям обработки [4]. В связи с иммунными реакциями большой популярностью в клинической практике пользуются очищенные децеллюляризованные и делипидизированные костнопластические материалы (ДДКМ) [8]. Очистка костной ткани от клеток и липидов костного мозга до минерально-коллагенового матрикса значительно снижает степень воспалительного ответа при имплантации ДДКМ, но не исключает его. По данным разных литературных источников, вероятность иммунной реакции после имплантации таких материалов составляет около 10% [9]. Деминерализованный костный матрикс (ДМК) – это высокоочищенный, производный аллогенной кости, материал, лишенный (более чем на 40%) минерального компонента при сохранении коллагена и неколлагеновых белков-индукторов [10], определяющих остеоиндуктивность. Обладая пластичностью и высокой степенью биодеградации в сравнении с недеминерализованными костными материалами, процесс остеоинтеграции и ремоделирования имплантированного ДМК происходит интенсивнее [4].

Клинический результат рекоструктивно-восстановительной операции зависит от состояния здоровья пациента, окружающих реципиентное ложе тканей, качества и функциональных характеристик имплантируемых материалов. Для улучшения функциональных свойств костнопластических материалов их применяют в комбинации с аутологичным аспиратом костного мозга и/или аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмой [2, 11, 12]. Использование таких комбинаций – простой, доступный и эффективный способ снизить риск возникновения иммунных реакций после имплантации, повысить остеоиндуктивный потенциал и придать материалам остеогенные свойства.

Аутологичный аспират костного мозга

Аутологичный аспират костного мозга (ААКМ) содержит 2 типа взрослых стоволовых клеток: гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) и ММСК. Основной механизм ААКМ, как стимулятора костной регенерации, реализуется благодаря содержанию ММСК, которые дифференцируются в остеобласты в присутствии специфических факторов роста и цитокинов, а опосредованный механизм действия ААКМ заключается в воздействии цитокинов, производных ММСК, на эндотелиальные клетки, которые способствуют ангиогенезу.

Аутологичная обогащенная тромбоцитами плазма

Применение аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы (АОТП) как биогенного стимулятора регенерации – довольно популярный и широко распространенный метод в ортопедии [12]. Регенеративный потенциал реализуется через каскад реакций и выделение факторов роста, содержащихся в обогащенной тромбоцитами плазме [13]. Кроме это-

Таблица

Сравнительные биологические свойства костных материалов и аутологичных стимуляторов регенерации

Comparative biological properties of bone grafts and autologous regenerative stimulants

Аутологичные и аллогенные ортобиологические материалы				
Тип материала/функциональные свойства	Остеокондукция	Остеоиндукция	Остеогенность	Остеоинтеграция
Аутотрансплантат кортикальный	+	+	+	+
Аутотрансплантат губчатый	+++	+++	+++	+++
Аллоимплантат кортикальный	+	+/–	–	+
Аллоимплантат губчатый	+	+/–	–	++
Деминерализованный костный матрикс	+	++	–	++
Аутологичный аспират костного мозга	–	++	+++	+++[1]
Аутологичная обогащенная тромбоцитами плазма	–	+++	+	++[2]

Примечание. [1] – влияние на процесс остеоинтеграции реализуется благодаря содержанию мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга; [2] – влияние на процесс остеоинтеграции реализуется благодаря содержанию факторов роста.

Note. [1] – effect on the osseointegration process is achieved due to the content of multipotent mesenchymal stromal cells isolated from the bone marrow; [2] – effect on the osseointegration process is achieved due to the content of growth factors.

го, тромбоциты, содержащиеся в плазме, способны выделять более 300 молекул, которые ответственны за сложное межклеточное и внеклеточное взаимодействие [14]. В отличие от мягких тканей регенерация кости – это длительный процесс. В связи с этим исследователи предлагают применение АОТП, активированной тромбином, в виде плотного фибринового сгустка, чтобы создать условия для медленного выхода содержащихся в ней факторов [16].

Основные ортобиологические материалы и их сравнительная характеристика представлены в таблице.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Пациент М., 1979 г. р., И/Б № Н2019-10342, находился на лечении в 12-м отделении ФГБУ «НМИЦ ТО им. Н.Н. Приорова» с 18.12.19 г. по 24.12.19 г. с диагнозом «посттравматическая деформация проксимальной трети правой большеберцовой кости; посттравматический медиальный правосторонний гонартроз II степени; киста верхней трети центрально-медиального отдела правой большеберцовой кости; застарелое повреждение тела и переднего рога внутреннего мениска, частичное повреждение передней крестообразной связки правого коленного сустава; умеренный синовит правого коленного сустава». Больной обратился с жалобами на отек, боль в правом коленном суставе при нагрузке, нарушение функции правой нижней конечности. При осмотре определяется деформация проксимального метаэпифиза правой большеберцовой кости по передней поверхности, варусная деформация голеней. Контуры правого коленного сустава не изменены, отек умеренный. Мышцы правого бедра развиты удовлетворительно. При пальпации внутренняя суставная щель болезненная, положительные симптомы Байкова. Капсульно-связочный аппарат: ПВЯ (–/+), Лахман-тест (–), ЗВЯ (–), Варус-тест (–), Вальгус-тест (–). Движения в суставе в полном объеме, болезненные при сгибании преимущественно по внутренней поверхности. Движения надколенника безболезненные. На момент осмотра сосудистых и неврологических нарушений в конечности не выявлено. Пациенту были выполнены рентген, мультиспиральная компьютерная томография (МРТ), в ходе которых диагностирована киста проксимального метаэпифиза центрально-медиального отдела правой большеберцовой кости (рис. 1).

Выполнена пункционная трепанобиопсия кисты, при цитологическом исследовании атипичных клеток выявлено не было. Учитывая клинико-диагностические данные, было принято решение о хирургической реконструкции патологического очага – комбинированная пластика костного дефекта аллогенными губчатыми имплантатами, импрегнированными аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмой. Для выполнения хирургического пособия были использованы аллогенные губчатые чипсы и блоки «Перфоост», изготовленные в лаборатории «Тканевой банк» НМИЦ ТО им. Н.Н. Приорова (РУ № ФСР 2009/05682 от 17.12.2018), и наборы Regen BCT-SP (R-BCT-SP) и Regen ATS-SP (R-ATS-SP) для приготовления и активации аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы (Реген Лаб СА, Швейцария.

Разрешения этического комитета для проведения оперативного вмешательства не потребовалось, поскольку используемые материалы зарегистрированы в России. Забор крови и приготовление аутологичной

плазмы выполнялся до операции, согласно инструкции производителя.

Ход операции. *Операцию выполняли под спинномозговой анестезией, в положении больного на спине, с периоперативной антибиотикопрофилактикой. Правую нижнюю конечность фиксировали в коленном держателе в области средней трети бедра. После трехкратной обработки операционного поля растворами антисептиков был наложен кровоотдавливающий жгут от нижней трети голени до нижней трети бедра, затем накачан пневматический турникет в области верхней трети бедра. Под контролем электронного оптического преобразователя, ниже и латеральнее от поверхностной гусиной лапки, был выполнен продольный разрез кожи 5 см, мобилизованы кожно-подкожные лоскуты и осуществлен доступ до кости. По спице, введенной в полость кисты центрально-медиального отдела метаэпифиза большеберцовой кости, остеотомом проводили остеотомию, далее сверлом формировали канал. Полость дефекта многократно промывали асептическими растворами, выполнена обработка стенок. Костнопластические материалы были фрагментированы до необходимого размера, далее на них наносилась аутологичная плазма с последующей ее активацией тромбином.*

Полученный комбинированный костнопластический материал помещали в полость дефекта и равномерно распределяли в полости. С целью интраоперационного контроля выполняли снимок электронным оптическим преобразователем.

На следующие сутки после операции выполняли мультисканирующую компьютерную томографию (МСКТ). По визуальным данным, полученным в трех плоскостях – аксиальной, фронтальной, сагитталь-

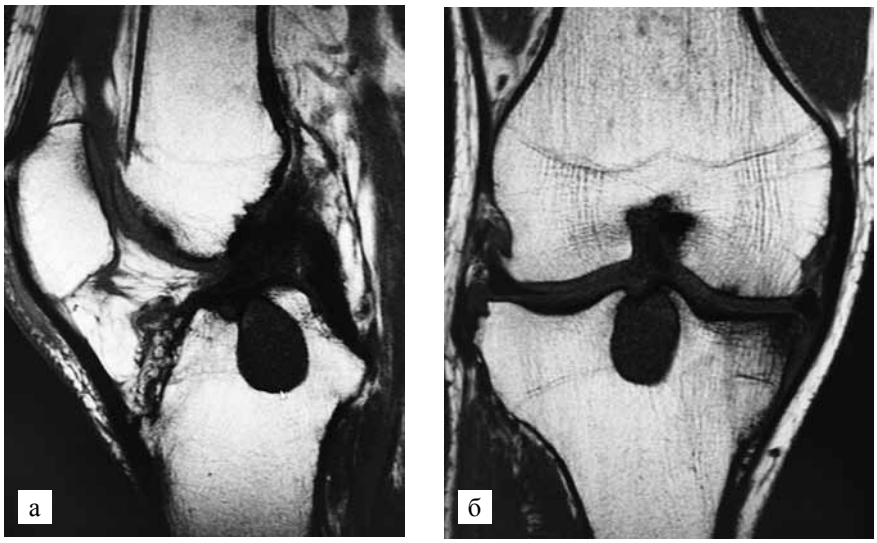

Рис. 1. Магнитно-резонансная томография (МРТ) коленного сустава. Киста большеберцовой кости: а – сагиттальная плоскость; б – фронтальная плоскость

Fig. 1. Magnetic resonance imaging (MRI) of the knee. Tibial cyst: a – sagittal plane; б – frontal plane

Рис. 2. Мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) коленного сустава. Киста большеберцовой кости после пластики: а – аксиальная проекция; б – фронтальная проекция; в – сагиттальная проекция

Fig. 2. Multispiral computed tomography (MSCT) of the knee joint. Tibial cyst after bone grafting: a – axial projection; б – frontal projection; в – sagittal projection

ной (рис. 2), – отмечено равномерное заполнение дефекта костнопластическим материалом.

ОБСУЖДЕНИЕ

Анализируя литературу по данной тематике [1–3, 12, 15, 17], следует отметить тенденцию, что реконструктивно-пластические вмешательства на костных тканях направлены не только на решение проблемы боли, восстановление функции, заполнение дефекта или устранение деформации, но на стимуляцию процессов регенерации. Этим объясняется развитие такого концептуального подхода в ортопедии, как ортобиология, поскольку ортобиологические продукты и их комбинации способны создавать необходимые условия для достижения данной цели.

Трансплантации замороженных массивных костно-хрящевых аллотрансплантатов при опухолях костей были выполнены М.В. Волковым в 1960–70-х годах [18], автором описаны 145 случаев, из которых половина результатов были неудовлетворительными, что можно объяснить недостаточным пониманием в то время механизмов трансплантанционной иммунологии. Одни из первых исследований по гистосовместимости хрящевой ткани были проведены Langer и Gross [19], где было показано, что интактный суставной хрящ не вызывает реакций гуморального иммунитета. Это связано с тем, что антитела не способны проникать через плотный хрящевой матрикс и достигать хондроцитов. Данная особенность хрящевой ткани позволяет осуществлять трансплантацию без необходимых исследований HLA-совместимости [20], делая хрящ «иммуно-привилегированной» тканью. Костная ткань, напротив, достаточно иммуногенна, и ее трансплантация в нативном виде требует проведения необходимых исследований совместимости для снижения рисков отторжения и степени иммунного ответа [20, 21]. Современные возможности лабораторного скрининга и понимание механизмов трансплантационной иммунологии и иммуносупрессии создают необходимые условия для развития трансплантации тканей, что подтверждается данными литературы, например, в работе C. Krettek et al. [17] описаны положительные клинические результаты после пересадки аллогенных костно-хрящевых блоков и массивных трансплантатов. Большой популярностью у многих ортопедов-хирургов в США и странах Европы пользуется применение аллогенных трансплантатов из головок бедренных костей от прижизненных доноров [22, 23]. В России ввиду отсутствия сети региональных тканевых банков трансплантация костной ткани остается труднодоступной хирургической процедурой [24].

Аллогенные костнопластические материалы наиболее популярны и часто используемы в реконструктивной хирургии. Возможность обработки костной ткани до минерально-коллагенового или деминерализованного матрикса позволяет снижать иммуногенность и сводить к минимуму вероятность возникновения осложнений, связанных с этим. В России производство материалов не подчинено единым стандартам, на которых базируются технологии обработки и стерилизации тканей [8, 25]. В результате производимые костнопластические материалы различны по своим свойствам. Это затрудняет повторяемость и прогнозируемость клинических результатов, а иногда приводит к осложнениям после имплантации [9].

Эффективность применения аутологичного аспирата костного мозга для улучшения процессов регенерации кости, как самостоятельно, так и в сочетании с костнопластическими материалами, подтверждена многими исследованиями. Gianakos et al. [26] описали результаты 35 исследований на животных, при которых применялся АКМ в дефектах длинных костей, заживление произошло в 100% случаев, а повышение остеогенного потенциала увеличивалось на 90% по сравнению с контрольными группами, что было подтверждено данными гистоморфометрии. Hernigou et al. [27] описали применение концентрированного после центрифугирования АКМ при ложных суставах большеберцовой кости у 60 пациентов, из которых сращение было достигнуто у 53. В работе Desai et al. [28] описаны положительные результаты применения АКМ в комбинации с костнопластическими материалами при ложных суставах большеберцовой кости. Schotter и Warner [29] опубликовали данные, свидетельствующие о положительном эффекте при использовании АКМ в сочетании с аллогенными костнопластическими материалами.

Sanchez [30] и Gallasso [31] опубликовали данные клинических наблюдений использования АОТП для ускорения заживления переломов. Во всех случаях наблюдали положительный эффект. В работе Кесян Г.А. и др. [11] описывается ряд клинических наблюдений, в которых также отмечается положительный эффект от применения АОТП в комбинации с костнопластическими материалами для лечения псевдоартрозов. Несмотря на широкое применение АОТП для стимуляции костной регенерации, данные об эффективности ее применения по-прежнему остаются противоречивыми. Peerbooms et al. [32] сообщили, что нет никакого положительного эффекта от применения АОТП для стимуляции костной регенерации. Chahla et al. [15] опубликовали аналитический обзор литературы, где отражен анализ 105 исследований, из которых в 16% полноценно описаны характеристики клеточного состава и содержание факторов роста и только в 10% подробно описан протокол подготовки АОТП. Все это свидетельствует о необходимости стандартизации протоколов приготовления АОТП [15, 16]. Следует еще раз подчеркнуть, что для стимуляции костной регенерации необходима плазма, активированная тромбином, в виде плотного

фибринового сгустка, которая способна формировать и удерживать необходимую форму и медленно высвобождать содержащиеся в ней факторы роста. Именно по этой причине мы и применили наборы Regen BCT-SP (R-BCT-SP) и Regen ATS-SP (R-ATS-SP), описанные в нашем клиническом случае.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование костных трансплантатов и костнопластических материалов в комбинации с аспиратом костного мозга или обогащенной тромбоцитами плазмой позволяет снижать степень иммунного ответа, способствует процессам остеоинтеграции и ремоделирования, что расширяет возможности применения хирургических способов биологической реконструкции костных тканей. Для стимуляции костной регенерации рекомендовано применять обогащенную тромбоцитами плазму, активированную тромбином, в виде плотного фибринового сгустка, только в этом случае можно создать и удерживать необходимую форму материала и обеспечить медленное высвобождение факторов роста.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Raghuram A, Singh A, Chang DK, Nunez M, Reece EM*. Bone Grafts, Bone Substitutes, and Orthobiologics: Applications in Plastic Surgery. *Semin Plast Surg*. 2019 Aug; 33 (3): 190–199.
2. *Calcei JG, Rodeo SA*. Orthobiologics for Bone Healing. *Clin Sports Med*. 2019 Jan; 38 (1): 79–95.
3. *Giannoudis PV, Einhorn TA, Marsh D*. Fracture healing: the diamond concept. *Injury*. 2007; 38 (4): 3–6.
4. *Khan SN, Cammisa FP, Sandhu HS, Diwan AD, Girardi FP, Lane JM*. The biology of bone grafting. *J Am Acad Orthop Surg*. 2005; 13 (1): 77–86.
5. *Stevenson S, Horowitz M*. The response to bone allografts. *J Bone Joint Surg Am*. 1992 Jul; 74 (6): 939–950.
6. *Stevenson S, Li XQ, Martin B*. The fate of cancellous and cortical bone after transplantation of fresh and frozen tissue-antigen-matched and mismatched osteochondral allografts in dogs. *J Bone Joint Surg Am*. 1991 Sep; 73 (8): 1143–1156.
7. *Готье СВ*. Трансплантология и искусственные органы. М.: Лаборатория знаний, 2018. 319. *Gautier SV*. Transplantologiya i iscusstvenniye organy. M.: Laboratoriya znaniy, 2018. 319.
8. *Воробьев КА, Божкова СА, Тихилов РМ, Черный АЖ*. Современные способы обработки и стерилизации аллогенных костных тканей (обзор литературы). *Травматология и ортопедия России*. 2017; 23 (3): 134–147. *Vorobyov KA, Bozhkova SA, Tikhilov RM, Cherny AZh*. Current methods of processing and sterilization of bone allografts. *Traumatology and orthopedics of Russia*. 2017; 23 (3): 134–147. [In Russ, English abstract].
9. *Волков АВ*. К вопросу о безопасности остеопластических материалов. *Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова*. 2015; 1: 46–51. *Volkov AV*. On the safety of osteoplastic materials. *N.N. Priorov journal of Traumatology and Orthopedics*. 2015; 1: 46–51. [In Russ, English abstract].
10. *Bal Z, Kushioka J, Kodama J, Kaito T, Yoshikawa H, Korkusuz P, Korkusuz F*. BMP and TGFβ Use and Release in Bone Regeneration. *Turk J Med Sci*. 2020 Apr 27.
11. *Кесян ГА, Берченко ГН, Уразгильдеев РЗ, Микелаишвили ДС, Шулашов БН*. Сочетанное применение обогащенной тромбоцитами аутоплазмы и биокомпозитного материала коллапан в комплексном лечении больных с длительно не срастающимися переломами и ложными суставами длинных костей конечностей. *Вестник травматологии и ортопедии имени Н.Н. Приорова*. 2011; 2: 26–32. *Kesyan GA, Berchenko GN, Urazgildeev RZ, Mikelaishvili DS, Shulashov BN*. Combined application of platelet-rich plasma and biocomposite material collapan in complex treatment of patient with non-united fractures and pseudarthrosis of extremity long bones. *N.N. Priorov journal of Traumatology and Orthopedics*. 2011; 2: 26–32. [In Russ, English abstract].
12. *Bray CC, Walker CM, Spence DD*. Orthobiologics in Pediatric Sports Medicine. *Orthop Clin North Am*. 2017 Jul; 48 (3): 333–342.
13. *Lenza M, Ferraz SB, Viola DCM et al*. Platelet-rich plasma for long bone healing. *Einstein (Sao Paulo)*. Jan–Mar 2013; 11 (1): 122–127.
14. *El Backly RM, Zaky SH, Muraglia A, Tonachini L, Brun F, Canciani B et al*. A platelet-rich plasma-based membrane as a periosteal substitute with enhanced osteogenic and angiogenic properties: a new concept for bone repair. *Tissue Eng Part A*. 2013 Jan; 19 (1–2): 152–165.
15. *Chahla J, Cinque ME, Piuzzi NS, Mannava S, Geeslin AG, Murray IR et al*. A Call for Standardization in Platelet-Rich Plasma Preparation Protocols and Composition Reporting: A Systematic Review of the Clinical Orthopaedic Literature. *J Bone Joint Surg Am*. 2017 Oct 18; 99 (20): 1769–1779.
16. *Navani A, Li G, Chrystal J*. Platelet Rich Plasma in Musculoskeletal Pathology: A Necessary Rescue or a Lost Cause? *Pain Physician*. 2017 Mar; 20 (3): E345–E356.
17. *Krettek C, Clausen J-D, N Bruns, Neunaber C*. Partial and complete joint transplantation with fresh osteochondral allografts – the FLOCSAT concept. [Article in German]. *Unfallchirurg*. 2017 Nov; 120 (11): 932–949.
18. *Volkov M*. Allotransplantation of joints. *J Bone Joint Surg Br*. 1970 Feb; 52 (1): 49–53.
19. *Langer F, Gross AE*. Immunogenicity of allograft articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am*. 1974 Mar; 56 (2): 297–304.
20. *Kandel RA, Gross AE, Ganel A, McDermott AG, Langer F, Pritzker KP*. Histopathology of failed osteoarticular shell allografts. *Clin Orthop Relat Res*. Jul-Aug 1985; (197): 103–110.

21. *Stevenson S, Shaffer JW, Goldberg VM.* The humoral response to vascular and nonvascular allografts of bone. *Clin Orthop Relat Res*. 1996 May; (326): 86–95.
22. *Hernigou P.* Bone transplantation and tissue engineering, part III: allografts, bone grafting and bone banking in the twentieth century. *Int Orthop*. 2015 Mar; 39 (3): 577–587.
23. *Hovanyecz P, Lorenti A, Lucero JMJ, Gorla A, Castiglioni AE.* Living donor bone banking: processing and discarding – from procurement to therapeutic use. *Cell Tissue Bank*. 2015 Dec; 16 (4): 593–603.
24. *Готье СВ, Хомяков СМ.* Правовые и организационные основы донорства и трансплантации органов в Российской Федерации. *Госпитальная медицина: наука и практика*. 2018; 1 (S): 61–74. *Gautier SV, Khomyakov SM.* Legal and organizational basis of organ donation and transplantation in the Russian Federation. *Hospital Medicine: Science and Practice*. 2018; 1 (S): 61–74. [In Russ, English abstract].
25. *Шангина ОР, Хасанов РА.* Роль многопрофильного тканевого банка в разработке и клинической реализации технологий регенеративной хирургии. *Практическая медицина*. 2019; 17 (1): 17–19. *Shangina OR, Khasanov RA*. The role of a multidisciplinary tissue bank in development and clinical implementation of regenerative surgery technologies. *Practical medicine*. 2019; 17 (1): 17–19. [In Russ, English abstract].
26. *Gianakos A, Ni A, Zambrana L, Kennedy JG, Lane JM*. Bone Marrow Aspirate Concentrate in Animal Long Bone Healing: An Analysis of Basic Science Evidence. *J Orthop Trauma*. 2016 Jan; 30 (1): 1–9.
27. *Hernigou P, Mathieu G, Poignard A, Manicom O, Beaujean F, Rouard H.* Percutaneous autologous bone-marrow grafting for nonunions. Surgical technique. *J Bone Joint Surg Am*. 2006 Sep; 88 Suppl 1 Pt 2: 322–327.
28. *Desai P, Hasan SM, Zambrana L, Hegde V, Saleh A, Cohn MR, Lane JM.* Bone Mesenchymal Stem Cells with Growth Factors Successfully Treat Nonunions and Delayed Unions. *HSS J*. 2015 Jul; 11 (2): 104–111.
29. *Schottel PC, Warner SJ.* Role of Bone Marrow Aspirate in Orthopedic Trauma. *Orthop Clin North Am*. 2017 Jul; 48 (3): 311–321.
30. *Sanchez M, Anitua E, Cugat R, Azofra J, Guadilla J, Seijas R, Andia I.* Nonunions treated with autologous preparation rich in growth factors. *J Orthop Trauma*. 2009 Jan; 23 (1): 52–59.
31. *Galasso O, Mariconda M, Romano G, Capuano N, Romano L, Iannò B, Milano C.* Expandable intramedullary nailing and platelet rich plasma to treat long bone nonunions. *J Orthop Traumatol*. 2008 Sep; 9 (3): 129–134.
32. *Peerbooms JC, Colaris JC, Hakkert AA et al.* No positive bone healing after using platelet rich plasma in a skeletal defect. An observational prospective cohort study. *Int Orthop*. 2012 Oct; 36 (10): 2113–2119.

Статья поступила в редакцию 21.09.2020 г.
The article was submitted to the journal on 21.09.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-4-140-148

РОЛЬ ЭНДОВАСКУЛЯРНЫХ И ЭНДОБИЛИАРНЫХ МЕТОДОВ В ЛЕЧЕНИИ ОСЛОЖНЕНИЙ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ

С.В. Готье[1, 2], М.А. Восканов[1], А.Р. Монахов[1, 2], К.О. Сёмаш[1]

[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

Трансплантация печени является признанным методом лечения пациентов с терминальной стадией заболеваний печени или острой печеночной недостаточностью. Однако сосудистые осложнения, такие как стеноз и/или тромбоз печеночной артерии, стеноз воротной вены трансплантата и билиодигестивные стриктуры, после трансплантации печени все еще часто встречаемы, несмотря на улучшения и инновации в хирургических методах. Данные осложнения могут приводить к повреждениям трансплантата или даже к летальному исходу. Этиология данных осложнений является многофакторной. Хотя малоинвазивная интервенционная радиология для лечения данных осложнений после трансплантации печени является опциональным вариантом лечения, существует достаточно малое количество проведенных исследований данного метода лечения.

Ключевые слова: трансплантация печени, эндоваскулярные методы лечения, эндобилиарные методы лечения, стеноз артерии печеночного трансплантата, тромбоз артерии печеночного трансплантата, стеноз воротной вены печеночного трансплантата, билиодигестивные стриктуры.

THE ROLE OF ENDOVASCULAR AND ENDOBILIARY METHODS IN THE TREATMENT OF POST-LIVER TRANSPLANT COMPLICATIONS

S.V. Gautier[1, 2], M.A. Voskanov[1], A.R. Monakhov[1, 2], K.O. Semash[1]

[1] Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation
[2] Sechenov University, Moscow, Russian Federation

Liver transplantation is the treatment of choice for patients with end-stage liver disease or acute liver failure. However, vascular complications, such as hepatic artery stenosis and/or thrombosis, graft portal vein stenosis and biliodigestive strictures following liver transplantation are still common despite improvements and innovations in surgical techniques. These complications can lead to graft damage or even death, and they are caused by many factors. Although minimally invasive interventional radiology is an optional treatment for such post-liver transplant complications, there is little research on this method of treatment.

Keywords: liver transplantation, endovascular treatment, endobiliary treatment, hepatic artery stenosis, hepatic artery thrombosis, portal vein stenosis, biliodigestive strictures.

ВВЕДЕНИЕ

В соответствии с рекомендациями Американской ассоциации по изучению заболеваний печени и Американского общества трансплантологии [1] предлагается регулярно и рутинно проводить скрининг и обнаружение хирургических осложнений после трансплантации печени.

Хирургические осложнения, такие как стеноз и тромбоз печеночной артерии, стеноз воротной вены и билиодигестивные стриктуры, оптимально диагностируются и лечатся в трансплантологическом центре, однако нет единого мнения относительно мониторинга этих осложнений и тактики их лечения.

Для корреспонденции: Восканов Михаил Альбертович. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (915) 230-76-10. E-mail: voskanov.mikhail@mail.ru

Corresponding author: Mikhail Voskanov. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (915) 230-76-10. E-mail: voskanov.mikhail@mail.ru

ИСТОРИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАЗВИТИЯ МАЛОИНВАЗИВНЫХ МЕТОДОВ ЛЕЧЕНИЯ

Начало развития катетерной техники относится к глубокой древности. Древние египтяне, за 3000 лет до н. э., впервые в мире выполнили катетеризацию мочевого пузыря, используя специальные трубки. Erasistratus впервые около 300 года до н. э. использовал слово «καθετηρ» (катетер) для описания этого инструмента. Классические S-образные катетеры датируются этим периодом, и некоторые из них были обнаружены при раскопках дома хирурга в Помпеях, который был похоронен извержением вулкана в 79 году н. э. [2].

В 1711 г. голландский физиолог H. Hales выполнил первую катетеризацию камер сердца у лошади с помощью трубок из латуни и стекла [3].

Важнейшее открытие для дальнейшего развития медицины сделал W. Roentgen в 1895 г., открыв излучение, названное им Х-лучами [4]. А уже в 1896 г. В.М. Бехтерев предсказал открытие ангиографии: «…Раз стало известно, что некоторые растворы не пропускают лучи Рентгена, то сосуды мозга могут быть заполнены ими и сфотографированы *in situ*» [5].

Годом возникновения интервенционной радиологии можно считать 1929-й. W. Forssman, 25-летний резидент-хирург больницы Красного Креста Auguste Viktoria Home в Эберсвальде (Германия), в эксперименте впервые в мире доказал безопасность введения катетеров в сердце человека, когда сам себе провел катетер через локтевую вену в полость правого предсердия [6].

В 1953 году шведский врач S. Seldinger впервые применил метод пункционного доступа в артерию Сельдингера, которым заложил основы современной интервенционной радиологии [7].

В 1958 г. детский кардиолог в клинике Кливленда (США) M. Sones впервые зафиксировал рентгеноконтрастное изображение коронарных артерий на кинопленку при выполнении аортографии [8]. Первую селективную коронарографию в СССР выполнили в 1971 г. Ю.С. Петросян и Л.С. Зингерман в Институте сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева АМН СССР [9].

В 1977 г. A. Gruentzig и R. Myler в госпитале St. Mary's в Сан-Франциско (США) выполнили первую коронарную баллонную ангиопластику у человека [10]. Первую в СССР процедуру коронарной баллонной ангиопластики выполнили И.Х. Рабкин и А.М. Абугов во Всесоюзном научном центре хирургии в 1982 г. [11].

Конец XX века стал эпохой расцвета эндоваскулярной хирургии, методы которой стали применяться и в других областях медицины.

Bjerkvik et al. [12] в 1989 году описали случай чрескожной реваскуляризации трансплантата путем транскатетерного фибринолиза у одного пациента с тромбозом печеночной артерии (ТПА). Однако в этом случае понадобилось проведение баллонной ангиопластики (БА). При лечении раннего ТПА роль фибринолиза оставалась и остается спорной. Hidalgo et al. [13] в 1995 году достигли хороших результатов с использованием урокиназы для локального фибринолиза у двух пациентов с ранним ТПА; однако после фибринолиза обоим пациентам также потребовалась дополнительная БА.

Ангиопластика и стентирование воротной вены были впервые описаны в 1990 году Olcott et al. [14] в Калифорнийском университете, Сан-Франциско (США). Raby et al. [15] впервые предложили портальную ангиопластику у детей; в последующие годы эта техника стала методом выбора при посттрансплантационном портальном стенозе с хорошими результатами и низкой частотой осложнений после процедуры.

В 2001 году Schwarzenberg et al. из Миннесотского университета (США), доложили о положительных результатах купирования билиодигестивных стриктур [16]. Шести пациентам после развития стриктуры билиодигестивного анастомоза была выполнена баллонная дилатация анастомотического стеноза и установка наружно-внутреннего дренажа.

СТЕНОЗ И/ИЛИ ТРОМБОЗ ПЕЧЕНОЧНОЙ АРТЕРИИ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ

Нарушения артериального кровотока включают в себя тромбоз печеночной артерии (ТПА), стеноз печеночной артерии (СПА), патологическую извитость (кинкинг) печеночной артерии (КПА), а также синдром артериального «обкрадывания» печеночного трансплантата.

В зависимости от временного интервала между трансплантацией печени и ТПА можно выделить ранний ТПА (до 4 недель) и поздний ТПА (более 4 недель после трансплантации).

Bekker et al. [17] выполнили систематический литературный обзор, который показал, что частота ранних ТПА у детей после трансплантации печени составляет 8,3%, в то время как у взрослых 2,9%. Своевременная диагностика и лечение ТПА может предотвратить повреждение билиарного тракта и паренхимы трансплантата печени.

ФАКТОРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ СТЕНОЗА И/ИЛИ ТРОМБОЗА ПЕЧЕНОЧНОЙ АРТЕРИИ ТРАНСПЛАНТАТА

Факторы риска со стороны донора

Нетипичная артериальная анатомия печени со стороны донора является фактором риска, особенно в случаях несоответствия «калибров» при формировании артериального анастомоза трансплантата печени [18].

Что касается индекса отношения массы трансплантата к массе тела реципиента (GRWR), данные, полученные при различных исследованиях, все еще остаются дискутабельными. Sanada et al. [19] сообщили, что трансплантаты с GRWR <1,1% являются фактором риска развития тромбоза печеночной артерии.

По данным исследования Li et al. [20], трансплантаты с GRWR ≥4% достоверно связаны с развитием ТПА при родственной трансплантации печени у детей. Однако Uchida et al. [21] показали, что трансплантаты с GRWR ≥4% могут безопасно использоваться в педиатрической трансплантации.

Кроме того, важным фактором риска развития СПА и/или ТПА являются дефекты хирургической техники при изъятии трансплантата [22].

Факторы риска со стороны реципиента

Uchida et al. [21] также провели анализ факторов риска развития нарушений артериального кровотока трансплантата печени. Было установлено, что женский пол, малый вес и высокий индекс веса трансплантат/реципиент (GRWR) были связаны с риском развития ТПА.

Спорным вопросом остается малая масса реципиента как фактор риска тромбоза. В нескольких исследованиях сообщалось, что масса тела реципиента не является фактором риска развития тромбоза печеночной артерии [19, 23]. В то же время Desai et al. [24] обнаружили, что риск развития тромбоза печеночной артерии выше у пациентов с массой тела менее 10 кг.

Нетипичная артериальная анатомия реципиента также является фактором риска развития СПА и/или ТПА [25].

Дооперационные факторы

По данным исследования Uchida et al., длительное время холодовой ишемии и длительное время тепловой ишемии были факторами, ведущими к ТПА [21].

Однако, по данным Organ Transplantation Center в городе Тяньцзинь (Китай), не было выявлено связи между высоким риском ТПА и пролонгированной холодовой ишемией [26].

Интраоперационные факторы

Что касается факторов риска трансфузии, Uchida et al. [21] доложили, что более 6 доз эритроцитарной взвеси и/или трансфузия более 15 доз свежезамороженной плазмы во время операции являются факторами риска развития ТПА.

Приоритет в использовании микроскопа, а не обычной хирургической оптики во время формирования анастомоза печеночной артерии не изменяет частоту возникновения тромбоза печеночной артерии, по мнению некоторых авторов [27, 28].

Backes et al. [29] сообщили, что использование сосудистой вставки при формировании анастомоза печеночной артерии является полезной опцией при трансплантации печени у детей. Однако, напротив, Duffy et al. [30] сообщили, что использование сосудистой вставки является серьезным независимым фактором риска развития тромбоза печеночной артерии.

Использование множественных анастомозов печеночной артерии не оказало никакого влияния на развитие СПА и/или ТПА в исследованиях Julka et al. [31] и Uchida et al. [21]. Тем не менее Seda-Neto et al. [32] обнаружили защитный эффект при формировании двух артериальных анастомозов от развития тромбоза.

Также фактором риска ТПА является вторичный отек трансплантата печени вследствие ишемического-реперфузионного «удара» [33].

Послеоперационные факторы

Группа авторов считает, что наличие у реципиента после трансплантации СПА и КПА является инициирующим фактором развития ТПА [34].

Раннее назначение аспирина также показало свою эффективность в качестве профилактики тромбоза печеночной артерии [35].

ДИАГНОСТИКА СТЕНОЗА И/ИЛИ ТРОМБОЗА ПЕЧЕНОЧНОЙ АРТЕРИИ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ

Как правило, клиническая картина СПА и/или ТПА включает в себя умеренное повышение уровней сывороточных трансаминаз и билирубина (75%), билиарные осложнения (15%), лихорадку и сепсис (6%), дисфункцию или печеночную недостаточность (4%) [36]. Клиника ТПА может представлять собой как лишь изолированное повышение маркеров ферментов цитолиза, так и картину сепсиса вследствие тяжелой дисфункции трансплантата.

Наиболее часто СПА и/или ТПА выявляют при ультразвуковой доплерографии с последующей КТ-ангиографией. В некоторых исследованиях ультра-

звуковая доплерография показала чувствительность 92–100%, специфичность 99,5% [37].

Ультразвуковыми признаками СПА и/или ТПА по данным доплерографии считаются: пиковая систолическая скорость по печеночной артерии менее 20,0 см/с или индекс резистентности менее 0,6 дистальнее области анастомоза [38].

Тем не менее «золотым стандартом» диагностики СПА и/или ТПА, по мнению абсолютного большинства исследователей, является ангиография.

МЕТОДИКИ ВЫПОЛНЕНИЯ МАЛОИНВАЗИВНОЙ КОРРЕКЦИИ СТЕНОЗА И/ИЛИ ТРОМБОЗА ПЕЧЕНОЧНОЙ АРТЕРИИ

Исследование Chen et al. [18], а также исследования Yanaga et al. [39] продемонстрировали, что срочная реваскуляризация в случаях раннего ТПА после трансплантации печени может значительно снизить потерю трансплантата и устранить необходимость в ретрансплантации. Результаты вышеупомянутых исследований показали, что ранняя реваскуляризация добивается 55% восстановления трансплантата, тогда как поздняя реваскуляризация была неудачной в 100% случаев.

Sanada et al. в 2018 году представили обширное ретроспективное исследование [40]. С мая 2001 года по сентябрь 2016 года 279 родственных трансплантаций печени были выполнены у 271 ребенка.

Посттрансплантационные осложнения печеночной артерии были обнаружены в 15 случаях (5,4%), включая ТПА и СПА в 14 (5,0%) случаях и окклюзию в результате сдавления жидкостным скоплением в одном случае (0,36%). Малоинвазивная коррекция была первой линией лечения в семи случаях (46,7%). Успех в случаях применения малоинвазивной методики при СПА и/или ТПА составил 100%. Кроме того, в настоящем исследовании выживаемость трансплантата у пациентов с сосудистыми осложнениями составила 94,4%.

Методики выполнения эндоваскулярной коррекции СПА и/или ТПА достаточно широко используются у взрослых пациентов после трансплантации печени много лет, однако, что касается педиатрической практики, данные малоинвазивные способы лечения осложнений слабо транспонированы.

СИНДРОМ АРТЕРИАЛЬНОГО «ОБКРАДЫВАНИЯ» ПЕЧЕНОЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА

Артериальная гипоперфузия трансплантата печени при отсутствии окклюзии печеночной артерии впервые описана Langer et al. в 1990 г. [41]. Более чем в 80% диагностированных случаев данное осложнение встречается в раннем послеоперационном периоде [54–74].

Ангиография является «золотым стандартом» диагностики синдрома «обкрадывания» селезеночной артерией. Диагноз определяется редуцированным кровотоком по печеночной артерии при отсутствии значительных артериальных анатомических дефектов, таких как СПА, ТПА или КПА [39, 42].

Тщательная оценка ангиографии чревного ствола с целью выявления лежащих в основе сосудистых дефектов (СПА, ТПА или КПА) является первым шагом [43]. Эмболизация селезеночной артерии считается методом выбора смещения гемодинамического баланса в пользу трансплантата печени, а также уменьшения гипердинамического портального кровотока [44].

СТЕНОЗ ВОРОТНОЙ ВЕНЫ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ

Интервенционная радиология в настоящее время широко используется и считается безопасным и эффективным методом лечения стенозов воротной вены (СВВ) печеночного трансплантата [45]. Funaki et al. [46] сообщили, что баллонная ангиопластика воротной вены для лечения СВВ имела частоту рецидивов 50% в среднем за 6,3 месяца, в то время как стентирование показало 100% проходимость воротной вены в течение 47 месяцев наблюдения.

Нарушения портального притока после трансплантации печени могут быть классифицированы как ранние (обнаруженные в течение 3 месяцев после трансплантации) или поздние (обнаруженные более чем через 3 месяца после трансплантации печени) [68]. Что касается тромбозов воротной вены, эндоваскулярные методы не демонстрируют должной эффективности [47]. В случаях раннего портального тромбоза надлежащим методом лечения является открытая тромбэкстракция, а в случаях позднего портального тромбоза – формирование мезентерико-портального шунтирования (Meso-Rex) шунта [48].

Частота развития СВВ у взрослых пациентов в случаях выполнения ортотопической трансплантации целой печени достаточно низкая.

Наиболее частым показанием к трансплантации печени у детей является билиарная атрезия [49], при данном заболевании у пациентов достаточно часто встречается гипоплазия воротной вены. Данный фактор провоцирует развитие СВВ, а также усложняет формирование портального анастомоза ввиду несоответствия «калибров» донорской портальной вены и портальной вены реципиента [50].

ФАКТОРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ СТЕНОЗА ВОРОТНОЙ ВЕНЫ

Факторы риска развития осложнений со стороны портальной вены: технические сложности формирования анастомоза, ранний возраст, масса тела <6 кг, диаметр портальной вены реципиента <3,5 мм [51], ротация трансплантата, симультанная тромбэктомия предсуществующего тромбоза воротной вены и использование сосудистых кондуитов для портальной реконструкции [50].

Некоторые хирургические техники могут играть важную роль в предотвращении СВВ, особенно при родственной трансплантации печени или сплит-трансплантации печени. Для преодоления несоответствия калибров портальных вен донора и реципиента использование «фактора роста» при сосудистом шве оказалось действенным методом.

Другим методом является обеспечение адекватного притока крови – лигирование мелких портальных ветвей со стороны реципиента. Использование больших трансплантатов может спровоцировать компрометацию кровотока при закрытии брюшной полости, что может привести к тромбозу сосудов. В этом случае используется отложенное закрытие передней брюшной стенки для исключения резкого роста внутрибрюшного давления.

ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ СТЕНОЗА ВОРОТНОЙ ВЕНЫ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ

Клинические проявления СВВ варьируют от бессимптомного течения до выраженных симптомов, включая массивный асцит, анемии, стойкую спленомегалию с или без тромбоцитопении и желудочно-кишечные кровотечения [52]. Число тромбоцитов может быть ниже нормы вследствие гиперспленизма у пациентов со стенозом портальной вены [53]. Стеноз воротной вены обычно выявляют при рутинной доплерографии, КТ или МРТ.

В настоящее время широко используются два типа эндоваскулярных подходов. Антеградный метод – доступ к СВВ осуществляется через систему брыжеечных вен, из мини-доступа. Вторым подходом, менее инвазивным, считают ретроградный метод – доступ к ветвям воротной вены осуществляется путем чрескожной чреспеченочной пункции данных ветвей под ультразвуковым контролем [54].

Среди исследователей данного осложнения существует также «противостояние» методов непосредственно коррекции стеноза – достаточно ли проведения баллонной ангиопластики или же стентирование – это необходимая опция лечения СВВ.

Sakamoto et al. [55] и Bertram et al. [56] продемонстрировали, что баллонная ангиопластика – эффективный и относительно безопасный метод лечения СВВ, однако, у 28–50% пациентов после процедуры развивается рецидив СВВ. В данных исследованиях предлагается стентирование и/или повторные баллонные ангиопластики для решения этой проблемы. Cheng et al. [47] сообщили об эффективности метода стентирования при СВВ у взрослых и детей. Процент проходимости стента составил 90,9% за средний период наблюдения 12 месяцев.

Напротив, другие исследования выразили озабоченность по поводу побочных эффектов стентирования [57, 58]. Эти побочные эффекты включают гиперплазию мембраны интимы, несоответствие размеров во время повторной трансплантации, а также возможность миграции стента.

В 2019 году Katano et al. [59] в Медицинском университете города Джичи (Япония) представили обширное ретроспективное исследование. 282 детям была проведена родственная трансплантация печени. Портальные осложнения произошли в 40 (14,2%) случаях. В 36 случаях была выполнена баллонная ангиопластика и в 4 случаях – стентирование воротной вены. Частота рецидивов после баллонной ангиопластики составила 27,5%. Степень проходимости стентов составляла 100%.

В 2017 году в Южной Корее было также проведено крупное совместное исследование Больницы св. Марии (Ичхон) и медицинского центра Асан (Сеул) [60]. У 55 (18,6%) пациентов из 296 развился СВВ.

12 пациентам была выполнена баллонная ангиопластика и 41 пациенту – стентирование. Успех при баллонной ангиопластике был достигнут в 89% случаев. Рецидивы произошли у 3 (25%) пациентов. Стентирование выполнялось в случаях, если после ангиопластики развернутый баллон демонстрировал деформацию талии >50% или градиент давления в воротной вене был >5 мм рт ст. Удовлетворительный портальный кровоток наблюдался у всех пациентов, перенесших стентирование. 1-, 5- и 10-летние коэффициенты первичной проходимости стента составляли 90 ± 7%, 90 ± 7% и 85 ± 8% соответственно.

БИЛИОДИГЕСТИВНЫЕ СТРИКТУРЫ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ

Желчные стриктуры и желчные свищи являются наиболее частыми ранними посттрансплантационными осложнениями, риск развития которых 10–30% по разным данным [61, 62].

Билиарные стриктуры классифицируются в анастомотические (АС) или неанастомотические стриктуры (НАС) [40].

ФАКТОРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ БИЛИОДИГЕСТИВНЫХ СТРИКТУР ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ

Факторами риска развития БС являются: время холодовой ишемии трансплантата печени, нарушение артериального кровоснабжения трансплантата, отторжение и цитомегаловирусная (ЦМВ) инфекция [63].

Несколько авторов предоставили исследования, доказывающие взаимосвязь возникновения БС с предсуществующими артериальными осложнениями. Так, по данным, полученным Darius et al. [64], тромбоз печеночной артерии увеличивал риск анастомотических БС у детей ($p < 0,001$). В 2018 году Fang-Min Liao et al. [38] продемонстрировали, что у детей после трансплантации печени с индексом резистентности печеночной артерии по данным доплерографии ≤0,57 более высокий риск возникновения БС ($p = 0,001$). Feier et al. в 2016 доложили о том, что наличие нескольких артериальных анастомозов может «защитить» ребенка от развития билиарных стриктур [65].

ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ БИЛИОДИГЕСТИВНЫХ СТРИКТУР ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ

Клинически стриктуры желчевыводящих путей следует подозревать у пациентов с признаками холестаза или эпизодами холангита. Однако у большинства пациентов наблюдается неспецифическая клиническая картина, а также дискретные изменения уровня ферментов печени. Ультразвуковое исследование обычно не выявляет значительных изменений, в то время как магнитно-резонансная холангиография, инструмент, превосходящий ультразвуковой контроль, является приоритетным методом в неинвазивной инструментальной диагностике данного осложнения [66].

Чрескожная чреспеченочная холангиография играет решающую роль в диагностике билиарной стриктуры у реципиентов печени, поскольку считается золотым стандартом для выявления и количественной оценки стеноза [67].

Чрескожная чреспеченочная билиопластика (ЧЧБП) – малоинвазивный метод и имеет успех в диапазоне от 34 до 75%, результаты аналогичны результатам при хирургической ревизии [61, 62]. Основным недостатком ЧЧБП является потенциальная необходимость в длительном наружном желчном дренировании и повторных процедурах с потенциальными психологическими последствиями.

Belenky et al. [68] рекомендовал в случаях поздних билиодигестивных стриктур размещение стента как приоритетную опцию лечения. Данный метод показывает долгосрочные результаты, превосходящие результаты, полученные при изолированной дилатации баллонными катетерами.

Нет больших когортных или рандомизированных контролируемых исследований для сравнения краткосрочных и отдаленных результатов ЧЧБП и операций, и в большинстве опубликованных исследований доступны только краткосрочные или среднесрочные наблюдения. Кроме того, в разных центрах используются разные методы и/или терапевтические алгоритмы, что затрудняет сравнение результатов и осложнений, о которых сообщается в литературе.

В 2008 году Miraglia et al. сообщили о результатах ЧЧБП у 20 детей, перенесших трансплантацию печени в период между 2004 и 2007 годами [69]. Стриктура желчных анастомозов была успешно пройдена у всех пациентов, после чего ЧЧБП была выполнена без серьезных осложнений. Среднее число выполненных баллонных дилатаций составило 4, а средняя продолжительность установки холангиостомических дренажей составила 5 месяцев. У 28% развился повторный стеноз, для которого потребовалась вторая серия проведения ЧЧБП.

Нормализация ферментов печени и разрешение внутрипеченочной дилатации желчевыводящих путей являются конечными точками, используемыми для определения технического успеха в самых последних сериях, касающихся ЧЧБП или хирургической реконструкции стриктур желчевыводящих путей [62, 63].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В случаях развития осложнений после трансплантации печени у взрослых пациентов эндоваскулярные и эндобилиарные методы коррекции этих осложнений стали терапией первой линии, поскольку они менее инвазивны и легче переносятся реципиентами по сравнению с объемными реконструктивными хирургическими вмешательствами. В последние годы, с развитием малоинвазивных технологий и методов, возросло количество сообщений о новых случаях лечения нарушений кровоснабжения трансплантата и билиодигестивных стриктур. Хотя ургентная ретрансплантация долгое время считалась методом выбора, малоинвазивная интервенционная радиология в настоящее время используется в качестве метода лечения первой линии у взрослых реципиентов в ряде передовых центров.

Тем не менее в педиатрической трансплантации печени эндоваскулярные технологии и методы не так широко изучены. Разработка алгоритмов малоинвазивной интервенционной диагностики и лечения сосудистых осложнений и билиодигестивных стриктур после трансплантации печени для педиатрической практики необходима для достижения оптимальных

результатов и сохранения функции трансплантата в долгосрочной перспективе.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Kelly DA, Bucuvalas JC, Alonso EM et al.* Long-term medical management of the pediatric patient after liver transplantation: 2013 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases and the American Society of Transplantation. *Liver Transpl*. 2013; 19 (8): 798–825. doi: 10.1002/lt.23697.
2. *Milne JS.* Surgical Instruments in Greek and Roman Times. Oxford: At the Clarendon Press, 1907. 179.
3. *Cournand A.* Cardiac catheterization; development of the technique, its contributions to experimental medicine, and its initial applications in man. *Acta Med Scand Suppl*. 1975; 579: 3–32.
4. *Fye WB.* Coronary arteriography – it took a long time! *Circulation*. 1984; 70 (5): 781–787. doi: 10.1161/01.cir.70.5.781.
5. *Рожченко ЛВ, Иванов АЮ, Горощенко СА, Благоразумова ГП, Христофорова МИ.* Развитие сосудистой хирургии в РНХИ им. проф. А.Л. Поленова (к 50-летнему юбилею отделения хирургии сосудов головного мозга РНХИ им. проф. А.Л. Поленова). *Российский нейрохирургический журнал имени профессора А.Л. Поленова*. 2017; 9 (1): 5–10. *Rozhchenko LV, Ivanov AYu, Goroshchenko SA, Blagorazumova GP, Hristoforova MI.* Razvitie sosudistoj hirurgii v RNHI im. prof. A.L. Polenova (k 50-letnemu yubileyu otdeleniya hirurgii sosudov golovnogo mozga RNHI im. prof. A.L. Polenova). *Rossijskij nejrohirurgicheskij zhurnal imeni professora A.L. Polenova*. 2017; 9 (1): 5–10.
6. *Meyer JA*. Werner Forssmann and catheterization of the heart, 1929. *Ann Thorac Surg*. 1990; 49 (3): 497–499. doi: 10.1016/0003-4975(90)90272-8.
7. *Seldinger SI.* Catheter replacement of the needle in percutaneous arteriography. A new technique. *Acta Radiol Suppl (Stockholm)*. 2008; 434: 47–52. doi: 10.1080/02841850802133386.
8. *Sones FM, Shirey EK*. Cine coronary arteriography. *Modern concepts of cardiovascular disease*. 1962; 58: 1018–1019.
9. *Петросян ЮС, Зингерман ЛС.* Коронарография. Медицина, 1974. 152. *Petrosyan YuS, Zingerman LS.* Koronarografiya. Medicina, 1974. 152.
10. *Barton M, Grüntzig J, Husmann M, Rösch J.* Balloon Angioplasty – The Legacy of Andreas Grüntzig, M.D. (1939–1985). *Front Cardiovasc Med*. 2014 Dec 29; 1: 15. doi: 10.3389/fcvm.2014.00015. PMID: 26664865; PMCID: PMC4671350.
11. *Сорокина ТС.* История медицины. 8-е изд. стер. М.: Академия, 2008. 560 с. *Sorokina TS.* Istoriya meditsiny. 8-e izd. ster. M.: Akademiya, 2008. 560 s. ISBN 978-5-7695-5781-1.
12. *Bjerkvik S, Vatne K, Mathisen O, Søreide O*. Percutaneous revascularization of postoperative hepatic artery thrombosis in a liver transplant. *Transplantation*. 1995; 59 (12): 1746–1748. doi: 10.1097/00007890-199506270-00021.
13. *Hidalgo EG, Abad J, Cantarero JM et al.* High-dose intra-arterial urokinase for the treatment of hepatic artery thrombosis in liver transplantation. *Hepatogastroenterology*. 1989; 36 (6): 529–532.
14. *Olcott EW, Ring EJ, Roberts JP, Ascher NL, Lake JR, Gordon RL.* Percutaneous transhepatic portal vein angioplasty and stent placement after liver transplantation: early experience. *J Vasc Interv Radiol*. 1990; 1 (1): 17–22. doi: 10.1016/s1051-0443(90)72496-7.
15. *Raby N, Karani J, Thomas S, O'Grady J, Williams R.* Stenoses of vascular anastomoses after hepatic transplantation: treatment with balloon angioplasty. *AJR Am J Roentgenol*. 1991; 157 (1): 167–171. doi: 10.2214/ajr.157.1.1828649.
16. *Schwarzenberg SJ, Sharp HL, Payne WD et al.* Biliary stricture in living-related donor liver transplantation: management with balloon dilation. *Pediatr Transplant*. 2002; 6 (2): 132–135. doi: 10.1034/j.1399-3046.2002.01053.x.
17. *Bekker J, Ploem S, de Jong KP.* Early hepatic artery thrombosis after liver transplantation: a systematic review of the incidence, outcome and risk factors. *Am J Transplant*. 2009; 9 (4): 746–757. doi: 10.1111/j.1600-6143.2008.02541.x.
18. *Chen J, Weinstein J, Black S, Spain J, Brady PS, Dowell JD.* Surgical and endovascular treatment of hepatic arterial complications following liver transplant. *Clin Transplant*. 2014; 28 (12): 1305–1312. doi: 10.1111/ctr.12431.
19. *Yamada N, Sanada Y, Hirata Y et al.* Selection of living donor liver grafts for patients weighing 6 kg or less. *Liver Transpl*. 2015; 21 (2): 233–238. doi: 10.1002/lt.24048.
20. *Li JJ, Zu CH, Li SP, Gao W, Shen ZY, Cai JZ.* Effect of graft size matching on pediatric living-donor liver transplantation at a single center. *Clin Transplant*. 2018; 32 (1): 10.1111/ctr.13160. doi: 10.1111/ctr.13160.
21. *Uchida Y, Sakamoto S, Egawa H et al.* The impact of meticulous management for hepatic artery thrombosis on long-term outcome after pediatric living donor liver transplantation. *Clin Transplant*. 2009; 23 (3): 392–399. doi: 10.1111/j.1399-0012.2008.00924.x.
22. *Oberkofler CE, Reese T, Raptis DA et al.* Hepatic artery occlusion in liver transplantation: What counts more, the type of reconstruction or the severity of the recipient's disease? *Liver Transpl*. 2018; 24 (6): 790–802. doi: 10.1002/lt.25044.
23. *Oh CK, Pelletier SJ, Sawyer RG et al.* Uni- and multivariate analysis of risk factors for early and late hepatic artery thrombosis after liver transplantation. *Transplantation*. 2001; 71 (6): 767–772. doi: 10.1097/00007890-200103270-00014.
24. *Desai CS, Sharma S, Gruessner A, Fishbein T, Kaufman S, Khan KM.* Effect of small donor weight and donor-recipient weight ratio on the outcome of liver trans-

plantation in children. *Pediatr Transplant*. 2015; 19 (4): 366–370. doi: 10.1111/petr.12459.
25. *Gunsar F, Rolando N, Pastacaldi S et al.* Late hepatic artery thrombosis after orthotopic liver transplantation. *Liver Transpl*. 2003; 9 (6): 605–611. doi: 10.1053/jlts.2003.50057.
26. *Valente JF, Alonso MH, Weber FL, Hanto DW.* Late hepatic artery thrombosis in liver allograft recipients is associated with intrahepatic biliary necrosis. *Transplantation*. 1996; 61 (1): 61–65. doi: 10.1097/00007890-199601150-00013.
27. *Guarrera JV, Sinha P, Lobritto SJ, Brown RS Jr, Kinkhabwala M, Emond JC.* Microvascular hepatic artery anastomosis in pediatric segmental liver transplantation: microscope vs loupe. *Transpl Int*. 2004; 17 (10): 585–588. doi: 10.1007/s00147-004-0782-8.
28. *Carnevale FC, de Tarso Machado A, Moreira AM et al.* Long-term results of the percutaneous transhepatic venoplasty of portal vein stenoses after pediatric liver transplantation. *Pediatr Transplant*. 2011; 15 (5): 476–481. doi: 10.1111/j.1399-3046.2011.01481.x.
29. *Backes AN, Gibelli NE, Tannuri AC et al.* Hepatic artery graft in pediatric liver transplantation: single-center experience with 58 cases. *Transplant Proc*. 2011; 43 (1): 177–180. doi: 10.1016/j.transproceed.2010.11.006.
30. *Duffy JP, Hong JC, Farmer DG et al.* Vascular complications of orthotopic liver transplantation: experience in more than 4,200 patients. *J Am Coll Surg*. 2009; 208 (5): 896–905. doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2008.12.032.
31. *Julka KD, Lin TS, Chen CL, Wang CC, Komorowski AL.* Reconstructing single hepatic artery with two arterial stumps: biliary complications in pediatric living donor liver transplantation. *Pediatr Surg Int*. 2014; 30 (1): 39–46. doi: 10.1007/s00383-013-3436-z.
32. *Seda-Neto J, Antunes da Fonseca E, Pugliese R et al.* Twenty Years of Experience in Pediatric Living Donor Liver Transplantation: Focus on Hepatic Artery Reconstruction, Complications, and Outcomes. *Transplantation*. 2016; 100 (5): 1066–1072. doi: 10.1097/TP.0000000000001135.
33. *Miraglia R, Maruzzelli L, Caruso S et al.* Minimally invasive endovascular and biliary treatments of children with acute hepatic artery thrombosis following liver transplantation. *Pediatr Radiol*. 2014; 44 (1): 94–102. doi: 10.1007/s00247-013-2772-4.
34. *Segel MC, Zajko AB, Bowen A et al.* Hepatic artery thrombosis after liver transplantation: radiologic evaluation. *AJR Am J Roentgenol*. 1986; 146 (1): 137–141. doi: 10.2214/ajr.146.1.137.
35. *Hashikura Y, Kawasaki S, Okumura N et al.* Prevention of hepatic artery thrombosis in pediatric liver transplantation. *Transplantation*. 1995; 60 (10): 1109–1112. doi: 10.1097/00007890-199511270-00009.
36. *Piardi T, Lhuaire M, Bruno O et al.* Vascular complications following liver transplantation: A literature review of advances in 2015. *World J Hepatol*. 2016; 8 (1): 36–57. doi: 10.4254/wjh.v8.i1.36.
37. *Uller W, Knoppke B, Schreyer AG et al.* Interventional radiological treatment of perihepatic vascular stenosis or occlusion in pediatric patients after liver transplantation. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 2013; 36 (6): 1562–1571. doi: 10.1007/s00270-013-0595-1.
38. *Liao FM, Chang MH, Ho MC et al.* Resistance index of hepatic artery can predict anastomotic biliary complications after liver transplantation in children. *J Formos Med Assoc*. 2019; 118 (1 Pt 2): 209–214. doi: 10.1016/j.jfma.2018.03.014.
39. *Yanaga K, Lebeau G, Marsh JW et al.* Hepatic artery reconstruction for hepatic artery thrombosis after orthotopic liver transplantation. *Arch Surg*. 1990; 125 (5): 628–631. doi: 10.1001/archsurg.1990.01410170076016.
40. *Sanada Y, Katano T, Hirata Y et al.* Interventional radiology treatment for vascular and biliary complications following pediatric living donor liver transplantation – a retrospective study. *Transpl Int*. 2018; 31 (11): 1216–1222. doi: 10.1111/tri.13285.
41. *Langer R, Langer M, Neuhaus P, Scholz A, Felix R.* Angiographische Diagnostik bei Lebertransplantation. Teil II: Angiographie nach Transplantation [Angiographic diagnosis in liver transplantation. II: Angiography after transplantation]. *Digitale Bilddiagn*. 1990; 10 (3–4): 92–96.
42. *Cheng YF, Ou HY, Tsang LL et al.* Vascular stents in the management of portal venous complications in living donor liver transplantation [published correction appears in Am J Transplant. 2011 Jan; 11 (1): 186]. *Am J Transplant*. 2010; 10 (5): 1276–1283. doi: 10.1111/j.1600-6143.2010.03076.x.
43. *Saad WE, Davies MG, Sahler L et al.* Hepatic artery stenosis in liver transplant recipients: primary treatment with percutaneous transluminal angioplasty. *J Vasc Interv Radiol*. 2005; 16 (6): 795–805. doi: 10.1097/01.RVI.0000156441.12230.13.
44. *Saad WE.* Management of nonocclusive hepatic artery complications after liver transplantation. *Tech Vasc Interv Radiol*. 2007; 10 (3): 221–232. doi: 10.1053/j.tvir.2007.09.016.
45. *Jurim O, Csete M, Gelabert HA et al.* Reduced-size grafts – the solution for hepatic artery thrombosis after pediatric liver transplantation? *J Pediatr Surg*. 1995; 30 (1): 53–55. doi: 10.1016/0022-3468(95)90609-6.
46. *Funaki B, Rosenblum JD, Leef JA et al.* Percutaneous treatment of portal venous stenosis in children and adolescents with segmental hepatic transplants: long-term results. *Radiology*. 2000; 215 (1): 147–151. doi: 10.1148/radiology.215.1.r00ap38147.
47. *Cheng YF, Ou HY, Tsang LL et al.* Vascular stents in the management of portal venous complications in living donor liver transplantation [published correction appears in Am J Transplant. 2011 Jan; 11 (1): 186]. *Am J Transplant*. 2010; 10 (5): 1276–1283. doi: 10.1111/j.1600-6143.2010.03076.x.
48. *de Ville de Goyet J, Lo Zupone C, Grimaldi C et al.* Meso-Rex bypass as an alternative technique for portal vein reconstruction at or after liver transplantation in children: review and perspectives. *Pediatr Transplant*. 2013; 17 (1): 19–26. doi: 10.1111/j.1399-3046.2012.01784.x.

49. *Rawal N, Yazigi N.* Pediatric Liver Transplantation. *Pediatr Clin North Am*. 2017; 64 (3): 677–684. doi: 10.1016/j.pcl.2017.02.003.
50. *Umehara M, Narumi S, Sugai M et al.* Hepatic venous outflow obstruction in living donor liver transplantation: balloon angioplasty or stent placement? *Transplant Proc*. 2012; 44 (3): 769–771. doi: 10.1016/j.transproceed.2012.01.048.
51. *Seu P, Shackleton CR, Shaked A et al.* Improved results of liver transplantation in patients with portal vein thrombosis. *Arch Surg*. 1996; 131 (8): 840–845. doi: 10.1001/archsurg.1996.01430200050009.
52. *Nosaka S, Isobe Y, Kasahara M et al.* Recanalization of post-transplant late-onset long segmental portal vein thrombosis with bidirectional transhepatic and transmesenteric approach. *Pediatr Transplant*. 2013; 17 (2): E71–E75. doi: 10.1111/petr.12050.
53. *Sanada Y, Kawano Y, Mizuta K et al.* Strategy to prevent recurrent portal vein stenosis following interventional radiology in pediatric liver transplantation. *Liver Transpl*. 2010; 16 (3): 332–339. doi: 10.1002/lt.21995.
54. *Baccarani U, Gasparini D, Risaliti A et al.* Percutaneous mechanical fragmentation and stent placement for the treatment of early posttransplantation portal vein thrombosis. *Transplantation*. 2001; 72 (9): 1572–1582. doi: 10.1097/00007890-200111150-00016.
55. *Sakamoto S, Nakazawa A, Shigeta T et al.* Devastating outflow obstruction after pediatric split liver transplantation. *Pediatr Transplant*. 2013; 17 (1): E25–E28. doi: 10.1111/j.1399-3046.2012.01761.x.
56. *Bertram H, Pfister ED, Becker T, Schoof S.* Transsplenic endovascular therapy of portal vein stenosis and subsequent complete portal vein thrombosis in a 2-year-old child. *J Vasc Interv Radiol*. 2010; 21 (11): 1760–1764. doi: 10.1016/j.jvir.2010.06.025.
57. *Shibata T, Itoh K, Kubo T et al.* Percutaneous transhepatic balloon dilation of portal venous stenosis in patients with living donor liver transplantation. *Radiology*. 2005; 235 (3): 1078–1083. doi: 10.1148/radiol.2353040489.
58. *Ko GY, Sung KB, Yoon HK et al.* Endovascular treatment of hepatic venous outflow obstruction after living-donor liver transplantation. *J Vasc Interv Radiol*. 2002; 13 (6): 591–599. doi: 10.1016/s1051-0443(07)61652-2.
59. *Katano T, Sanada Y, Hirata Y et al.* Endovascular stent placement for venous complications following pediatric liver transplantation: outcomes and indications. *Pediatr Surg Int*. 2019; 35 (11): 1185–1195. doi: 10.1007/s00383-019-04551-9.
60. *Shim DJ, Ko GY, Sung KB, Gwon DI, Ko HK.* Long-Term Outcome of Portal Vein Stent Placement in Pediatric Liver Transplant Recipients: A Comparison with Balloon Angioplasty. *J Vasc Interv Radiol*. 2018; 29 (6): 800–808. doi: 10.1016/j.jvir.2017.11.019.
61. *Anderson CD, Turmelle YP, Darcy M et al.* Biliary strictures in pediatric liver transplant recipients – early diagnosis and treatment results in excellent graft outcomes. *Pediatr Transplant*. 2010; 14 (3): 358–363. doi: 10.1111/j.1399-3046.2009.01246.x.
62. *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.
63. *Sunku B, Salvalaggio PR, Donaldson JS et al.* Outcomes and risk factors for failure of radiologic treatment of biliary strictures in pediatric liver transplantation recipients. *Liver Transpl*. 2006; 12 (5): 821–826. doi: 10.1002/lt.20712.
64. *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.
65. *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.
66. *Kinner S, Dechêne A, Paul A et al.* Detection of biliary stenoses in patients after liver transplantation: is there a different diagnostic accuracy of MRCP depending on the type of biliary anastomosis? *Eur J Radiol*. 2011; 80 (2): e20–e28. doi: 10.1016/j.ejrad.2010.06.003.
67. *Seehofer D, Eurich D, Veltzke-Schlieker W, Neuhaus P.* Biliary complications after liver transplantation: old problems and new challenges. *Am J Transplant*. 2013; 13 (2): 253–265. doi: 10.1111/ajt.12034.
68. *Belenky A, Mor E, Bartal G et al.* Transhepatic balloon dilatation of early biliary strictures in pediatric liver transplantation: successful initial and mid-term outcome. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 2004; 27 (5): 491–494. doi: 10.1007/s00270-003-2675-0.
69. *Miraglia R, Maruzzelli L, Tuzzolino F, Indovina PL, Luca A.* Radiation exposure in biliary procedures performed to manage anastomotic strictures in pediatric liver transplant recipients: comparison between radiation exposure levels using an image intensifier and a flat-panel detector-based system. Cardiovasc Interv Radiol. 2013; 36 (6): 1670–1676.

Статья поступила в редакцию 21.08.2020 г.
The article was submitted to the journal on 21.08.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-4-149-153

ОБЗОР ХИРУРГИЧЕСКОЙ ТЕХНИКИ ВЫПОЛНЕНИЯ ЛАПАРОСКОПИЧЕСКИХ ДОНОРСКИХ РЕЗЕКЦИЙ ФРАГМЕНТОВ ПЕЧЕНИ

К.О. Сёмаш[1], 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

Родственная трансплантация фрагментов печени зарекомендовала себя как эффективный, безопасный и радикальный метод помощи при терминальных заболеваниях печени. В последнее десятилетие постепенно в клиническую практику стал внедряться лапароскопический подход к донорским резекциям печени. На сегодняшний день, по данным мировой литературы, не существует единых стандартов выполнения лапароскопических резекций фрагментов печени у прижизненных доноров. В данном обзоре литературы будут рассмотрены практически все варианты выполнения лапароскопических резекций печени у прижизненных доноров, описанных в трансплантологических центрах по всему миру.

Ключевые слова: трансплантация фрагментов печени, прижизненное донорство, лапароскопическая резекция печени.

REVIEW OF SURGICAL TECHNIQUES FOR PERFORMING LAPAROSCOPIC DONOR HEPATECTOMY

K.O. Semash[1], 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

Living related liver transplantation has proved to be an effective, safe and radical method for treating end-stage liver diseases. In the last decade, a laparoscopic approach to donor hepatectomy has been gradually introduced into clinical practice. According to world literature, there are presently no uniform standards for performing laparoscopic liver resections in living donors. This literature review considers almost all methods for performing this surgery in living donors. These methods are described in transplant centers around the world.

Keywords: liver transplantation, living donation, laparoscopic liver resection.

ВВЕДЕНИЕ

Хирургическая техника лапароскопической резекции фрагментов печени у прижизненных доноров, как правило, состоит из нескольких основных этапов: постановка троакаров, мобилизация печени, диссекция элементов печеночно-двенадцатиперстной связки, формирование плоскости резекции, а также разделение паренхимы и изъятие трансплантата.

ПОЛОЖЕНИЕ ПАЦИЕНТА НА СТОЛЕ

Пациент располагается на операционном столе в положении Фаулера (инвертированное положение Тренделенбурга), при этом, по различным литературным источникам, угол стола по отношению к полу составляет от 30° до 45°. Ноги пациента разведены (французское положение) [1–3]. Примечательно, что при выполнении лапароскопической правосторонней

Для корреспонденции: Сёмаш Константин Олесьевич. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (999) 986-76-19. E-mail: mail@doctorsemash.com

Corresponding author: Konstantin Semash. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (999) 986-76-19. E-mail: mail@doctorsemash.com

гемигепатэктомии положение пациента на операционном столе несколько отличается от такового при резекции ЛЛС или левой доли печени у родственного донора. Пациент так же укладывается во «французскую позицию» в положении Фаулера, однако справа под пациента на уровне реберной дуги подкладывается валик диаметром 10–15 см [4]. В некоторых центрах пациента укладывают в положение на левом боку [5].

РАССТАНОВКА ТРОАКАРОВ

Во всех клиниках существуют собственные подходы к расстановке троакаров. Так, при первом лапароскопическом изъятии левого латерального сектора у прижизненного донора [6] описывалась следующая схема постановки троакарных портов: оптический троакар диаметром 10 мм устанавливался параумбиликально на 2 см выше пупка, слева и справа от него на расстоянии 7–9 см устанавливались два троакара диаметром 12 мм, далее, на расстоянии 5 см проксимальнее от них, по среднеключичной линии под реберной дугой устанавливались 10-миллиметровый троакар справа и 5-миллиметровый троакар слева. В большинстве французских центров, а также в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» при выполнении лапароскопической резекции ЛЛС печени постановка троакаров осуществляется следующим образом: оптический 10–12-миллиметровый троакар устанавливается параумбиликально на 2–3 см правее пупка, от него под углом 15° справа кверху на расстоянии 10 сантиметров устанавливается 10-миллиметровый троакар, и под углом 15° слева книзу – еще один 12-миллиметровый троакар. Один 5-миллиметровый троакар устанавливается в эпигастральной области и при необходимости еще один – по передней подмышечной линии в правом подреберье [3, 7–9].

В Южной Корее при выполнении лапароскопической левой латеральной секторэктомии схема расстановки аналогичная, но в основном используются 12-миллиметровые троакары [1]. Для более рациональной расстановки портов в некоторых центрах проводилось ультразвуковое исследование печени [7, 10].

При резекции левой доли у прижизненного донора расположение троакаров аналогично, как и при выполнении резекции ЛЛС, за исключением того, что основные рабочие порты расположены равноудаленно кверху под углом 30° от параумбиликального оптического доступа [11]. В некоторых центрах существует модифицированная версия расстановки троакарных портов с использованием 6 троакаров [12].

При использовании трехмерного лапароскопа при лапароскопической резекции правой доли печени у живых доноров разработаны стандартизированные подходы к расстановке портов [13].

МОБИЛИЗАЦИЯ ПЕЧЕНИ И ДИССЕКЦИЯ ЭЛЕМЕНТОВ ПЕЧЕНОЧНО-ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ СВЯЗКИ

Карбоксиперитонеум достигается до целевых значений 8–13 мм рт. ст. при выполнении левой латеральной секторэктомии или левой долевой резекции [1, 3, 6, 8, 9, 11, 12]. При выполнении правосторонней гемигепатэктомии референсным значением внутрибрюшного давления, по данным различных литературных источников, является 12–15 мм рт. ст. [14, 15]. Для визуализации в основном используется 30° оптический преобразователь, хотя в последнее время все чаще сообщается об использовании лапароскопа с регулируемым углом обзора [16, 17].

При резекции левого латерального сектора или левой доли после ревизии брюшной полости проводится мобилизация печени путем пересечения круглой, серповидной, коронарной и левой треугольной связок с применением гармонического скальпеля и монополярных ножниц [3, 6–8]. При мобилизации левой доли печени, а именно желудочно-печеночной связки, стоит отметить возможное отхождение аберрантной артерии к левой доле от левой желудочной артерии.

Стоит отметить, что предварительная циркулярная мобилизация левой печеночной вены при резекции ЛЛС не проводится рутинно в большинстве центров, хотя стали появляться публикации о выполнении данного маневра [18].

Далее проводится выделение элементов печеночно-двенадцатиперстной связки: на протяжении мобилизуется левая печеночная артерия и циркулярно обходится на тесьме или ее аналогах. После этого лигируются короткие портальные ветви к 1-му сегменту, левая ветвь воротной вены также циркулярно обходится. Далее с применением гармонического скальпеля или биполярной коагуляции пересекаются венозные ветви, дренирующие 4-й сегмент (Sinus Rexi).

Стоит отметить, что мобилизация элементов печеночно-двенадцатиперстной связки производится с использованием каудального подхода, при этом для лучшей визуализации проводят тракцию за пересеченную круглую связку печени [7], однако в некоторых случаях левый латеральный сектор ротируется против часовой стрелки для облегчения его мобилизации и выделения афферентных сосудов [9].

В случае гемигепатэктомии необходимо учитывать анатомическую границу разделения на левую и правую доли печени, а именно линию, проходящую от дна желчного пузыря к надпеченочному отделу нижней полой вены [19]. Выполняется холецистэкто-

мия с применением принципа Critical View – системы контроля, основанной на оценке и регистрации трех ключевых элементов:
– диссекция треугольника Кало (пузырный проток – печеночный проток – печень);
– визуализация только двух трубчатых структур, идущих к желчному пузырю;
– мобилизация нижней части желчного пузыря и визуализация нижней 1/3 ложа желчного пузыря до пересечения любых трубчатых структур [20].

Что касается правосторонней гемигепатэктомии, некоторые авторы считают, что холецистэктомию необходимо делать перед мобилизацией элементов печеночно-двенадцатиперстной связки для более детальной визуализации артериального кровоснабжения правой доли печени [4, 14]. В некоторых азиатских клиниках, например, в Южной Корее, операцию начинают с мобилизации правой доли печени, а уже после приступают к диссекции афферентных сосудов и холецистэктомии [5, 21].

Для визуализации протоковой зоны используют интраоперационную холангиографию [22] либо флуоресцентное окрашивание индоцианином зеленым [21–24]. Также используют модифицированную холангиографию. Для этого зажим типа «бульдог» накладывается на место предполагаемого места пересечения желчного протока и выполняется холангиография через культю пузырного протока, таким образом, подтверждается безопасность пересечения протока [15].

РАЗДЕЛЕНИЕ ПАРЕНХИМЫ ПЕЧЕНИ

Для определения оптимальной плоскости резекции при выполнении гемигепатэктомии используется прием с пережатием афферентного кровотока к левой или правой доле печени при помощи сосудистых зажимов. Гармоническим скальпелем по линии демаркации намечается линия разделения паренхимы, после чего сосудистые зажимы снимаются [25].

В некоторых центрах непосредственно перед началом разделения паренхимы элементы гепатодуоденальной связки берутся на турникет для применения Pringle Maneuver – пережатия афферентного кровотока к печени при возникновении массивных кровотечений, хотя рутинно в некоторых центрах данный прием не применяется. Стоит отметить, что при выполнении лапароскопической левой латеральной секторэктомии ни в одной описанной публикации не был использован Pringle Maneuver [1–3, 6, 9, 26].

Разделение паренхимы производится с применением ультразвукового или водоструйного диссектора, биполярной и монополярной коагуляции или аргона [1–3, 6, 9]. По мнению некоторых авторов, крупные сосуды никогда не будут травмированы легкими маневрами, пока сосуды находятся в поле зрения хирурга. Даже во время разделения паренхимы интрапаренхиматозные структуры можно визуализировать при помощи увеличения на лапароскопе, а мелкие кровотечения контролировать подъемом внутрибрюшного давления [27].

При резекции левого латерального сектора линия резекции паренхимы определяется по направлению к медиальной стенке левой печеночной вены и идет немного правее серповидной связки. Разделение также проводят по принципу каудального подхода, то есть снизу вверх. По данным исследования, проведенного в Венгрии, оптимальная линия разделения паренхимы для ЛЛС должна проходить примерно на 1 см правее от серповидной связки, кроме случаев девиантной билиарной анатомии левого латерального сектора, когда уровень слияния сегментарных желчных протоков по данным МР-холангиографии проходит правее или левее намеченного уровня [6, 28]. Это обусловлено необходимостью получения минимального количества желчных протоков на трансплантате для снижения количества билиарных осложнений у реципиента. При гемигепатэктомиях линия резекции проходит по линии демаркации, как было описано ранее.

Особенно необходимо отметить, что при лапароскопических гемигепатэктомиях после разделения хвостатой доли проводят нейлоновую трубку в переднюю часть правой задней ножки Глиссона, чтобы приподнять остаточную часть паренхимы. Таким образом выполняется подвешивание (Hanging maneuver), что помогает закончить разделение паренхимы наиболее безопасно, хотя некоторые авторы считают этот маневр необязательным [21, 23]. Несколько похожий маневр описан при выполнении лапароскопических резекций ЛЛС и левой доли у прижизненных доноров. Так, для удобства рассечения паренхимы в области слияния левой и срединной печеночных вен применяется следующий маневр: данная зона циркулярно обходится при помощи тесьмы и подтягивается кверху, тем самым улучшается визуализация во время разделения и обеспечивается дополнительная сосудистая безопасность [29].

В процессе транссекции паренхимы обнажается портальная пластинка, в составе которой проходит желчный проток и парапротоковые сосуды. Данные элементы пересекаются при помощи ножниц, со стороны донора проводится тщательный гемо- и билиостаз с прошиванием и клипированием. В некоторых центрах портальная пластинка клипируется клипсами Hem-o-lock (TFX Medical Ltd., RTP Durham, NC, USA), а затем пересекается ножницами между клипс [9, 30, 31].

ИЗЪЯТИЕ ТРАНСПЛАНТАТА

После того как трансплантат остается связанным лишь афферентными сосудами и печеночными венами, выполняется доступ по Пфанненштилю с ус-

тановкой порта для мануальной ассистенции. Далее проводится непосредственно изъятие трансплантата: клипируются и пересекаются афферентные сосуды трансплантата (в некоторых центрах воротная вена пересекается сшивающим аппаратом [32, 33]), печеночные вены пересекаются с использованием сшивающего аппарата. Полученный трансплантат извлекается при помощи мануальной ассистенции через ранее установленный порт и далее передается для перфузии консервирующим раствором [8].

После извлечения фрагмента печени проводится тщательная ревизия на предмет гемо- и билиостаза, при необходимости проводится электрокоагуляция, прошивание или клипирование подозрительных участков. К раневой поверхности печени подводится силиконовый дренаж [11, 14], хотя некоторые авторы считают, что при «идеальном» проведении резекции печени показаний к постановке страховочного дренажа нет [34].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Безопасность доноров имеет первостепенное значение в донорской хирургии печени. Этот столь важный аспект до сих пор является основным препятствием на пути распространения минимально инвазивных подходов в прижизненном донорстве печени.

Вероятно, поэтому в различных трансплантологических центрах значительно различается подход к лапароскопической резекции печени у прижизненных доноров. Тем не менее необходима дальнейшая оценка стандартизации методов для улучшения оперативных результатов при выполнении данных оперативных пособий.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Kim KH, Jung DH, Park KM, Lee YJ, Kim DY, Kim KM, Lee SG*. Comparison of open and laparoscopic live donor left lateral sectionectomy. *British Journal of Surgery.* 2011; 98 (9).
2. *Troisi RI, Wojcicki M, Tomassini F, Houtmeyers P, Vanlander A, Berrevoet F et al*. Pure Laparoscopic Full-Left Living Donor Hepatectomy for Calculated Small-for-Size LDLT in Adults: Proof of Concept. *American Journal of Transplantation*. 2013; 13 (9): 2472–2478.
3. *Broering DC, Elsheikh Y, Shagrani M, Abaalkhail F, Troisi RI*. Pure Laparoscopic Living Donor Left Lateral Sectionectomy in Pediatric Transplantation: A Propensity Score Analysis on 220 Consecutive Patients. *Liver Transplantation*. 2018; 24 (8).
4. *Goumard C, Soubrane O, Brustia R, Scatton O*. Laparoscopic right hepatectomy for living donation. *Annals of Laparoscopic and Endoscopic Surgery.* 2017; 2: 81–81.
5. *Han HS, Cho JY, Yoon YS, Hwang DW, Kim YK, Shin HK, Lee W*. Total laparoscopic living donor right hepatectomy. *Surgical Endoscopy.* 2015; 29 (1).
6. *Cherqui D, Soubrane O, Husson E, Barshasz E, Vignaux O, Ghimouz M et al*. Laparoscopic living donor hepatectomy for liver transplantation in children. *Lancet*. 2002; 359 (9304): 392–396.
7. *Soubrane O, Cherqui D, Scatton O, Stenard F, Bernard D, Branchereau S et al*. Laparoscopic left lateral sectionectomy in living donors: Safety and reproducibility of the technique in a single center. *Annals of Surgery*. 2006; 244 (5).
8. *Troisi R, Debruyne R, Rogiers X*. Laparoscopic Living Donor Hepatectomy for Pediatric Liver Transplantation. *Acta Chirurgica Belgica*. 2009; 109 (4): 559–562.
9. *Gautier S, Monakhov A, Gallyamov E, Tsirulnikova O, Zagaynov E, Dzhanbekov T et al*. Laparoscopic left lateral section procurement in living liver donors: A single center propensity score-matched study. *Clinical Transplantation*. 2018; 32 (9).
10. *Troisi RI, Elsheikh YM, Shagrani MA, Broering D*. First fully laparoscopic donor hepatectomy for pediatric liver transplantation using the indocyanine green near-infrared fluorescence imaging in the Middle East: a case report. *Annals of Saudi Medicine*. 2014; 34 (4): 354–357.
11. *Samstein B, Cherqui D, Rotellar F, Griesemer A, Halazun KJ, Kato T et al*. Totally laparoscopic full left hepatectomy for living donor liver transplantation in adolescents and adults. *American Journal of Transplantation*. 2013; 13 (9).
12. *Zhu X, Shen Z, Zhang Y, You B, Dong J*. Laparoscopic or abdominal left extrahepatic lobectomy of donor liver in pediatric living donor liver transplantation: a report of 17 cases. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2019; 12 (4): 4116–4123.
13. *Lee J, Shehta A, Suh K, Hong SK, Yoon KC, Cho J et al*. Guidance for Optimal Port Placement in Pure 3-Dimensional Laparoscopic Donor Right Hepatectomy. *Liver Transplantation.* 2019; 25 (11): 1714–1722.
14. *Wakabayashi G, Cherqui D, Geller DA, Buell JF, Kaneko H, Han HS et al*. Recommendations for laparoscopic liver resection: A report from the second international consensus conference held in morioka. *Annals of Surgery*. 2015; 261 (4).
15. *Samstein B, Klair T*. Living Donor Liver Transplantation: Donor Selection and Living Donor Hepatectomy. *Current Surgery Reports*. 2015; 3 (9).
16. *Kwon C.H.D., Choi G.-S., Joh J.-W*. Laparoscopic right hepatectomy for living donor. *Current Opinion in Organ Transplantation*. 2019; 24 (2): 167–174.
17. *Hong SK, Shin E, Lee K-W, Yoon KC, Lee J-M, Cho J-H et al*. Pure laparoscopic donor right hepatectomy: perspectives in manipulating a flexible scope. *Surgical Endoscopy*. 2019; 33 (5): 1667–1673.
18. *Lu L, Wang Z, Zhu W, Shen C, Tao Y, Ma Z et al*. Left Hepatic Vein Preferential Approach Based on Anatomy Is Safe and Feasible for Laparoscopic Living Donor Left Lateral Sectionectomy. *Liver Transplantation*. 2020. C.lt.25793.

19. *Перескоков СВ, Дмитриев АВ, Грошилин ВС, Тареева ДА, Козыревский МА*. Хирургия печени: от истоков развития до современных возможностей. *Современные проблемы науки и образования*. 2017; 5. *Pereskokov SV, Dmitriev AV, Groshilin VS, Tareeva DA, Kozyrevskiy MA*. Khirurgiya pecheni: ot istokov razvitiya do sovremennykh vozmozhnostey. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2017; 5.
20. *Vettoretto N, Saronni C, Harbi A, Balestra L, Taglietti L, Giovanetti M*. Critical View of Safety During Laparoscopic Cholecystectomy. *JSLS: Journal of the Society of Laparoendoscopic Surgeons*. 2011; 15 (3): 322–325.
21. *Hong KSSSK, Yi KWLNJ, Ahn HSKSW, Choi KCYJY, Kim DOH*. Pure laparoscopic living donor hepatectomy: Focus on 55 donors undergoingright hepatectomy. 2018; April 2017: 434–443.
22. *Chen K, Siow TF, Chio U, Wu J, Jeng K*. Laparoscopic donor hepatectomy. 2018; 11: 112–117.
23. *Lee KW, Hong SK, Suh KS, Kim HS, Ahn SW, Yoon KC et al*. One Hundred Fifteen Cases of Pure Laparoscopic Living Donor Right Hepatectomy at a Single Center. 2018: 1878–1884.
24. *Han JR, Han YS, Chun JM, Hwang YJ*. Indocyanine green near-infrared fluorescence cholangiogram during pure laparoscopic living donor hepatectomy for optimal bile duct division. *Transplantation.* 2020; 104 (S3): S498–S498.
25. *Au KP, Siu K, Chok H*. Minimally invasive donor hepatectomy, are we ready for prime time? 2018.
26. *Hong SK, Suh K, Kim KA, Lee J, Cho J, Yi N, Lee K*. Pure laparoscopic versus open left hepatectomy including the middle hepatic vein for living donor liver transplantation. *Liver Transplantation.* 2020; 26 (3): 370–378.
27. *Takahara T, Wakabayashi G, Beppu T, Aihara A, Hasegawa K, Gotohda N et al*. Long-term and perioperative outcomes of laparoscopic versus open liver resection for hepatocellular carcinoma with propensity score matching: A multi-institutional Japanese study. *Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Sciences.* 2015; 22 (10).
28. *Kiss M, Deshpande RR, Nemeskéri Á, Nguyen TT, Kürti Z, Kovács S et al*. Optimal line of hepatotomy for left lateral living donor liver transplantation according to the anatomical variations of left hepatic duct system. *Pediatric Transplantation.* 2015; 19 (5).
29. *Wing K, Cheung TT*. Standardizing Laparoscopic Left Lateral Sectionectomy for Hepatocellular Carcinoma. 2016.
30. *Monakhov A, Semash K, Tsiroulnikova O, Djanbekov T, Khizroev K, Kurtak N, Gautier SV*. Laparoscopic left lateral sectionectomy in living liver donors: from the first experience to routine usage. *Transplantation.* 2020; 104 (S3): S241–S241.
31. *Gautier SV, Monakhov AR, Miloserdov IA, Arzumanov S, Tsirulnikova OM, Semash KO, Dzhanbekov TA*. Simultaneous laparoscopic left lateral sectionectomy and nephrectomy in the same living donor: The first case report. *American Journal of Transplantation.* 2019; 19 (6).
32. *Kim JM, Ha SY, Joh JW, Sinn DH, Jeong WK, Choi GS et al*. Predicting hepatic steatosis in living liver donors via noninvasive methods. *Medicine (United States)*. 2016; 95 (7).
33. *Hong Q, Wang J, Wang Y, Fu B, Fang Y, Tong Q et al*. Clinical outcomes of laparoscopic versus open right hepatectomy for liver tumors: A meta-analysis. *Medicine (United States)*. 2020; 99 (1).
34. *Gavriilidis P.* Re-appraisal of prophylactic drainage in uncomplicated liver resections: a systematic review and meta-analysis. *HPB*. 2017; 19 (1).

Статья поступила в редакцию 16.10.2020 г.
The article was submitted to the journal on 16.10.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-4-154-161

СПОСОБЫ АРТЕРИАЛЬНОЙ РЕКОНСТРУКЦИИ ТРАНСПЛАНТАТА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Н.С. Журавель, И.В. Дмитриев, А.В. Пинчук

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

Ежегодно в мире выполняется около 2400 трансплантаций поджелудочной железы, преимущественно в виде панкреатодуоденального комплекса. В большинстве клиник используют классическую методику его реваскуляризации с помощью Y-образного сосудистого протеза. Однако обеспечить полноценное кровоснабжение трансплантата таким способом удается не всегда. Поэтому разрабатываются и другие варианты артериальной реконструкции – от изолированного кровоснабжения трансплантата по селезеночной артерии до полноценного восстановления кровотока по всем магистральным сосудам органа для обеспечения максимально физиологичного кровоснабжения поджелудочной железы. Данный обзор посвящен анализу используемых способов артериальной реконструкции и технических методик реваскуляризации панкреатодуоденального трансплантата.

Ключевые слова: трансплантация поджелудочной железы, панкреатодуоденальный трансплантат, артериальная реконструкция, Y-образный сосудистый протез, изолированное кровоснабжение по селезеночной артерии.

METHODS OF ARTERIAL RECONSTRUCTION FOR PANCREATIC GRAFT

N.S. Zhuravel, I.V. Dmitriev, A.V. Pinchuk

Sklifosovsky Research Institute of Emergency Care, Moscow, Russian Federation

About 2,400 pancreas transplantations are performed every year worldwide, mainly pancreaticoduodenal transplantations. Most clinics use the classical revascularization technique using a Y-shaped vascular prosthetic implant. However, it is not always possible to restore full blood supply to the graft in this way. Therefore, other options for arterial reconstruction are being developed – from isolated blood supply to the graft via the splenic artery to full blood flow restoration through all the main vessels of the organ to ensure the most physiological blood supply to the pancreas. This review is devoted to analysis of the used arterial reconstruction methods and pancreaticoduodenal graft revascularization techniques.

Keywords: pancreas transplantation, pancreaticoduodenal graft, arterial reconstruction, Y-shaped vascular graft, isolated blood supply via the splenic artery.

ВВЕДЕНИЕ

Согласно данным ВОЗ, в настоящее время сахарным диабетом страдает около 200 млн человек. При этом в России общая численность пациентов с сахарным диабетом 1-го типа составляет 256,2 тысячи человек с ежегодным приростом около 10 тысяч новых случаев [1]. По прогнозам ВОЗ, к 2030 году число больных сахарным диабетом увеличится до 552 миллионов, что, несомненно, делает сахарный диабет пандемией неифекционной этиологии.

Одним из вариантов хирургического лечения сахарного диабета в терминальной стадии диабетической нефропатии является сочетанная трансплантация почки и поджелудочной железы. Данный метод лечения позволяет ликвидировать почечную недостаточность, добиться истинной инсулинонезависимости и значительно повысить качество жизни пациентов. По данным Global observatory on donation and transplantation (GODT), в 2018 году в мире было выполнено 2338 трансплантаций, из них лишь 17 – в нашей стране [2]. Такое незначительное в сравнении

Для корреспонденции: Журавель Никита Сергеевич. Адрес: 129090, Москва, Большая Сухаревская площадь, д. 3, корпус 2. Тел. (906) 703-05-42. E-mail: zhuravelns@gmail.com

Corresponding author: Nikita Zhuravel. Address: 3/2, Bolshaya Sukharevskaya Ploshchad, Moscow, 129090, Russian Federation. Phone: (906) 703-05-42. E-mail: zhuravelns@gmail.com

с другими солидными органами количество операций обусловлено дефицитом пригодных донорских органов, наиболее жесткими требованиями к их качеству, а также сравнительно высокой частотой утраты трансплантата поджелудочной железы вследствие хирургических и иммунологических осложнений.

Первая попытка трансплантации поджелудочной железы была выполнена в 1913 году Hendon в эксперименте на животном [3]. Впервые успешная трансплантация поджелудочной железы человеку была выполнена William D. Kelly и Richard C. Lillehei 17 декабря 1966 г. в университете Миннесоты (США). Они выполнили одномоментную пересадку почки и сегмента поджелудочной железы с лигированным главным панкреатическим (Вирсунговым) протоком 28-летней пациентке с терминальной диабетической нефропатией. Авторы разработали и применили способ артериальной реконструкции трансплантата Y-образным сосудистым аллопротезом (Y-graft), т. е. методику, по сей день используемую в большинстве трансплантологических центров в качестве классической техники реваскуляризации панкреатодуоденального трансплантата [4].

Учитывая тот факт, что нативная поджелудочная железа кровоснабжается 3 основными артериями, некоторые хирурги стремятся модифицировать эту методику для достижения максимально физиологичной реваскуляризации органа. Другие же, напротив, стремятся упростить схему артериальной реконструкции, предлагая минимизировать количество сосудистых анастомозов в ходе операции. В то же время предложены методики, позволяющие использовать те органы, которые ранее признавались нетрансплантабельными из-за невозможности выполнить Y-graft-реконструкцию. Также возникают случаи, когда хирургам приходится модифицировать классическую методику из-за физиологических особенностей донорского органа или реципиента.

Данный обзор посвящен анализу используемых видов артериальной реконструкции и способов реваскуляризации трансплантатов ПЖ с момента ее первой трансплантации в 1966 году до настоящего времени в различных трансплантационных центрах.

МЕТОДИКИ ВОССТАНОВЛЕНИЯ СЕЛЕЗЕНОЧНОЙ И ВЕРХНЕЙ БРЫЖЕЕЧНОЙ АРТЕРИЙ

С момента первой пересадки поджелудочной железы прошло более 50 лет, однако методика Y-graft-реконструкции артериального русла актуальна и по сей день. Данная техника заключается в том, что на этапе предоперационной подготовки между верхней брыжеечной и селезеночной артериями трансплантата формируют единое артериальное соустье с использованием Y-образного аллопротеза. Как правило, Y-graft представляет собой участок бифуркации общей подвздошной артерии донора. Также может быть использована бифуркация общей сонной или бедренной артерии. На этапе трансплантации формируют анастомоз между Y-graft и общей подвздошной, реже – наружной, артерией реципиента. Такая техника реваскуляризации панкреатодуоденального комплекса считается классической в большинстве трансплантационных центров. В клинике Университета Миннесоты, где пересадка поджелудочной железы была выполнена впервые в мире, с 1966-го по 2016 г. проведено 2256 трансплантаций ПЖ, и все – с использованием данной методики [5, 6]. Согласно опубликованному отчету, частота серьезных артериальных осложнений в этом центре составила 1,1% (10 артериокишечных фистул с желудочно-кишечным кровотечением, 3 артериопузырные фистулы, 3 артериовенозные фистулы, 1 артериомочеточниковая фистула, 7 ложных аневризм) [7].

Agnieszka Surowiecka-Pastewka с соавт. проанализировали 200 трансплантаций поджелудочных желез, выполненных в одном центре. Они использовали классическую технику при реваскуляризации трансплантата, при этом частота артериальных осложнений составила 3% (2 летальных исхода). У одного пациента при ревизии был выявлен разрыв участка наружной подвздошной артерии с массивным кровотечением. Из-за плотного инфильтрата наложить швы открытым способом было затруднительно, и было выполнено эндоваскулярное стентирование данного участка. При контрольном КТ-исследовании данных за кровотечение получено не было. В одном наблюдении через 6 месяцев после трансплантации сформировалась артериокишечная фистула. В дальнейшем у пациента развилось ЖКК, эндоскопическим способом остановить кровотечение не удалось, панкреатодуоденальный трансплантат был удален. Еще в одном случае у пациента с повторной трансплантацией в раннем послеоперационном периоде был выявлен стеноз общей подвздошной артерии проксимальнее анастомоза, в связи с чем было выполнено эндоваскулярное стентирование артерии. При контрольном исследовании повторного стеноза выявлено не было [8].

L. Grabowska-Derlatka и соавт. в своем центре используют классическую методику реваскуляризации трансплантата с МСКТ брюшной полости всем реципиентам на 6–8-е сутки после операции. Из 60 наблюдений в 9 случаях был диагностирован внутриорганный тромбоз, еще у 17 реципиентов – тромбоз крупных сосудов панкреатодуоденального комплекса. Половина этих наблюдений завершилась удалением трансплантата [9].

В клинике Бротцу с 2005-го по 2014 г. было выполнено 27 трансплантаций поджелудочной железы с использованием классической техники реваскуля-

ризации. Сосудистых осложнений не было отмечено ни в одном случае [10].

Интересная хирургическая техника была описана Paul L. Tso с соавт. У 5 реципиентов с тотальным тромбозом верхней полой вены и выраженным кальцинозом подвздошных артерий тунелированный центральный венозный катетер для проведения гемодиализа был установлен в левую подвздошную вену. При проведении этим больным сочетанной трансплантации почки и поджелудочной железы авторы использовали оригинальную модификацию классической техники: на этапе предоперационной подготовки артерию трансплантата почки по типу «конец в конец» анастомозировали с внутренней подвздошной артерией Y-graft (рис. 1). Верхнюю брыжеечную артерию трансплантата поджелудочной железы анастомозировали с наружной подвздошной артерией Y-graft также по типу «конец в конец». Далее формировали анастомоз между селезеночной и верхней брыжеечной артериями трансплантата по типу «конец в бок» [11]. Затем накладывали анастомоз между единым артериальным устьем трансплантатов и небольшим свободным от кальциноза участком наружной подвздошной артерии реципиента. Из 5 пациентов, которым они выполнили трансплантацию данным методом, у 1 пациента сформировалась псевдоаневризма в области анастомоза селезеночной и верхней брыжеечной артерий с развитием желудочно-кишечного кровотечения. Это осложнение потребовало проведения трансплантатэктомии. У остальных реципиентов серьезных осложнений отмечено не было, функция трансплантатов была удовлетворительной [12].

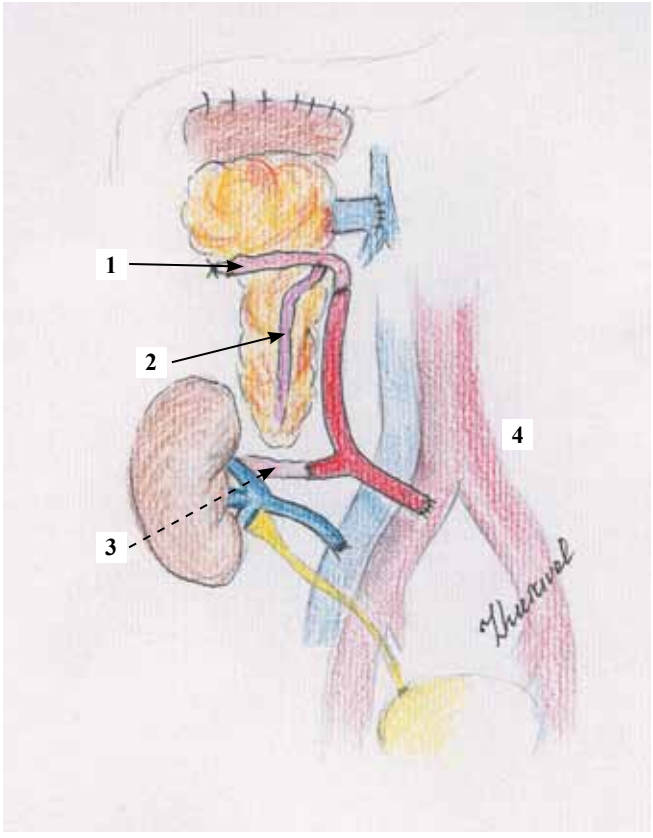

Рис. 1. Реваскуляризация трансплантатов у пациентов с выраженным кальцинозом подвздошных артерий. 1 – донорская верхняя брыжеечная артерия; 2 – донорская селезеночная артерия; 3 – донорская почечная артерия; 4 – аорта

Fig. 1. Graft revascularization in patients with severely calcified iliac arteries. 1 – Donor superior mesenteric artery; 2 – Donor splenic artery; 3 – Donor renal artery; 4 – Aorta

В некоторых случаях при трансплантации поджелудочной железы выявляются причины, по которым использование классической техники не представляется возможным. В таких случаях хирургами используются ее различные модификации. Так, интересное клиническое наблюдение описал David F. Mercer. В ходе сочетанной пересадки после реперфузии панкреатодуоденального комплекса хирургам пришлось выполнить немедленную трансплантатэктомию из-за ишемии донорского панкреатико-дуоденального сегмента и резкого нарушения кровотока по наружной подвздошной артерии реципиента. Причиной была протяженная атеросклеротическая бляшка в области анастомоза. Пораженный участок артерии был иссечен, дефект артериальной стенки восстановлен с помощью синтетической «заплатки» Gore-Tex® (W. L. Gore and Associates, Flagstaff, AR, USA). Спустя 5 дней пациенту была выполнена ретрансплантация поджелудочной железы, в ходе которой синтетический протез был удален. С целью закрытия артериального дефекта был применен следующий способ: наружная подвздошная артерия донорского Y-graft была отсечена от бифуркации общей подвздошной артерии и рассечена вдоль линейным разрезом. Таким образом, из донорского Y-graft хирурги получили аллогенную «заплатку» длиной 6 см, с помощью которой восстановили целостность наружной подвздошной артерии реципиента. В свою очередь, Y-graft был использован для формирования общего артериального устья панкреатодуоденального трансплантата, которое в дальнейшем было успешно анастомозировано с аллогенной артериальной «заплаткой» [13]. Ciancio с соавт. в качестве Y-graft использовали участок плечеголовного ствола с подключичной и общей сонной артериями, так как подвздошные артерии донора были кальцинированы и непригодны для реконструкции. На этапе предтрансплантационной подготовки были сформированы анастомозы между верхней брыжеечной и подключичной, между селезеночной и общей сонной артериями (рис. 2). При трансплантации сформировали анастомоз между основанием плечеголовного ствола донора и общей подвздошной артерией реципиента [14]. В похожем случае de Miranda с соавт. использовали в качестве

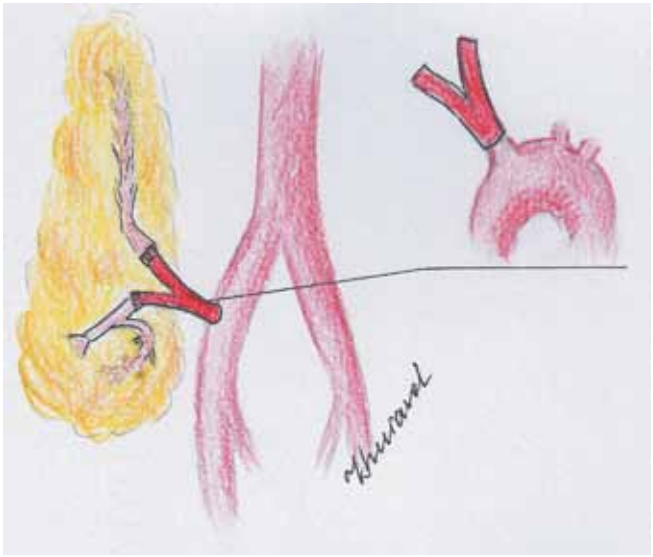

Рис. 2. Формирование Y-графта с использованием бифуркации плечеголовного ствола

Fig. 2. Formation of a Y-shaped graft through bifurcation of brachiocephalic trunk

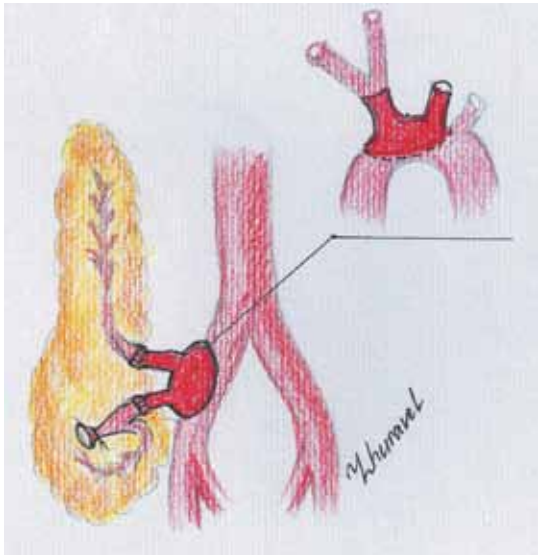

Рис. 3. Формирование Y-графта с использованием участка дуги аорты с плечеголовным стволом и левой общей сонной артерии

Fig. 3. Formation of a Y-shaped graft using a section of the aortic arch with the brachiocephalic trunk and the left common carotid artery

Y-graft участок дуги аорты с плечеголовным стволом и левой общей сонной артерией (рис. 3) [15]. Mizrahi с соавт. осуществили реваскуляризацию поджелудочной железы без Y-graft. Они накладывали анастомоз между верхней брыжеечной артерией трансплантата и общей подвздошной артерией реципиента, предварительно соединив селезеночную и верхнюю брыжеечную артерии панкреатодуоденального комплекса по типу «конец в бок» (рис. 4) [16]. Troppmann и соавт. сообщили о возможности формирования отдельных артериальных анастомозов с наружной и внутренней подвзошными артериями реципиента, также без использования Y-graft [17]. В случаях, когда при трансплантации венозный отток осуществляют в систему портальной вены, использовать Y-graft становится затруднительно из-за его недостаточной длины. В таких случаях Bigam предложил формировать дополнительный анастомоз между донорским плечеголовным стволом и участком подвздошной артерии реципиента, после чего восстанавливать кровоснабжение трансплантата с помощью соединения плечеголовного ствола и Y-graft по типу «конец в конец» (рис. 5) [18].

АРТЕРИАЛЬНАЯ РЕВАСКУЛЯРИЗАЦИЯ ПАНКРЕАТОДУОДЕНАЛЬНОГО ТРАНСПЛАНТАТА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ «CARREL PATCH»

Для снижения частоты сосудистых осложнений и количества артериальных анастомозов при трансплантации поджелудочной железы Wen-wei Liao с соавт. модифицировали сосудистую реконс-

Рис. 4. Реваскуляризация трансплантата через верхнюю брыжеечную артерию с предварительным соединением по типу «конец в бок» селезеночной с верхней брыжеечной артерией

Fig. 4. Graft revascularization through the superior mesenteric artery with preliminary end-to-side connection of the splenic to superior mesenteric artery

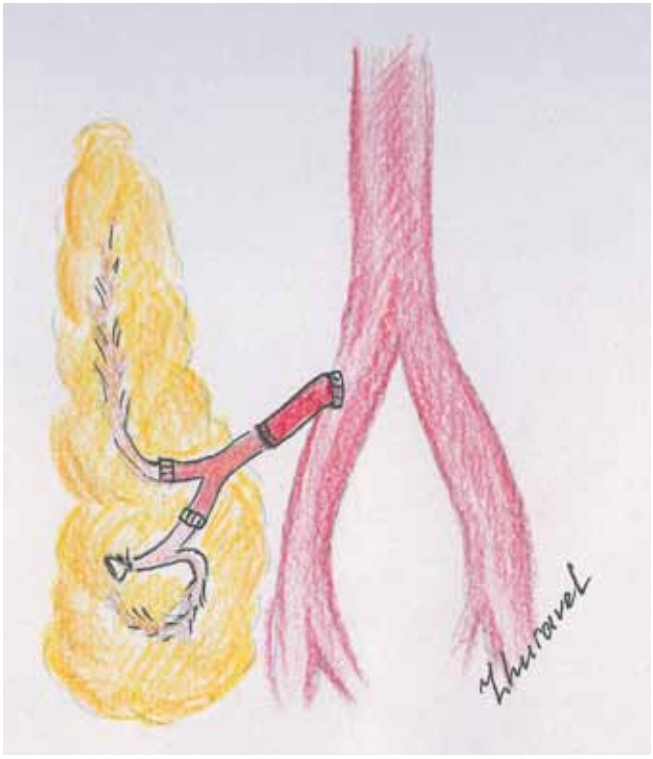

Рис. 5. Использование дополнительного участка плечеголовного ствола для увеличения длины сосудистого Y-графта

Fig. 5. Using an additional section of the brachiocephalic trunk to lengthen the vascular Y-shaped graft

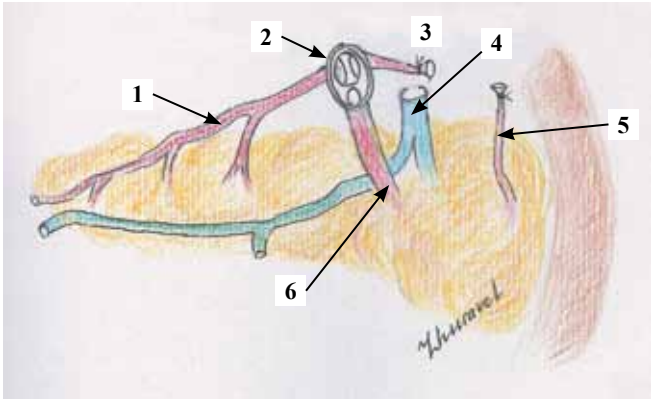

Рис. 6. Реваскуляризация трансплантата с применением carrel patch: 1 – селезеночная артерия; 2 – carrel patch; 3 – общая печеночная артерия; 4 – воротная вена; 5 – гастродуоденальная артерия; 6 – верхняя брыжеечная артерия

Fig. 6. Graft revascularization using the Carrel patch: 1 – Splenic artery; 2 – Carrel patch; 3 – Common hepatic artery; 4 – Portal vein; 5 – Gastroduodenal artery; 6 – Superior mesenteric artery

трукцию органа, основываясь на международном опыте. В сентябре 2019 г. они опубликовали работу, в которой предложили не выполнять сосудистую реконструкцию на дотрансплантационном этапе. Во время мультиорганного изъятия хирурги пересекали общую печеночную артерию после разделения чревного ствола, что позволяло им оставлять селезеночную и верхнюю брыжеечную артерии с чревным стволом на одной площадке с участком аорты (рис. 6). Такая техника изъятия обеспечила возможность выполнять реваскуляризацию донорского органа, формируя один артериальный анастомоз, без предварительного формирования Y-graft. Эта модификация, по словам авторов, теоретически может снизить частоту сосудистых осложнений, вызванных тромбозом, кровотечением и длительной холодовой ишемией, так как вместо трех (при классическом варианте) формируется один артериальный анастомоз, что уменьшает количество зон риска и время на предтрансплантационную подготовку панкреатодуоденального комплекса. Из 12 реципиентов, которым была выполнена трансплантация поджелудочной железы с использованием этой методики, ни в одном случае не было выявлено сосудистых осложнений. Функция трансплантатов во всех 12 наблюдениях была признана удовлетворительной [19].

Ранее похожая методика была описана J. Paulino с соавт. В своей работе они сделали акцент на технику «поперечной» трансплантации поджелудочной железы. Но не менее важным представляется и примененная авторами методика реваскуляризации трансплантата. В 64 оперативных вмешательствах они формировали анастомоз между общей площадкой аорты донора, с чревным стволом и верхней брыжеечной артерией, и общей подвздошной артерией реципиента. Утрата трансплантата поджелудочной железы наблюдалась в 7,1% случаев, а основной причиной являлся венозный тромбоз. При этом осложнений со стороны артериального анастомоза отмечено не было [20].

ИЗОЛИРОВАННОЕ КРОВОСНАБЖЕНИЕ ПАНКРЕАТОДУОДЕНАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ПО СЕЛЕЗЕНОЧНОЙ АРТЕРИИ

В некоторых случаях после изъятии трансплантата печени верхняя брыжеечная артерия, кровоснабжающая поджелудочную железу, остается слишком короткой для выполнения типичной артериальной реконструкции, так как устье нижней панкреатодуоденальной артерии при наложении сосудистого анастомоза неизбежно оказывается скомпрометированным. Ранее в таких случаях поджелудочная железа считалась непригодной для трансплантации. В то же время при МСКТ-обследовании реципиентов с успешно функционирующим панкреатодуоденальным комплексом, как правило, обнаруживается хорошо развитая сеть сосудистых коллатералей между бассейнами селезеночной и верхней брыжеечной артерий. В связи с высокой встречаемостью подобной

сосудистой архитектоники была предложена и апробирована на практике методика реваскуляризации панкреатодуоденального комплекса изолированно через селезеночную артерию. Для определения наличия достаточного количества коллатералей был предложен специальный тест, при положительном результате которого трансплантат может быть успешно пересажен с восстановлением артериального кровотока только по селезеночной артерии. С 2012-го по 2018 г. из 21 реципиента, которым была выполнена сочетанная трансплантация почки и поджелудочной железы, в 6 наблюдениях оперативное вмешательство было произведено по данной методике. Контрольной группе реципиентов выполняли реваскуляризацию, используя классическую технику артериальной реконструкции. Сосудистых осложнений у реципиентов обеих групп не наблюдалось. При контрольной МСКТ панкреатодуоденального трансплантата статистически значимых различий в параметрах объемного кровотока в контрольной группе и группе сравнения выявлено не было [21].

ПОЛНАЯ РЕКОНСТРУКЦИЯ МАГИСТРАЛЬНЫХ АРТЕРИЙ, КРОВОСНАБЖАЮЩИХ ПОДЖЕЛУДОЧНУЮ ЖЕЛЕЗУ

Хирурги некоторых центров при трансплантации поджелудочной железы считают целесообразным восстановливать кровообращение трансплантата по всем трем основным артериям, кровоснабжающим поджелудочную железу – гастродуоденальной, селезеночной и нижней панкреатодуоденальной (т. е. верхней брыжеечной). Одним из практических способов реализации этого обоснованного стремления является вставка Y-graft между гастродуоденальной и селезеночной артериями, с последующим формированием общей площадки с верхней брыжеечной артерией (рис. 7). Такая техника позволяет пересаживать даже органы, имеющие ятрогенные повреждения артерий, без развития ишемического повреждения трансплантата вследствие недостаточности внутриорганного кровообращения [22]. C. Socci с соавт. проанализировали исходы лечения 199 пациентов, которым выполнили трансплантацию поджелудочной железы. В 60% случаев авторы восстанавливали кровоснабжение трансплантата по гастродуоденальной артерии с использованием Y-graft. В остальных случаях использовали классическую технику сосудистой реконструкции. Из осложнений, развившихся в послеоперационном периоде, авторы описывают возникновение желудочно-кишечных кровотечений, при этом в 85% случаев их развития реваскуляризация поджелудочной железы проводилась по классической методике [23].

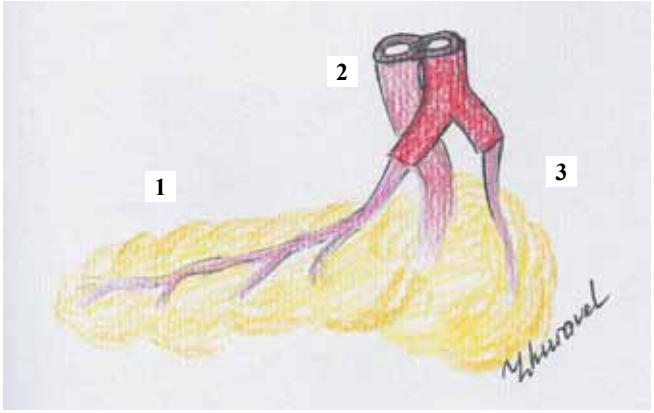

Рис. 7. Восстановление трансплантата по 3 основным артериям: 1 – селезеночная артерия; 2 – верхняя брыжеечная артерия; 3 – гастродуоденальная артерия

Fig. 7. Graft revascularization via 3 main arteries: 1 – Splenic artery; 2 – Superior mesenteric artery; 3 – Gastroduodenal artery

ОБСУЖДЕНИЕ

В кровоснабжении ПЖ участвуют 3 основные артерии. При использовании классической методики реваскуляризации кровоснабжение органа восстанавливается по двум из них – нижней панкреатодуоденальной (ветви верхней брыжеечной) и селезеночной. В таком случае кровоснабжение паренхимы трансплантата идет по нижним передним и задним панкреатодуоденальным артериям, дорсальной артерии ПЖ, артерии хвоста ПЖ и большой артерии ПЖ. При этом из-за отсутствия реваскуляризации гастродуоденальный артерии кровообращение по верхним передней и задней панкреатодуоденальным артериям и в некоторых случаях верхнедуоденальной артерии осуществляется ретроградно, из внутриорганных сосудистых коллатералей. Теоретически это может приводить к недостаточности кровообращения в районе головки ПЖ и культи донорской двенадцатиперстной кишки. Учитывая наличие анастомозов между верхними и нижними панкреатодуоденальными артериями, метод с использованием Y-graft признается большинством специалистов как достаточный и наиболее оптимальный. В то же время формирование трех артериальных анастомозов может увеличивать риск развития сосудистых осложнений, таких как стенозы, тромбозы, аневризмы анастомозов. Методика формирования анастомоза между аортальной площадкой (carrel patch) трансплантата и подвздошной артерией реципиента снижает риски развития сосудистых осложнений и уменьшает время тепловой ишемии. Однако при мультиорганном изъятии участок аорты, необходимый для артериальной площадки, в большинстве случаев используется при трансплантации печени.

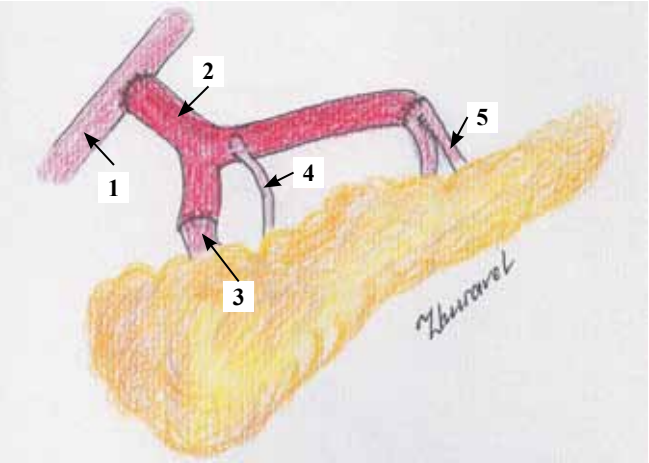

Рис. 8. Дополнительная реваскуляризация дорсальной артерии поджелудочной железы и дополнительной селезеночной артерии: 1 – нативная наружная подвздошная артерия; 2 – общая подвздошная артерия; 3 – верхняя брыжеечная артерия; 4 – дорсальная артерия поджелудочной железы; 5 – объединенные селезеночные артерии

Fig. 8. Additional revascularization of the dorsal pancreatic artery and accessory splenic artery: 1 – Native external iliac artery; 2 – Common iliac artery; 3 – Superior mesenteric artery; 4 – Dorsal pancreatic artery; 5 – Syndactylized splenic arteries

Восстановление гастродуоденальной артерии может улучшить кровоснабжение головки ПЖ и двенадцатиперстной кишки, предотвращая ее ишемию. Однако при таком способе увеличивается количество анастомозов, что увеличивает время ишемии органа и количество потенциально опасных, «слабых» мест для возникновения сосудистых осложнений. Методика с восстановлением кровообращения трансплантата изолированно по селезеночной артерии также доказала свою эффективность в случаях, когда длина верхней брыжеечной артерии не позволяет сформировать анастомоз с применением любой другой техники. Однако она может быть безопасно использована только при интенсивном развитии артериальных коллатералей в паренхиме трансплантата.

Также во время изъятия и предтрансплантационной подготовки не следует забывать о важности дорсальной артерии ПЖ, которая может отходить не только от селезеночной, но и от общей печеночной артерии, и даже чревного ствола. При ее повреждении кровоснабжение органа нарушается настолько значимо, что может привести к ишемии крупного участка паренхимы с соответствующими тяжелыми осложнениями и последствиями [24]. Кроме того, в ряде случаев встречается вариантная анатомия поджелудочной железы, включающая помимо дорсальной артерии еще и удвоение селезеночной артерии. В этом случае для достаточной реваскуляризации трансплантата может быть использована модификация Y-graft методики, при которой две селезеночные артерии соединяются между собой по типу «бок в бок» с формированием единого артериального устья, которое затем анастомозируют с внутренней подвздошной артерией Y-graft. Дорсальная артерия также может быть присоединена к Y-graft по типу «конец в бок» (рис. 8) [25].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в настоящее время предложено достаточно много вариантов реваскуляризации донорской поджелудочной железы в ходе ее трансплантации. Каждая методика имеет свои преимущества и недостатки, даже при использовании классической техники встречается достаточно большое количество осложнений со стороны артериальных анастомозов, что побуждает хирургов всего мира разрабатывать и применять новые модификации и варианты реваскуляризации трансплантата. Окончательный выбор методики зависит от анатомических особенностей трансплантата, конкретной хирургической ситуации и предпочтений специалистов центра, в котором производится пересадка поджелудочной железы.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Шестакова МВ, Викулова ОК, Железнякова АВ, Исаков МА, Дедов ИИ.* Эпидемиология сахарного диабета в Российской Федерации: что изменилось за последнее десятилетие? *Терапевтический архив*. 2019; 91 (10): 4–13. *Shestakova MV, Vikulova OK, Zheleznyakova AV, Isakov MA, Dedov II.* Diabetes epidemiology in Russia: what has changed over the decade? *Terapevticheskii arkhiv*. 2019; 91 (10): 4–13. (in Russ, English abstract). https://doi.org/10.26442/00403660.2019.10.000364.
2. Global observatory on donation and transplantation – 2018 [Internet] [updated 2020 August 11]. Available from: http://www.transplant-observatory.org/summary/.
3. *Starzl T, Thai N, Shapiro R.* The history of pancreas transplantation. In: Corry RJ (ed.) *Pancreatic transplantation*. New York: Springer; 2006: 21–31.
4. *Kelly WD, Lillehei RC, Merkel FK, Idezuki Y, Goetz FC.* Allotransplantation of the pancreas and duodenum along with the kidney in diabetic nephropathy. *Surgery*. 1967; 61 (6): 827–837. PMID: 5338113.
5. *Gruessner RWG, Sutherland DER*. (eds.) Transplantation of the Pancreas. New York: Springer; 2004.
6. *Sutherland DE, Gruessner RW*, *Dunn DL, Matas AJ, Humar A, Kandaswamy R et al*. Lessons learned from more than 1,000 pancreas transplants at a single institution. *Ann Surg*. 2001; 233 (4): 463–501. PMID: 11303130. https://doi.org/10.1097/00000658-200104000-00003.
7. *Yadav K, Young S, Finger EB, Kandaswamy R, Sutherland DER, Golzarian J, Dunn TB.* Significant arterial

complications after pancreas transplantation – A single-center experience and review of literature. *Clin Transplant*. 2017; 31 (10). PMID: 28787529. https://doi.org/10.1111/ctr.13070.

8. *Surowiecka-Pastewka A, Matejak-Górska M, Frączek M, Sklinda K, Walecki J, Durlik M*. Endovascular Interventions in Vascular Complications After Simultaneous Pancreas and Kidney Transplantations: A Single-Center Experience. *Ann Transplant*. 2019; 24: 199–207. PMID: 30975974. https://doi.org/10.12659/AOT.912005.
9. *Grabowska-Derlatkaa L, Grochowiecki T, Pacho R, Rowiński O, Szmidt J*. Role of 16-Multidetector Computerized Tomography in Evaluation of Graft Failure Risk in Patients with Pancreatic Graft Thrombosis After Simultaneous Pancreas and Kidney Transplantation. *Transplant Proc*. 2014; 46 (8): 2822–2824. PMID: 25380927. https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2014.09.073.
10. *Tondolo V, Manunza R, Pellegrino RA, Zamboni F*. Pancreas Transplantation: Small-Center Experience in Type 1 Diabetes Mellitus in a High-Incidence Region. *Transplant Proc*. 2015; 47 (7): 2169–2172. PMID: 26361670. https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2014.11.070.
11. *Troppmann C, Gruessner AC, Benedetti E, Papalois BE, Dunn DL, Najarian JS et al*. Vascular graft thrombosis after pancreatic transplantation: univariate and multivariate operative and nonoperative risk factor analysis. *J Am Coll Surg*. 1996; 182 (4): 285–316. PMID: 8605554.
12. *Tso PL, Cash MP, Pearson TC, Larsen CP, Newell KA*. Simultaneous Pancreas-Kidney Transplantation Utilizing a Common Arterial Conduit: Early Experience and Potential Applications. *Am J Transplant*. 2003 Nov; 3 (11): 1440–1443. PMID: 14525607. https://doi.org/10.1046/j.1600-6135.2003.00236.x.
13. *Mercer DF, Rigley T, Stevens RB*. Extended donor iliac arterial patch for vascular reconstruction during pancreas transplantation. *Am J Transplant*. 2004; 4 (5): 834–837. PMID: 15084183. https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2004.00422.x.
14. *Ciancio G, Olson L, Burke GW*. The use of the brachiocephalic trunk for arterial reconstruction of the whole pancreas allograft for transplantation. *J Am Coll Surg*. 1995; 181 (1): 79–80. PMID: 7599778.
15. *De Miranda MP, Genzini T, Gil AO, Tacconi M, Gama-Rodrigues J*. Use of a donor aortic cross for arterial reconstruction of the pancreaticoduodenal allograft. *Clin Transplant*. 1998; 12 (3): 165–167. PMID: 9642505.
16. *Mizrahi S, Boudreaux JP, Hayes DH, Hussey JL*. Modified vascular reconstruction for pancreaticoduodenal allograft. *Surg Gynecol Obstet*. 1993; 177 (1): 89–90. PMID: 8322161.
17. *Troppmann C, Gruessner AC, Benedetti E, Papalois BE, Dunn DL, Najarian JS et al*. Vascular graft thrombosis after pancreatic transplantation: univariate and multivariate operative and nonoperative risk factor analysis. *J Am Coll Surg*. 1996; 182 (4): 285–316. PMID: 8605554.
18. *Bigam DL, Hemming AW, Sanabria JR, Cattral MS*. Innominate artery interposition graft simplifies the portal venous drainage method of pancreas transplantation. *Transplantation*. 1999; 68 (2): 314–315. PMID: 10440410. https://doi.org/10.1097/00007890-199907270-00029.
19. *Liao W-W, Ling X-C, Zhang C, Liu F-R, Zhu X-F, He X-S, Hu A-B*. Novel surgical technique and efficacy analysis of donor pancreas preparation without vascular reconstruction in pancreas transplantation. *J Int Med Res*. 2019; 47 (12): 6182–6191. PMID: 31500486. https://doi.org/10.1177/0300060519870894.
20. *Paulino J, Martins A, Vigia E, Marcelino P, Nobre AM, Bicho L et al.* Simultaneous Kidney-Pancreas Transplantation With an Original «Transverse Pancreas» Technique: Initial 9 Years' Experience With 56 Cases. *Transplant Proc*. 2017; 49 (8): 1879–1882. PMID: 28923641. https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2017.04.015.
21. *Pinchuk AV, Dmitriev IV, Anisimov YA, Storozhev RV, Balkarov AG, Kondrashkin AS et al.* Pancreas transplantation with isolated splenic artery blood supply – Single center experience. *Asian J Surg*. 2020; 43 (1): 315–321. PMID: 31301933. https://doi.org/10.1016/j.asjsur.2019.06.011.
22. *Miyagi S, Shimizu K, Miyazawa K, Nakanishi W, Hara Y, Tokodai K et al.* A Case of Successful Simultaneous Pancreas-Kidney Transplantation Using the Injured Pancreas Graft. *Transplant Proc*. 2017; 49 (10): 2315–2317. PMID: 29198668. https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2017.10.017.
23. *Socci C, Orsenigo E, Zuber V, Caldara R, Castoldi R, Parolini D et al.* Triple arterial reconstruction improves vascularization of whole pancreas for transplantation. *Transplant Proc*. 2006; 38 (4): 1158–1159. PMID: 16757294. https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2006.02.020.
24. *Baranski AG, Lam HD, Braat AE, Schaapherder AF*. The dorsal pancreatic artery in pancreas procurement and transplantation: anatomical considerations and potential implications. *Clin Transplant*. 2016; 30 (10): 1360–1364. PMID: 27555344. https://doi.org/10.1111/ctr.12814.
25. *Adamson D, Holzner ML, Wadhera V, Shapiro R*. Reconstruction of a Pancreatic Allograft With Variant Arterial Anatomy for Transplantation. *Transplant Direct*. 2019; 5 (2): e425. PMID: 30882029. https://doi.org/10.1097/TXD.0000000000000863.

Статья поступила в редакцию 13.08.2020 г.
The article was submitted to the journal on 13.08.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-4-162-167

ЛЕЧЕНИЕ ЭКСПИРАТОРНОГО СТЕНОЗА ТРАХЕИ В СОЧЕТАНИИ С БРОНХОЭКТАТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ У РЕЦИПИЕНТА ДОНОРСКИХ ЛЕГКИХ (ПЕРВОЕ НАБЛЮДЕНИЕ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ)

И.В. Пашков, А.В. Никулин, Д.О. Олешкевич, М.Т. Беков, Р.А. Латыпов, Е.Ф. Шигаев, А.Г. Сухорукова, В.Н. Попцов, Е.А. Спирина, Е.В. Лебедев, Я.С. Якунин

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

Трансплантация легких – единственный радикальный метод лечения заболеваний легких в терминальной стадии дыхательной недостаточности. К 2019 году в мире выполнено 63 530 трансплантаций легких [13]. В силу многообразия заболеваний, приводящих пациентов к пересадке легких, существует широкий спектр различных осложнений и состояний, которые подлежат индивидуальному клиническому подходу для определения тактики лечения. Каждый случай представляет огромный интерес с клинической точки зрения в силу небольшого количества данных операций и сложности послеоперационной реабилитации, требующей мультидисциплинарного подхода [12]. Мы представляем клиническое наблюдение хирургического лечения экспираторного стеноза трахеи в сочетании с бронхоэктатической болезнью у пациента после трансплантации легких.

Ключевые слова: трансплантация легких, мультидисциплинарный подход, экспираторный стеноз трахеи, бронхоэктатическая болезнь.

TREATMENT OF EXPIRATORY TRACHEAL STENOSIS IN COMBINATION WITH BRONCHIECTASIS IN A LUNG RECIPIENT (INITIAL REPORT IN THE RUSSIAN FEDERATION)

I.V. Pashkov, A.V. Nikulin, D.O. Oleshkevich, M.T. Bekov, R.A. Latypov, E.F. Shigaev, A.G. Suchorukova, V.N. Poptsov, E.A. Spirina, E.V. Lebedev, Ya.S. Yakunin

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

Lung transplantation is the final treatment option for end-stage lung failure. In 2019, 63,530 lung transplants were performed worldwide [13]. Due to the variety of diseases causing patients to resort to lung transplant surgeries, there is a wide range of different complications and conditions that are subject to an individual clinical approach to determine treatment tactics. Each case is of great clinical interest due to the small amount of these operations and the complexity of postoperative rehabilitation, which requires a multidisciplinary approach [12]. We present a report on a surgical treatment of expiratory tracheal stenosis in combination with bronchiectasis in a lung recipient.

Keywords: lung transplantation, multidisciplinary approach, expiratory tracheal stenosis, bronchiectasis.

ВВЕДЕНИЕ

Пациенты после трансплантации легких имеют повышенный риск развития инфекционных осложнений, в частности, образования бронхоэктазов, ввиду нарушения кровоснабжения бронхиального дерева и приема иммуносупрессивных препаратов. Основными факторами развития последних являются: локальный воспалительный процесс в бронхах и обструктивный ателектаз. Прогрессированию воспалительного процесса способствует обструкция

Для корреспонденции: Пашков Иван Владимирович. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (495) 190-35-62. E-mail: dr.pashkov.ivan@gmail.com

Corresponding author: Ivan Pashkov. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (495) 190-35-62. E-mail: dr.pashkov.ivan@gmail.com

просвета бронха. Ввиду нарастания воспалительных изменений происходит перестройка мерцательного эпителия в сторону замещения на многослойный плоский эпителий, что, в свою очередь, нарушает процессы мукоцилиарного клиренса. Нарушение микроциркуляции приводит к дегенерации и дистрофическому перерождению гладкомышечных волокон и хрящевой пластинки бронхов с последующим замещением ее соединительной тканью. В создавшихся условиях повышение внутрибронхиального давления, например при кашле, приводит к растяжению стенки бронхов и способствует формированию бронхоэктазов [11].

Частота развития экспираторного стеноза составляет 0,4–21,0% [4]. До настоящего времени нет общепринятой теории возникновения экспираторного стеноза трахеи, но часто ему сопутствуют хронические воспалительные процессы в легких. Не всегда однозначно можно утверждать, какой из патофизиологических процессов первичный. Затруднение откашливания мокроты усугубляет хроническое воспаление, которое, в свою очередь, продуцирует образование мокроты, усиливает кашель и приводит к растяжению стенок трахеи. Таким образом, развивается истончение и чрезмерная подвижность задней стенки трахеи, ведущая к развитию экспираторного стеноза [1]. Консервативное лечение данной патологии направлено на улучшение отхождения мокроты и назначения противовоспалительных препаратов [5].

Попытки найти хирургическое решение проблемы экспираторного стеноза трахеи осуществлялись с середины XX века. R. Nissen в 1954 г. впервые использовал костный трансплантат для укрепления мембранозной стенки трахеи [7]. Тогда же H. Herzog предложил использовать апоневроз прямой мышцы живота [2, 3]. Результаты хирургического лечения данной категории больных не всегда удовлетворительные, и учитывая, что подобные операции выполняются достаточно редко, каждое наблюдение представляет клинический интерес [1]. В настоящее время для пластики задней стенки трахеи наиболее часто используются синтетические материалы, такие как полипропиленовые сетки [8, 9] или листы политетрафторэтилена [10]. Кроме того, данные операции обычно выполняются с использованием заднебоковой торакотомии [6].

Сообщения о проведении видеоторакоскопических операций при экспираторном стенозе трахеи единичны. R. Machino et al. в 2020 г. продемонстрировали клиническое наблюдение торакоскопической пликации мембранозной стенки трахеи узловыми швами у пожилого пациента с трахеобронхомаляцией серповидного типа с положительным эффектом. Пациент был выписан на 126-й день после операции [6].

В нашем наблюдении представлен первый в Российской Федерации опыт хирургического лечения экспираторного стеноза трахеи в сочетании с бронхоэктатическим поражением легочного трансплантата.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Описание клинического наблюдения

Пациент П. 61 год, с 2018 года наблюдается в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. акад. В.И. Шумакова» с диагнозом «ХОБЛ; эмфизема легких, крайне тяжелое течение; дыхательная недостаточность 2-й степени, смешанная форма». В августе 2018 года пациент включен в лист ожидания легких от посмертного донора.

В сентябре 2018 года выполнена билатеральная последовательная трансплантация легких от посмертного донора.

Донором стал мужчина 33 лет. Продолжительность на искусственной вентиляции легких (ИВЛ) составила 1 сутки. При обзорной рентгенографии органов грудной клетки очаговых и инфильтративных изменений не выявлено. Индекс оксигенации артериальной крови pO_2/FiO_2 составил 252. По данным видеобронхоскопии отмечено умеренное количество слизистой мокроты. Фармако-холодовая консервация производилась раствором Celsior (IGL, Франция), антеро- и ретроградным способом.

Трансплантация легких выполнена по стандартной методике. Пациент экстубирован и переведен на самостоятельное дыхание через 24 часа. Срок пребывания в отделении реанимации составил 8 суток. Дренажи из плевральных полостей удалены на 8-е сутки. Иммуносупрессивная терапия включала в себя такролимус, метилпреднизолон и микофенолата мофетил.

Ранний послеоперационный период на 24-е сутки осложнился развитием правосторонней нижнедолевой пневмонии, в связи с чем пациенту была снижена дозировка такролимуса. На основании результатов бактериологического исследования бронхоальвеолярного лаважа, по данным которого отмечен рост Ps. aeruginosa, начата многокомпонентная антибактериальная терапия (полимиксин, меропенем, колистиметат натрия, цефтазидим) с положительным эффектом в виде нормализации маркеров воспаления и разрешения клинико-рентгенологической картины пневмонии.

При выполнении контрольной трансбронхиальной биопсии на 30-е сутки было установлено наличие антителоопосредованного острого отторжения трансплантата низкой интенсивности, по поводу которого было проведено 5 сеансов плазмафереза и коррекция иммуносупрессивной терапии. При контрольной трансбронхиальной биопсии трансплантата, после проведенного лечения, признаков

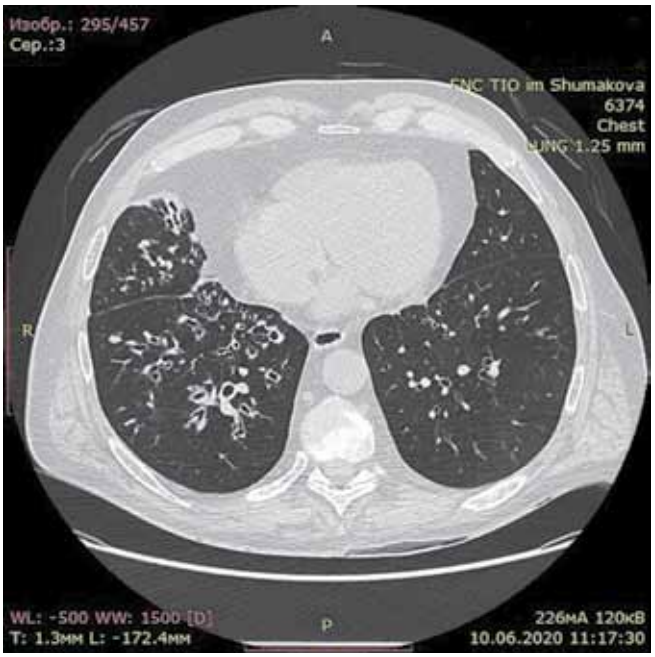

Рис. 1. КТ до операции

Fig. 1. CT before operation

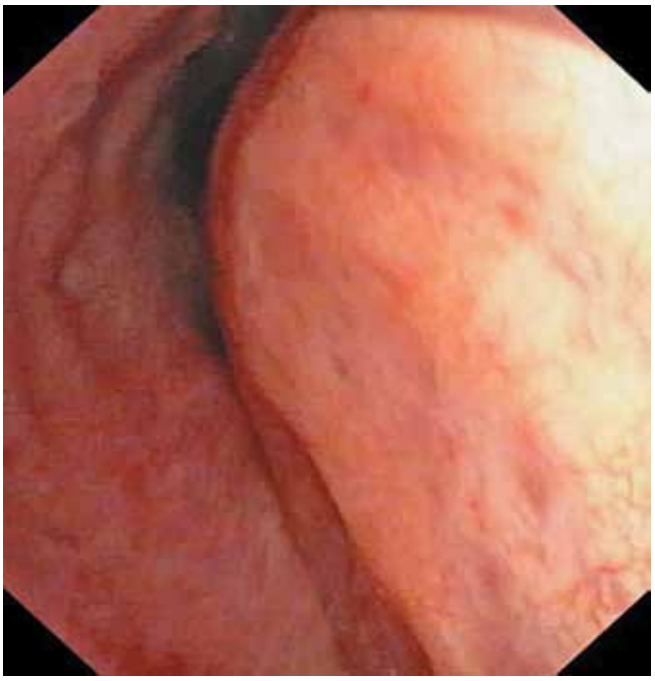

Рис. 2. Экспираторный стеноз нижней трети трахеи

Fig. 2. Expiratory tracheal stenosis in the lower third

отторжения не выявлено. Пациент был выписан из стационара в стабильном состоянии на 54-е сутки после трансплантации.

10.06.2020 г. П. был повторно госпитализирован в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. акад. В.И. Шумакова» с жалобами на выраженный кашель с отхождением обильного количества вязкой гнойной мокроты. Сатурация 92%, потребность в постоянной инсуфляции кислорода через носовые канюли с потоком 7 л/мин. При проведении МСКТ органов грудной клетки были выявлены бронхоэктазы нижней и средней долей правого легкого (рис. 1).

При контрольной видеобронхоскопии выявлен экспираторный стеноз нижней трети мембранозной части трахеи, что значительно затрудняло эвакуацию мокроты (рис. 2).

В отделении проводилась многокомпонентная антибактериальная терапия, подобранная по чувствительности бактериальной флоры, и многократные санационные бронхоскопии с кратковременным положительным эффектом. Проведение неинвазивной вентиляции легких пациенту было противопоказано в связи с наличием бронхоэктазов в средней и нижней долях правого легкого и большого количества трудноотделяемой гнойной мокроты.

С целью ликвидации экспираторного пролапса нижней трети трахеи был применен метод, разработанный М.И. Перельманом в 1987 г., заключающийся в поэтапном склерозировании мембранозной части трахеи путем инъекций раствора глюкозы (40%) и плазмы пациента в соотношении 1/1 [14]. Инъекции выполнялись с интервалом 14 дней.

После выполнения двух этапов эндоскопической склеротерапии отмечена положительная динамика в виде визуального уменьшения пролапса мембранозной части нижней трети трахеи, уменьшения интенсивности кашля, улучшения отхождения мокроты. Однако через несколько суток у пациента повторно развилась клинико-лабораторная картина обострения инфекционного процесса, наросла дыхательная недостаточность, при бронхоскопии отмечен рецидив экспираторного пролапса мембранозной стенки трахеи (рис. 3).

Учитывая нарастающую дыхательную недостаточность и наличие персистирующего инфекционного процесса, принято решение о проведении хирургической операции по жизненным показаниям, целью которой являлась ликвидация очага хронической инфекции и укрепление мембранозной стенки трахеи.

30.07.2020 выполнена видеоассистированная торакоскопическая нижняя билобэктомия справа с одномоментной пластикой нижней трети мембранозной стенки трахеи костным аллотрансплантатом (рис. 4–6).

Ход операции

Положение пациента на левом боку. Раздельная интубация двухпросветной оротрахеальной трубкой. В 7-е межреберье по средне-подмышечной линии введена оптика, в 5-м межреберье между передне- и средне-подмышечной линиями выполнена мини-то-

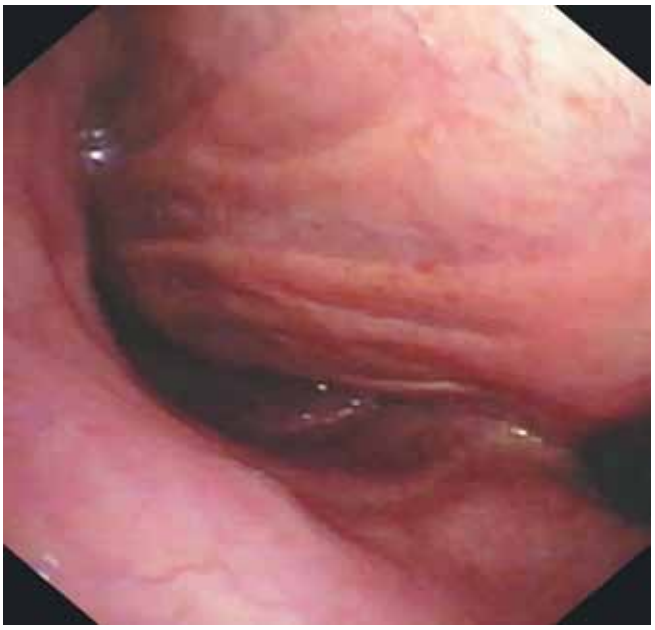

Рис. 3. Рецидив экспираторного пролапса мембранозной стенки трахеи

Fig. 3. Recurrence of expiratory prolapse of the membranous wall of the trachea

ракотомия (3 см). Первым этапом, после выделения легкого из сращений с помощью ультразвукового гармонического скальпеля, выполнена торакоскопическая нижняя билобэктомия справа (рис. 4).

По ходу хирургического доступа в 5-м межреберье для формирования костного аллотрансплантата был резецирован участок 5-го ребра длиной 4 см, разрезан вдоль, сформирована костная пластина, края которой были скруглены. В полученной костной пластинке были сформированы отверстия для шовного материала.

С целью профилактики повреждения манжетки интубационной трубки выполнена реинтубация трахеи однопросветной трубкой под эндоскопическим контролем. Трахея мобилизована в средней и нижней трети, взята на держалку. Произведено подшивание костного аллотрансплантата к мембранозной части трахеи в нижней ее трети отдельными узловыми швами (Prolen 4/0) (рис. 5).

На разрезе макропрепарата обнаружены множественные бронхоэктазы в легочной ткани (рис. 6).

Ранний послеоперационный период осложнился развитием длительной альвеолярной недостаточности, что потребовало наложения искусственного пневмоперитонеума (5 сеансов по 600 мл). Дренаж удален на 5-е сутки. По данным контрольной бронхоскопии отмечается отсутствие пролапса мембранозной части трахеи (рис. 7). По данным контрольной МСКТ органов грудной клетки: верхняя доля правого легкого полностью заполняет правый гемиторакс. Больной субъективно отмечает

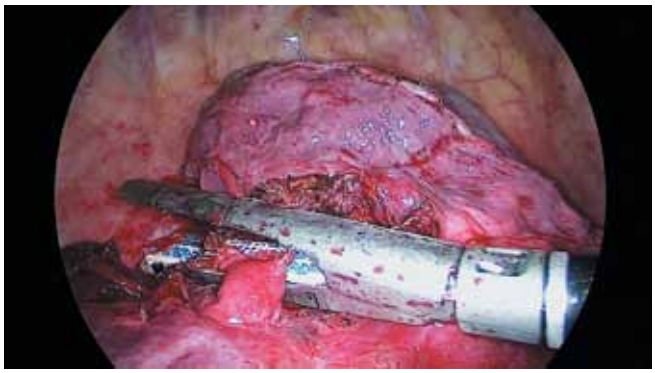

Рис. 4. Этап операции: пересечение артерии базальной пирамиды сшивающим аппаратом

Fig. 4. Transection of basal part of right pulmonary artery with a linear cutter

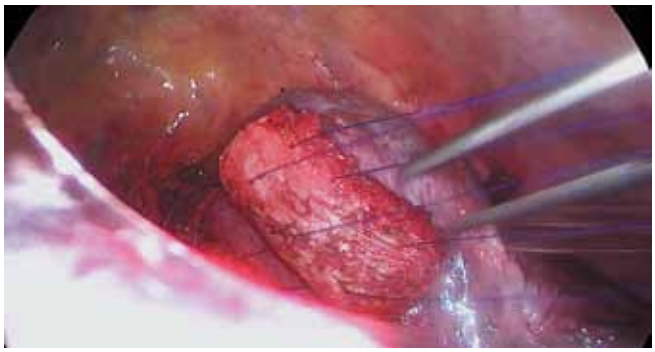

Рис. 5. Этап операции: подшивание костного аллотрансплантата к задней стенке трахеи

Fig. 5. Suturing the bone allograft to the posterior wall of the trachea

Рис. 6. Макропрепарат на разрезе: множественные бронхоэктазы в легочной ткани

Fig. 6. Gross specimen of multiple bronchiectasis in the lung tissue

Рис. 7. Брохоскопия после операции

Fig. 7. Bronchoscopy after surgery

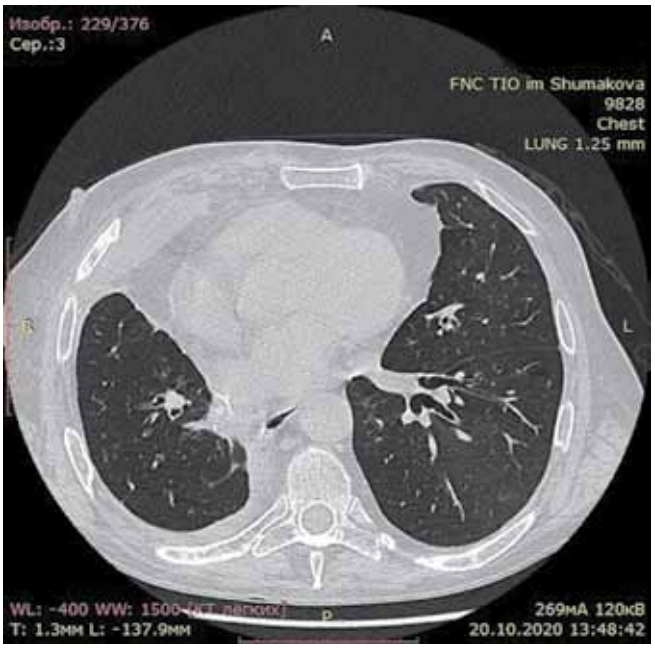

Рис. 8. МСКТ через 2,5 месяца после операции

Fig. 8. Multispiral CT scan 2.5 months after surgery

значительное улучшение состояния. Потребность в кислороде снижена до 1–2 л/мин. Через 7 дней пациенту прекращена кислородотерапия, сатурация артериальной крови на атмосферном воздухе составляла 91%. Пациент выписан в стабильном состоянии на 21-е сутки после операции. При контрольном КТ через 2,5 месяца оперированное правое легкое полностью расправлено, дополнительных очагово-инфильтративных изменений нет (рис. 8). Сравнительный анализ объективных показателей в динамике представлен в таблице.

ОБСУЖДЕНИЕ

Бронхоэктатическая болезнь у реципиентов донорских легких ввиду высокого риска развития тяжелых инфекционных осложнений на фоне иммуносупрессивной терапии является актуальной проблемой. Сочетание бронхоэктазов с экспираторным стенозом трахеи, обуславливающее нарушение вентиляционной функции, создает условия для быстрого прогрессирования дыхательной недостаточности и значительного ухудшения состояния пациента.

Хирургическое лечение больных, перенесших двустороннюю трансплантацию легких, сопряжено с целым рядом трудностей (выраженный спаечный процесс в плевральной полости, «измененная анатомия», частые обострения хронических инфекций на фоне иммуносупрессии, в некоторых случаях низкие функциональные резервы, сложности прогнозирования функционального статуса в раннем послеоперационном периоде), однако операция является единственным методом лечения, позволяющим значительно улучшить качество жизни пациентов.

В данном наблюдении ввиду неэффективности консервативной терапии хирургическое лечение являлось безальтернативным методом лечения. Увеличение показателей ФВД обусловлено ликвидацией экспираторного стеноза трахеи. Улучшение оксигенации крови обусловлено прекращением шунтирования крови через слабо вентилируемые, за счет поражения бронхоэктазами, доли легкого.

Таблица

Сравнительный анализ объективных показателей

Comparative analysis of objective indicators

Показатели ФВД	Предоперационные	Послеоперационные	Через месяц	Через 2,5 месяца
ОФВ1 (% от должного)	22	23	25	30
ФЖЕЛ (% от должного)	36	37	45	46
И. Тиффно (%)	47	62	55	65
sO_2 на атм. воздухе (%)	85	88	92	92
sO_2 на кислороде (%)/Vпотока (л/мин)	92/10	94/7	98/2	98/2

ВЫВОДЫ

Данное клиническое наблюдение свидетельствует о необходимости комплексного мультидисциплинарного подхода к лечению посттрансплантационных осложнений у реципиентов легких в зависимости от конкретного случая. Видеоторакоскопический хирургический доступ при отсутствия тотального спаечного процесса является методом выбора при выполнении оперативных вмешательств пациентам с низким функциональным статусом, что обусловлено малой травматичностью и, как следствие, увеличением реабилитационного потенциала пациента. Пластика мембранозной стенки трахеи при наличии экспираторного стеноза является эффективным методом хирургического лечения при неэффективности и/или невозможности применения других методов коррекции.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Паршин ВД и др.* Хирургическое лечение больной с трахеомаляцией и экспираторным стенозом трахеи. *Пульмонология.* 2018; 5: 626–631. *Parshin VD et al.* Surgical treatment of a female patient with tracheomalacia and expiratory tracheal stenosis. *Russian Pulmonology.* 2018; 5: 626–631. [In Russ, English abstract]. doi: 10.18093/0869-0189-2018-28-5-626-631.
2. *Herzog H.* Relaxation and expiratory invagination of the membranous portion of the intrathoracic trachea and the main bronchi as cause of asphyxia attacks in bronchial asthma and the chronic asthmoid bronchitis of pulmonary emphysema. *Schweizerische Medizinische Wochenschrift.* 1954; 84: 217–221.
3. *Herzog H.* Expiratory stenosis of the thrachea and great bronchi by loosening of the membraneous portion; plastic chip repair. *Thoraxchirurge.* 1958; 4: 281–319.
4. *Дамбаев ГЦ и др.* Экспериментальное обоснование способа хирургического лечения экспираторного стеноза трахеи и главных бронхов. *Бюллетень сибирской медицины.* 2011; 6. *Dambaev GC et al.* Eksperimentalnoe obosnovanie sposoba hirurgicheskogo lecheniya ekspiratornogo stenosa trahei i glavnih bronhov. *Bulleten sibirskoi medicini.* 2011; 6.
5. *Бисенков ЛН.* Торакальная хирургия. М.: 2002: 755–759. *Bisenkov LN.* Torakalnaya hirurgiya. M.: 2002: 755–759.
6. *Machino R, Tagawa T.* Thoracoscopic plication of the membranous portion of crescent-type tracheobronchomalacia in an elderly patient: a case report. *Surgical Case Reports.* 2020; 1: 1–5.
7. *Nissen R.* Tracheoplastik zur Beseitigung der Erschlaffungdes membraneosen Teils der intrathorakalen Luftrohre. *Schweiz Med Wochenschr.* 1954; 84: 219–221.
8. *Wright CD, Grillo HC, Hammoud ZT, Wain JC, Gaissert HA, Zaydfudim V et al.* Tracheoplasty for expiratory collapse of central airways. *The Annals of Thoracic Surgery.* 2005; 80: 259–266.
9. *Wright CD.* Tracheobronchomalacia and expiratory collapse of central airways. *Thoracic Surgery Clinics.* 2018; 28: 163–166. doi: https://doi.org/10.1016/j.thorsurg.2018.01.006.
10. *Takazawa S et al.* External stabilization for severe tracheobronchomalacia using separated ring-reinforced ePTFE grafts is effective and safe on a long-term basis. *Pediatric Surgery International.* 2013; 11: 1165–1169. doi 10.1007/s00383-013-3383-8.
11. *Самсонова МВ, Черняев АЛ, Леменкова ОС.* Бронхоэктазы: современный взгляд на проблему. *Практическая пульмонология.* 2017; 1. *Samsonova MV, Chernyaev AL, Lemenkova OS.* Modern Aspects of Diagnosis and Treatment of Bronchiectasis. *Practical Pulmonology.* 2017; 1.
12. *Decaluwe H et al.* Thoracoscopic lobectomy after bilateral lung transplantation. *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery*. 2014; 19: 515–517. doi: https://doi.org/10.1093/icvts/ivu144.
13. Ishltregistries.org [Internet]. The International Society for Heart and Lung Transplantation. Available from: https://ishltregistries.org/.
14. *Алимов АТ, Перельман МИ.* Склерозирующая эндоскопическая терапия экспираторного стеноза трахеи и главных бронхов. *Грудная хирургия.* 1989; 1: 40–43. *Alimov AT, Perelman MI.* Skleroziruyuschaya endoscopicheskaya terapiya ekspiratornogo stenoza trahei i glavnih bronhov. *Grudnaya hirurgiya*. 1989; 1: 40–43.

Статья поступила в редакцию 23.10.2020 г.
The article was submitted to the journal on 23.10.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-4-168-172

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ СЕРДЦА У РЕЦИПИЕНТА С АНОМАЛЬНОЙ ЛЕВОЙ ВЕРХНЕЙ ПОЛОЙ ВЕНОЙ

Г.В. Анискевич, Г.А. Садриева, В.Н. Попцов, Е.А. Спирина, В.И. Орлов, Р.Ш. Саитгареев

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

Представлен клинический случай успешной ортотопической трансплантации сердца по биатриальной методике с перемещением добавочной левой верхней полой вены в правое предсердие. Достигнутый клинический эффект в результате проведенного лечения полностью оправдывает выбранную хирургическую тактику и позволяет рекомендовать предложенную тактику для лечения подобной редкой патологии. **Целью** данного сообщения является представление собственного опыта трансплантации сердца реципиенту с аномальной левой верхней полой веной. **Заключение.** Достигнутый клинический эффект в результате проведенного лечения полностью оправдывает выбранную хирургическую тактику и позволяет рекомендовать предложенную тактику для лечения подобной редкой патологии.

Ключевые слова: врожденная аномалия развития, сердечно-сосудистая система, добавочная левая верхняя полая вена, трансплантация сердца.

HEART TRANSPLANT IN A PATIENT WITH PERSISTENT LEFT SUPERIOR VENA CAVA

G.V. Aniskevich, G.A. Sadrieva, V.N. Poptsov, E.A. Spirina, V.I. Orlov, R.Sh. Saitgareev

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

Objective: to present our own experience of heart transplantation in a patient with persistent left superior vena cava (PLSVC). A clinical case of successful orthotopic heart transplantation using the biatrial technique in a patient with PLSVC drainage into the right atrium is presented. The clinical effect achieved as a result of the treatment fully justifies the chosen surgical tactics and allows us to recommend the proposed tactics for treatment of such a rare anomaly. **Conclusion.** The clinical effect achieved as a result of the treatment fully justifies the chosen surgical tactics and allows us to recommend the proposed tactics for treatment of such a rare anomaly.

Keywords: congenital malformation, cardiovascular system, persistent left superior vena cava, heart transplantation.

Добавочная левая верхняя полая вена (ЛВПВ) является редкой врожденной аномалией развития сердечно-сосудистой системы. Частота встречаемости 0,3–0,5% в общей популяции с нормальным сердцем и у 4,5% людей с врожденными пороками сердца [1]. ЛВПВ сочетается с правой верхней полой веной в 80–90% случаев [2] и может также сопровождаться другими сердечными аномалиями, такими как аномальные соединения легочных вен, коарктация аорты, тетрада Фалло, транспозиция магистральных сосудов, а также ОАП [3]. При этом наблюдаются нарушения сердечного ритма.

ЛВПВ обычно впадает в правое предсердие (в 80–92%) через расширенный коронарный синус [5], но в 10–20% случаев отмечается впадение в левое предсердие [7]. ЛВПВ может впадать непосредственно в левое предсердие или коронарный синус, что является причиной сердечного сброса справа налево. У большинства пациентов с ЛВПВ симптомы отсутствуют. Клиническую картину имеют только

Для корреспонденции: Садриева Гузалия Айратовна. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (937) 790-55-09. E-mail: sadrieva.guzaliya@gmail.com

Corresponding author: Guzaliya Sadrieva. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (937) 790-55-09. E-mail: sadrieva.guzaliya@gmail.com

пациенты с необычным дренажом и сбросом справа налево. Аномальный венозный возврат через ЛВПВ может быть причиной сердечных аритмий, снижения толерантности к физической нагрузке, прогрессирующей усталости, дискомфорта в груди, сердцебиения, обморока или цианоза [6].

Наличие ЛВПВ имеет важное значение при установке центрального венозного катетера, имплантации кардиостимулятра, катетеризации сердца. Также наличие ЛВПВ является относительным противопоказанием к выполнению ретроградной кардиоплегии во время кардиохирургических вмешательств [6].

На сегодняшний день остается открытым вопрос о выборе оптимальной тактики и объеме предполагаемого оперативного вмешательства. В этой статье мы представляем опыт трансплантации сердца у реципиента с аномальной левой верхней полой веной, проведенной хирургами кардиохирургического отделения № 1 ФГБУ «НМИЦ трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова».

КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

Пациент К., 52 года, считает себя больным с 2004 г., когда без предшествующего коронарного анамнеза перенес ОИМ нижней стенки с развитием ранней постинфарктной стенокардии. Неоднократно проведено стентирование коронарных артерий на фоне острого коронарного синдрома. В 2008 г. при обследовании выявлена тромбофилия, назначен прием антикоагулянтов. В 2010 г. перенес операцию аортокоронарного шунтирования правой коронарной артерии и огибающей ветви левой коронарной артерии. По данным холтеровского мониторирования зарегистрированы пароксизмы ЖТ. В 2014 г. имплантирован двухкамерный кардиовертер-дефибриллятор. В 2018 г. выявлено истощение батареи, в связи с чем реимплантирован двухкамерный кардиовертер-дефибриллятор. 10.07.2019 г. выполнено электрофизиологическое исследование и радиочастотная абляция правого перешейка и эктопических очагов. При контрольной коронарографии выявлен стеноз шунта, выполнена баллонная ангиопластика со стентированием шунта к огибающей ветви от 18.12.19 г. С февраля 2020 г. учащение приступов тахикардии, срабатывание кардиовертера-дефибриллятора, многочисленные синкопальные состояния. Пациент госпитализирован в отделение кардиологии ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» для обследования по программе потенциального реципиента на трансплантацию сердца с ***клиническим диагнозом*** *«ишемическая кардиомиопатия; ИБС: стенозирующий коронаросклероз; постинфарктный кардиосклероз (2004, 2008 гг.)». Операция: баллонная вазодилатация со стентированием ПКА, ПМЖВ, ОВ от 2005, 2006, 2007 гг. ВТК от 28.05.2018 г. АКШ ПКА и ОВ от 2010 г. Рестеноз шунта к ОА 80%. БАП со стентированием АКШ ОА от 18.12.2019 г.*

Осложнение основного. *НРС. Пароксизмальная желудочковая тахикардия. Имплантация кардиовертера-дефибриллятора от 2014 г. Истощение батареи и реимплантация кардиовертера-дефибриллятора от 2018 г. РЧА правого перешейка и эктопических очагов от 10.07.19 г. Относительная недостаточность митрального клапана. Относительная недостаточность трикуспидального клапана. ХСН НК 2А, ФК III по NYHA.*

Сопутствующие. *Мультифокальный атеросклероз с поражением коронарных, сонных артерий. Последствия ОНМК по ишемическому типу от 04.2015. Тромбофилия. Хронический холецистит. Множественные мелкие кисты в паренхиме печени. Диффузно-узловой зоб. Йод-индуцированный субклинический тиреотоксикоз.*

Объективно: *состояние средней степени тяжести; кожные покровы и видимые слизистые физиологической окраски; периферических отеков нет. В легких дыхание жесткое, проводится во все отделы, хрипов нет. ЧДД 17 в мин. При осмотре границы относительной сердечной тупости не расширены, сердечный толчок не определяется, верхушечный толчок определяется в пятом межреберье по левой среднеключичной линии. Тоны сердца ясные, ритм правильный, единичная экстрасистолия. ЧСС 72 уд/мин. АД 100/70 мм рт. ст. Живот при пальпации мягкий, безболезненный. Печень не увеличена. Симптом поколачивания отрицательный. Дизурических расстройств нет. Острой очаговой симптоматики нет.*

Общий анализ крови, биохимический анализ крови, коагулограмма без особенностей.

ЭКГ в покое ритм синусовый с ЧСС 70 в мин. Рубцовые изменения миокарда по задне-диафрагмальной области левого желудочка. Снижение кровоснабжения в области рубцов, верхушечно-боковой стенке.

Рентгенография грудной клетки в прямой проекции: отмечено умеренное усиление легочного сосудистого рисунка.

Данные эхокардиографического исследования пациента перед операцией. *Аорта: на уровне фиброзного кольца 2,7 см. Синус Вальсальвы 4,2 см. Восходящий отдел аорты 3,9 см Левое предсердие: 3,9 см (переднезадний размер); объем ЛП 60 мл. Правое предсердие: объем ПП 48 мл. Правый желудочек: 2,7 см (переднезадний размер); толщина передней стенки ПЖ 0,5 см. Межжелудочковая перегородка 1,2–1,3 см. Задняя стенка ЛЖ 1,0 см. КДО 197 мл; КСО 123 мл; УО 54 мл. ФВ 37% Локальная сократимость ЛЖ: диффузный гипокинез. Акинезия нижней стенки, задней части, дискинезия МЖП. Патологические образования: нет, электроды в правых камерах сердца. Клапанный аппарат:*

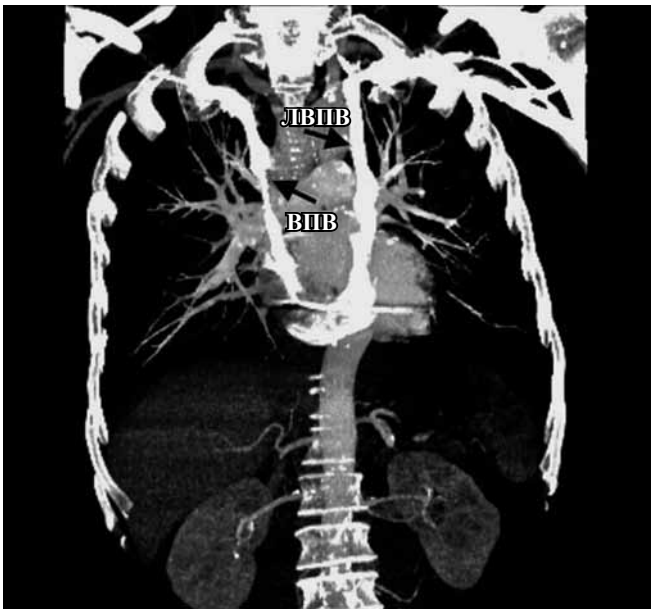

Рис. 1. Мультиспиральная компьютерная томография сердца с контрастированием. Правая основная верхняя полая вена типично расположена. Визуализируется добавочная левораспоженная верхняя полая вена, огибающая левое предсердие по его задней стенке и впадающая в область коронарного синуса, при этом поперечная вена не определяется. ВПВ – верхняя полая вена; ЛВПВ – левая верхняя полая вена

Fig. 1. Contrast-enhanced multidetector CT imaging of the heart. The right superior vena cava is typically located. Visualized is a persistent left superior vena cava, enveloping the left atrium along its posterior wall and flowing into the coronary sinus, while the transverse vein is not defined. ВПВ – superior vena cava; ЛВПВ – left superior vena cava

аортальный клапан: 3-ств., створки уплотнены Pgr 9,2 mm Hg, регургитация 1-й степени; митральный клапан: створки уплотнены, кальций в основании задней створки МК, регургитация 1-й степени; трикуспидальный клапан: створки без особенностей, регургитация 1-й степени. Легочная артерия: створки б/о, диаметр ствола ЛА 2,4 см Pgr 4,5 mm Hg, регургитация 0–1-й степени. Систолическое давление 32 mm Hg.

ХОД ОПЕРАЦИИ

Продольная срединная стернотомия. Выполнен кардиолиз аорты и правых отделов сердца. Сердце увеличено в размерах. Канюляция аорты и полых вен. Начато ИК, продолжен кардиолиз. Перевязаны, прошиты и отсечены шунты от аорты. Пережата восходящая аорта, сердце реципиента иссечено с техническими сложностями из-за выраженного спаечного процесса. При этом выявлена добавочная ЛВПВ, которая входит в перикард на уровне левой верхней легочной вены и впадает в коронарный синус. Добавочная ЛВПВ выделена из спаек, мобилизована, пережата турникетом. Сформирована розетка левого предсердия. Сердечный трансплантат помещен в полость перикарда. Наружное охлаждение трансплантата. Обвивным швом анастомозированы левые предсердия донора и реципиента, затем правые предсердия донора и реципиента. Учитывая наличие длинной культи ВПВ донорского сердца наложен анастомоз по типу «конец в конец» культи донорской ВПВ и добавочной ЛВПВ реципиента. Анастомоз уложен в поперечный синус, позади аорты и легочной артерии. Непрерывным обвивным швом пролен 5-0 анастомозированы аорта донора и реципиента и легочная артерия донора и реципиента. Снят зажим с аорты с профилактикой воздушной эмболии. Сердечная деятельность восстановилась после дефибрилляции. Удален дренаж из полости левого желудочка. Подобранна кардиотоническая поддержка. На фоне инотропных препаратов планово закончено ИК. Деканюляция. Тщательный гемостаз. Дренирована полость переднего средостения. Перикардиальная и осумкованная левая плевральная полость дренированы одним дренажем. К правому желудочку подшит электрод ЭКС. Из отдельного разреза в правой подключичной области удален ИКД с 2 электродами. Грудина ушита 6 проволочными швами. Послойное ушивание операционной раны и раны в правой подключичной области.

Послеоперационное течение. *Пациент экстубирован на 1-е послеоперационные сутки. Ранний послеоперационный период сопровождался миокардиальной недостаточностью, потребовавшей инотропной поддержки, метаболическими нарушениями, потребовавшими заместительной почечной терапии. На 9-е послеоперационные сутки на фоне регрессирующей миокардиальной, дыхательной недостаточности, регресса метаболических нарушений пациент переведен в отделение. Дальнейший послеоперационный период протекал без осложнений. Выписан на 23-е сутки в удовлетворительном состоянии.*

Данные эхокардиографического исследования пациента после операции. *Аорта: на уровне фиброзного кольца 2,2 см. Синусы Вальсальвы 3,5 см. Восходящий отдел аорты 3,2 см. Левое предсердие: 4,5 см (переднезадний размер) 6,5 × 3,8 (из апикального доступа). Правое предсердие: 5,7 × 3,8 (из апикального доступа). Правый желудочек: 2,9 см (переднезадний размер). Левый желудочек: КДО 114 мл; КСО 37 мл; УО 77 мл; ФВ 68%. Патологических образований нет. Клапанный аппарат: аортальный клапан 3-ств., створки уплотнены Pgr/MGr 10,0/– mm Hg, регургитация 0–1-й степени. Митральный клапан: створки уплотнены, движение створок М-образное, пик А отсутствует, регургитация 1-й степени. Трикуспидальный клапан: створки б/о, регургитация 1–2-й степени. Легочная*

артерия: створки б/о, диаметр ствола ЛА 2,3 см Pgr 7,5 mm Hg, регургитация 1-й степени. Систолическое давление 46,0 mm Hg d НПВ 1,9 см, коллабирует >50% на вдохе. Легочная гипертензия 1-й степени.

ОБСУЖДЕНИЕ

В условиях трансплантации сердца ЛВПВ заслуживает отдельного внимания в связи с особенностями венозного возврата при работе аппарата

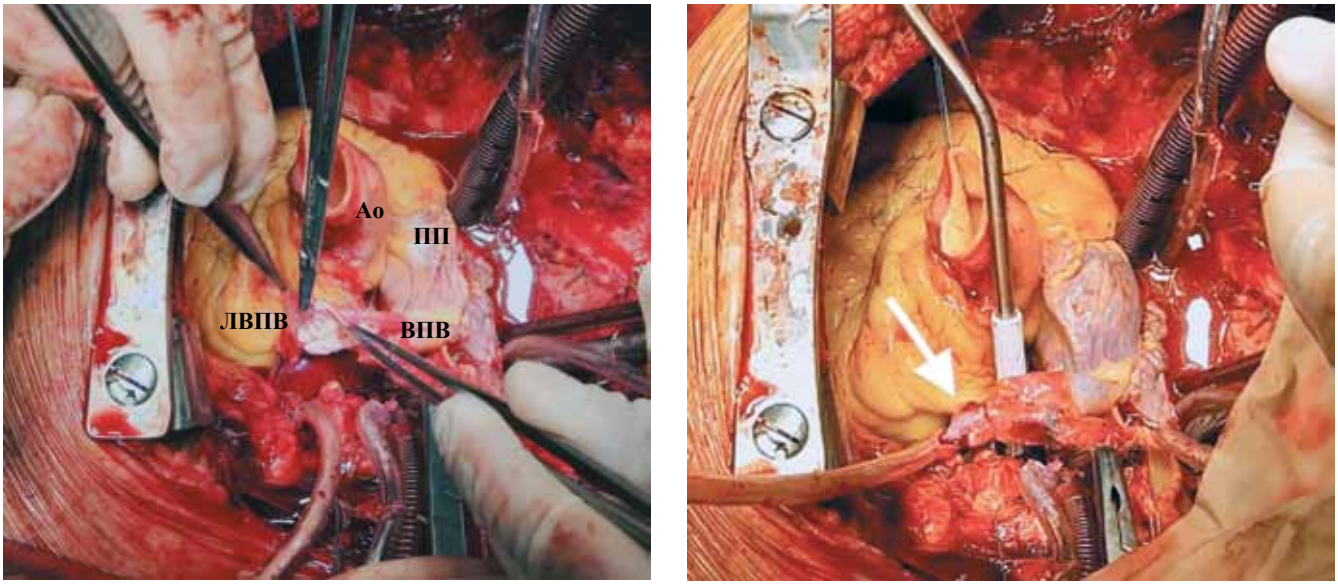

Рис. 2. Наложен анастомоз по типу «конец в конец» культи донорской ВПВ и добавочной ЛВПВ реципиента. Анастомоз уложен в поперечный синус, позади аорты и легочной артерии. Белой стрелкой указана проходимость и герметичность анастомоза. Ao – аорта; ПП – правое предсердие; ВПВ – верхняя полая вена донорского сердца; ЛВПВ – левая верхняя полая вена реципиента

Fig. 2. An end-to-end anastomosis of the donor SVC to the recipient persistent LSVC was performed. The anastomosis is laid in the transverse sinus, behind the aorta and pulmonary artery. The white arrow indicates the patency and tightness of the anastomosis. Ao – aorta; ПП – right atrium; ВПВ – donor superior vena cava; ЛВПВ – persistent recipient left superior vena cava

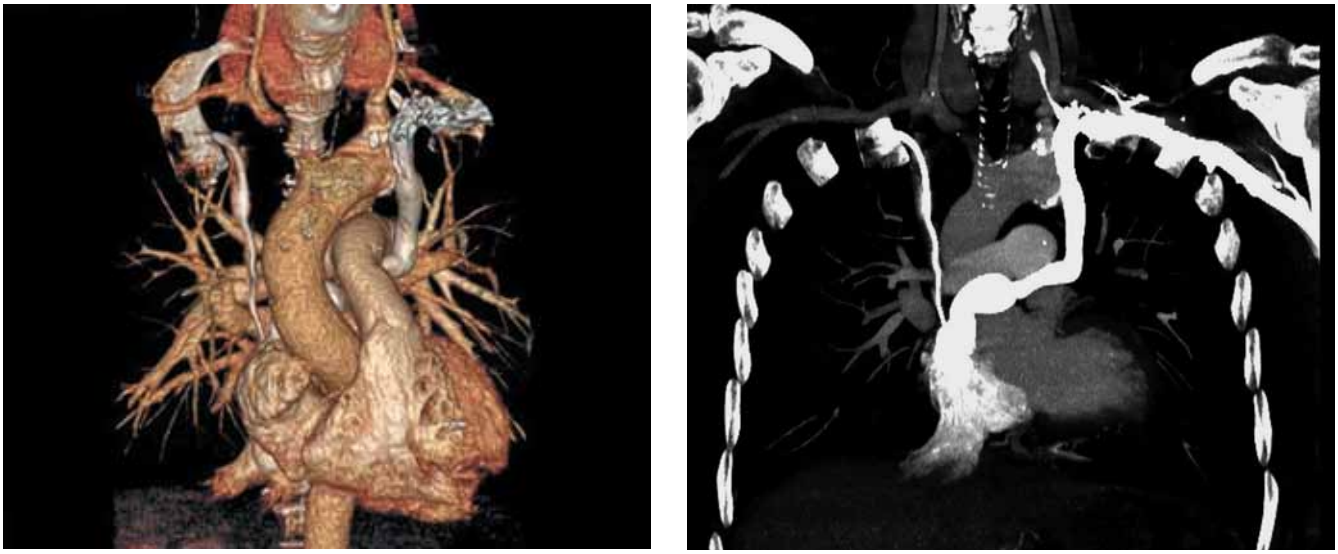

Рис. 3. Мультиспиральная компьютерная томографии сердца с контрастированием. Правая основная верхняя полая вена типично расположена, маленького диаметра. Визуализируется добавочная леворасположенная верхняя полая вена, анастомоз между реципиентской левой верхней полой веной и донорской верхней полой веной проходим

Fig. 3. Contrast-enhanced multispiral CT imaging of the heart. The right superior vena cava is typically located, and it is of small diameter. The persistent left superior vena cava is visualized, anastomosis of the recipient left superior vena cava and the donor superior vena cava is patent

искусственного кровообращения и формирования анастомоза верхней полой вены.

Если присутствует хорошо развитая безымянная вена, окклюзия ЛВПВ путем простой перевязки создает достаточный венозный отток через безымянную вену. Однако если безымянная вена мала или отсутствует, перевязка ЛВПВ может увеличить риск нейрососудистых осложнений [8].

ЛВПВ можно сохранить с помощью нескольких хирургических методов во время ортотопической трансплантации сердца. Эти хирургические подходы включают анастомоз левой верхней полой вены с правой верхней полой веной донора «конец в конец», анастомоз «конец в конец» ЛВПВ с ушком правого предсердия (прямой анастомоз или анастомоз с использованием кондуита) [8–10].

В данной статье представлен случай ортотопической трансплантации сердца пациенту с ЛВПВ. Для прямого анастомозирования ЛВПВ с культей ВПВ трансплантата решено использовать биатриальную технику трансплантации сердца, что дало возможность сохранить достаточной длины культю ВПВ донорского сердца. При укладывании анастомоза в поперечный синус позади аорты и легочной артерии не отмечалось значимых перегибов анастомоза, что подтвердилось послеоперационным исследованием и отсутствием клинических симптомов венозного застоя. В данном случае отсутствие безымянной вены и полная перевязка ЛВПВ могли бы привести к необратимым нейрососудистым осложнениям. Данная методика исключила использование искусственных кондуитов из-за достаточной длины ВПВ донорского сердца.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Достигнутый клинический эффект в результате проведенного лечения полностью оправдывает выбранную хирургическую тактику и позволяет рекомендовать предложенную тактику для лечения подобной редкой патологии.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Zhong YL, Long X-M, Jiang L-Y, He B-F, Lin H, Luo P et al.* Surgical treatment of dextroversion, isolated persistent left superior vena cava draining into the left atrium. *J Card Surg*. 2015; 30 (10): 767–770.
2. *Ruano CA, Marinho-da-Silva A, Donato P.* Congenital thoracic venous anomalies in adults: morphologic MR imaging. *Curr Probl Diagn Radiol*. 2015; 44 (4): 337–345.
3. *Kula S, Cevik A, Sanli C, Pektas A, Tunaoglu FS, Oguz AD et al.* Persistent left superior vena cava: experience of a tertiary health-care center. *Pediatr Int*. 2011; 53 (6): 1066–1069.
4. *Buirski G, Jordan SC, Joffe HS, Wilde P.* Superior vena caval abnormalities: their occurrence rate, associated cardiac abnormalities and angiographic classification in a paediatric population with congenital heart disease. *Clin Radiol*. 1986; 37 (2): 131–138.
5. *Granata A, Andrulli S, Fiorini F, Logias F, Figuera M, Mignani R et al*. Persistent left superior vena cava: what the interventional nephrologist needs to know. *J Vasc Access*. 2009; 10 (3): 207–211.
6. *Goyal SK, Punnam SR, Verma G, Ruberg FL*. Persistent left superior vena cava: a case report and review of literature. *Cardiovasc Ultrasound*. 2008; 6: 50–50.
7. *Dinasarapu CR, Adiga GU, Malik S.* Recurrent cerebral embolism associated with indwelling catheter in the presence of anomalous neck venous structures. *Am J Med Sci*. 2010; 340 (5): 421–423.
8. *Hammon J, Bender HW*. Major anomalies of pulmonary and thoracic systemic veins. *Sabiston DC, Spencer FC, Gibbon JH, editors. Surgery of the chest*. 5th ed. Philadelphia: Saunders; 1990: 1274–96.
9. *Raisky O, Tamisier D, Vouhe PR*. Orthotopic heart transplantation for congenital heart defects: anomalies of the systemic venous return. *Multimed Man Cardiothorac Surg*. 2006 2006:mmcts.2005.001578.
10. *Joo S, Kim GS, Lim JY et al.* Orthotopic cardiac transplantation after inter-caval anastomosis in a patient with hypertrophic cardiomyopathy and persistent left superior vena cava. *Korean J Thorac Cardiovasc Surg*. 2010; 43: 522–524.

Статья поступила в редакцию 2.09.2020 г.
The article was submitted to the journal on 2.09.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-4-173-182

ХРОНИЧЕСКИЙ МИОКАРДИТ ТЯЖЕЛОГО ТЕЧЕНИЯ, ВЕРИФИЦИРОВАННЫЙ КАК ГИГАНТОКЛЕТОЧНЫЙ: НЕИЗБЕЖНЫЙ ВЫБОР В ПОЛЬЗУ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА

О.В. Благова[1], Ю.А. Лутохина[1], Д.Х. Айнетдинова[1], В.П. Седов[1], А.Н. Воловченко[1], Д.А. Парфенов[1], Н.П. Можейко[2]

[1] ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация
[2] ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

Миокардит имеет полиморфные клинические проявления и является одной из основных причин трансплантации сердца. Приводится описание клинического наблюдения пациентки 43 лет, поступившей в клинику с бивентрикулярной сердечной недостаточностью III–IV ФК. На фоне длительного курения периодически отмечала обострения бронхита. За 21 месяц до госпитализации впервые отметила появление одышки без явной связи с инфекцией, выявлены снижение фракции выброса (ФВ) до 34%, плевральный и перикардиальный выпот. При коронарографии без отклонений от нормы. При МРТ – субэндокардиальное контрастирование верхушки левого желудочка (ЛЖ). Состояние расценивалось как миокардит, в течение полугода проводилась терапия преднизолоном 30 мг/сутки, кардиотропная терапия. Одышка нарастала, присоединились отеки нижних конечностей. При обследовании в клинике: резкое снижение вольтажа комплекса QRS, комплексы QS в отв. V1–V6, дилатация всех камер сердца, выстланная тромбом аневризма верхушки ЛЖ, ФВ 16%, VTI 3,9 см, dp/dt 454 мм рт. ст., резкое повышение титров антикардиальных антител (до 1 : 320). В связи с быстро нараставшей тяжестью состояния, потребностью в кардиотониках, появлением признаков полиорганной недостаточности эндомиокардиальная биопсия не выполнялась. Переведена в ФНЦ им. В.И. Шумакова, где проводилась экстракорпоральная мембранная оксигенация; успешно выполнена ортотопическая ТС. В течение года состояние стабильное. При исследовании эксплантированного сердца выявлена картина гигантоклеточного миокардита. Обсуждаются вопросы диагностики, возможность длительного течения, а также методы лечения данного варианта миокардита, включая ключевую роль ТС.

Ключевые слова: гигантоклеточный миокардит, сердечная недостаточность, аневризма левого желудочка, антикардиальные антитела, трансплантация сердца.

VERIFIED CHRONIC SEVERE GIANT CELL MYOCARDITIS: AN INEVITABLE CHOICE FOR HEART TRANSPLANTATION

O.V. Blagova[1], Yu.A. Lutokhina[1], D.H. Ainetdinova[1], V.P. Sedov[1], A.N. Volovchenko[1], D.A. Parfenov[1], N.P. Mozheiko[2]

[1] Sechenov University, Moscow, Russian Federation
[2] Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation

Myocarditis has polymorphic clinical manifestations and is one of the main causes of heart transplantation. We present a clinical case of a 43-year-old female patient who was admitted to the clinic with biventricular heart failure (NYHA class 3–4). She periodically noted exacerbations of bronchitis against the background of prolonged smoking. Twenty-one months prior to hospitalization, she first noted a shortness of breath without an obvious connection with the infection. Her ejection fraction (EF) decreased to 34%, pleural and pericardial effusion was revealed. Coronary angiography found no abnormalities. However, MRI showed subendocardial contrasting of the

Для корреспонденции: Благова Ольга Владимировна. Адрес: 119992, Москва, ул. Б. Пироговская, д. 6, стр. 1. Тел. (499) 248-62-33. E-mail: blagovao@mail.ru

Corresponding author: Olga Blagova. Address: 6/1, B. Pirogovskaya str., Moscow, 119992, Russian Federation. Phone: (499) 248-62-33. E-mail: blagovao@mail.ru

left ventricular (LV) apex. The diagnosis was myocarditis. Within six months, the patient received therapy with 30 mg/day prednisolone and cardiotropic therapy. Her shortness of breath intensified, and the lower extremities swelled. Examination in the clinic showed a sharp decrease in QRS voltage, QS complexes in the V1–V6 leads, dilation of all heart chambers, thrombus in the LV apical aneurysm, 16% EF, 3.9 cm VTI, 454 mmHg dp/dt, and a sharp increase in anticardiac antibody titers (up to 1:320). Endomyocardial biopsy was not performed due to the patient's rapidly deteriorating condition, the need for cardiotonics, and signs of multiple organ failure. She was transferred to Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, where extracorporeal membrane oxygenation was performed; orthotopic heart transplant was successfully performed. The patient's condition was stable for the next year. Investigation of the explanted heart revealed a picture of giant cell myocarditis. Issues of diagnosis, possibility of a long-term chronic course, as well as methods of treatment of this variant of myocarditis, including the key role of heart transplantation, are discussed.

Keywords: giant cell myocarditis, heart failure, left ventricular aneurysm, anticardiac antibodies, heart transplantation.

ВВЕДЕНИЕ

Миокардит – воспалительное поражение миокарда различной этиологии, которое является одной из основных причин сердечной недостаточности у молодых, в том числе инкурабельной и требующей трансплантации сердца (ТС). Нередко именно нераспознанный миокардит кроется за диагнозом «дилатационная кардиомиопатия» (ДКМП), которая на равных конкурирует с ИБС как причина направления на ТС, а по некоторым данным ее опережает [1]. В то же время миокардит относится к потенциально излечимым заболеваниям, и его своевременное выявление может быть критически важным для прогноза больного.

Основная проблема диагностики миокардита в клинической практике, в том числе российской, состоит в почти полной недоступности эндомиокардиальной биопсии (ЭМБ) – инвазивной интервенционной методики, которая нередко незаменима для верификации диагноза миокардита и определения объема терапии. Европейские эксперты, авторы первых рекомендаций по миокардитам 2013 г., считают ЭМБ абсолютно необходимой во всех случаях подозрения на миокардит [2]. Американские эксперты рекомендуют выполнение ЭМБ при остро развившемся синдроме ДКМП с интактными коронарными артериями, при необходимости инотропной поддержки, наличии АВ блокады II (2 типа) – III степени, устойчивой желудочковой тахикардии или неэффективности лечения в течение 1–2 недель, т. е. если не во всех, то в очень и очень многих случаях подозрения на тяжело протекающий хронический миокардит [3].

Основные преимущества, которые отличают ЭМБ от всех неинвазивных методик (включая наилучшую среди них – магнитно-резонансную томографию сердца с контрастированием), состоят в возможности не просто сделать диагноз миокардита достоверным, но определить его морфологический тип и наличие либо отсутствие вирусного генома в миокарде, что во многом определяет лечение [1]. Если диагноз миокардита (чаще всего лимфоцитарного) может с высокой долей вероятности ставиться на основании данных неинвазивного комплексного обследования, в том числе с применением предложенного и апробированного нами алгоритма [4], то неинвазивная диагностика редких и прогностически наиболее неблагоприятных гистологических вариантов без биопсии абсолютно невозможна.

К таким вариантам относится прежде всего гигантоклетоный миокардит (ГКМ), который описан нашим соотечественником С. Салтыковым в 1905 г. Его отличительной морфологической особенностью является наличие воспалительных лимфоцитарных инфильтратов, включающих гигантские клетки и эозинофилы, и некроза кардиомиоцитов, но без образования саркоидных гранулем [4]. Истинная частота этого вида миокардита неизвестна ввиду сложностей его прижизненной диагностики, как правило, приводятся лишь описания отдельных клинических случаев. Наиболее крупные многоцентровые регистры включают немногие десятки пациентов, чаще всего подобными наблюдениями располагают трансплантологи. Каждый случай уникален и ставит перед врачами задачи агрессивной диагностики и терапии, а также своевременного определения показаний к ТС [5–7].

Приводим клиническое наблюдение пациентки с тяжелым хроническим миокардитом, которое иллюстрирует длительное течение нераспознанного ГКМ и современные возможности оперативного спасения жизни больного даже в терминальной стадии заболевания.

КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

Больная Л., 43 года, поступила в Факультетскую терапевтическую клинику им. В.Н. Виноградова Первого МГМУ им. И.М. Сеченова 11.11.2019 г. ***с жалобами*** *на общую слабость, одышку при минимальных нагрузках, тошноту, отеки голеней и стоп, увеличение в объеме живота.*

***Из анамнеза**. Семейный анамнез по кардиомиопатиям не отягощен. По профессии психолог, живет в Красноярске, много путешествует; длительно курит до 30 сигарет в день, периодически отмечает обострения бронхита с затяжным (до месяца) кашлем, антибиотики не принимала; других вредных привычек нет. Более 20 лет назад в легких были выявлены посттуберкулезные изменения, регулярно проводилась рентгенография, динамики не было, в лечении не нуждалась. В анамнезе двое самостоятельных родов (последние в 39 лет), осложнений со стороны сердца не было. До 2018 года считала себя здоровой. В феврале почувствовала недомогание, затруднение дыхания без явной лихорадки, расценила его как очередное обострение бронхита. В течение 2 недель, находясь на отдыхе, отмечала снижение переносимости привычных ранее нагрузок. В марте 2018 года впервые отметила возникновение выраженной одышки, кашля, ощущения нехватки воздуха преимущественно в ночное время, прогрессирующей слабости. Обращалась к кардиологам амбулаторно, адекватного обследования и лечения не проводилось.*

В апреле в связи с дальнейшим ухудшением самочувствия госпитализирована бригадой СМП: первоначально состояние расценено как пневмония, однако при выполненной впервые в жизни ЭхоКГ выявлены снижение фракции выброса (ФВ) до 34% и менее, диффузный гипокинез левого желудочка (ЛЖ), митральная регургитация 3-й степени, повышение систолического давления в легочной артерии (СДЛА) до 54 мм рт. ст., плевральный и перикардиальный выпот. При коронарографии – без отклонений от нормы. При МРТ было выявлено отсроченное накопление гадолиния преимущественно в области верхушки ЛЖ, данных за тромбоз не было. Состояние расценили как миокардит, была проведена терапия преднизолоном per os 30 мг/сутки на протяжении 6 месяцев (рекомендации о длительности лечения отсутствовали), торасемидом, бета-блокаторами и иингибиторами АПФ. На этом фоне отметила уменьшение одышки, при ЭхоКГ от апреля и июня 2018 г. ФВ составляла 37–39%, однако появились кушингоидные проявления (ожирение по висцеральному типу, «лунообразное лицо», «горб»), самостоятельно постепенно отменила преднизолон. Во время проводимых амбулаторно обследований выявлены повышенные титры IgG к ЦМВ, другим герпетическим вирусам.

В феврале 2019 года отметила ухудшение состояния в виде усиления одышки, нарастания общей слабости. Состояние расценено как ДКМП. Назначены ивабрадин 10 мг/сутки, сакубитрил-валсартан 200 мг/сутки (отменила его в связи с эпизодами падения АД до 60/30 мм рт. ст.), дигоксин 0,125 мг/сутки, торасемид 20 мг/сутки, никорандил 20 мг/сутки, эплеренон 50 мг/сутки. Несмотря на плохое самочувствие, трижды за год выезжала на отдых, переносила поездки относительно удовлетворительно, пыталась лечиться нетрадиционными средствами. В октябре 2019 года отметила возобновление одышки при минимальной физической нагрузке, постоянное чувство нехватки воздуха и тошноты, нарастание отеков голеней и стоп. При ЭхоКГ от 22.10.2019 г. – аневризма верхушки ЛЖ, ФВ не превышала 18–20%. Госпитализирована для дообследования и лечения.

***При поступлении** состояние тяжелое. Рост 180 см, вес 76 кг, ИМТ = 23,46 кг/м^2. Температура тела 36,5 °С. Кожные покровы умеренно бледные, нормальной влажности. Умеренные отеки голеней, стоп, бедер. ЧД 20 в мин, дыхание жесткое, $SatO_2$ 95%. В легких дыхание везикулярное, проводится во все отделы легких, хрипов нет. Тоны сердца глухие, систолический шум на верхушке. ЧСС 84/мин, ритм правильный, АД 70/40 мм рт. ст. Живот несколько напряжен, безболезненный, умеренно увеличен за счет асцита. Печень, селезенка не увеличены.*

***В анализах крови выявлены** небольшой лейкоцитоз (10,9 × 10^9/л, лимфоциты 33,3%, нейтрофилы 53,2%, эозинофилы 2,3%), Hb 156 г/л, тромбоциты 273 × 10^9/л, СОЭ 5 мм/ч, минимальное повышение АСТ (49 ед/л), общего билирубина (27,3 мкмоль/л) за счет прямого (11,2 мкмоль/л), нормальный уровень альбумина (35 г/л), креатинина (103,3 мкмоль/л), липидов, электролитов, гиперурикемия (606 мкмоль/л). Группа крови АВ (IV), резус-фактор положительный. В **анализе мочи** – снижение удельного веса (1010), уробилиноген 3+.*

*На **ЭКГ** (рис. 1) – резкое снижение вольтажа комплекса QRS в стандартных отведениях и практически полное отсутствие зубцов R (комплексы QS в отв. V1–V6, минимальные R в отв. II, III, aVF); продолжительность QRS 120 мс, PQ 190 мс, что свидетельствовало о выраженном уменьшении объема жизнеспособного миокарда. При Холтеровском мониторировании ЭКГ значимых желудочковых нарушений ритма не выявлено.*

*При **ЭхоКГ** (рис. 2) подтверждено расширение всех камер сердца (конечно-диастолический размер ЛЖ 6,2 см, конечно-диастолический объем 155 мл, конечно-систолический объем 129 мл, левое предсердие 4,4 см, 87 мл, правое предсердие 103 мл, правый желудочек 3,5 см), аневризма верхушки ЛЖ, выстланная тромбом (размером 3,3 × 1,2 см), резкое снижение сократимости ЛЖ (ФВ не более 16%, VTI 3,9 см, dp/dt 454 мм рт. ст.), нарушение диастолической функции ЛЖ по псевдонормальному типу (E/A = 1,17, E/Em 9,2 при норме <8) в отсутствие гипертрофии его стенок (толщина межжелудочковой перегородки 8 мм, задней стенки 9 мм), митральная и трикуспидальная регургитация III степени, легочная гипертензия (СДЛА 45 мм рт. ст.), небольшое*

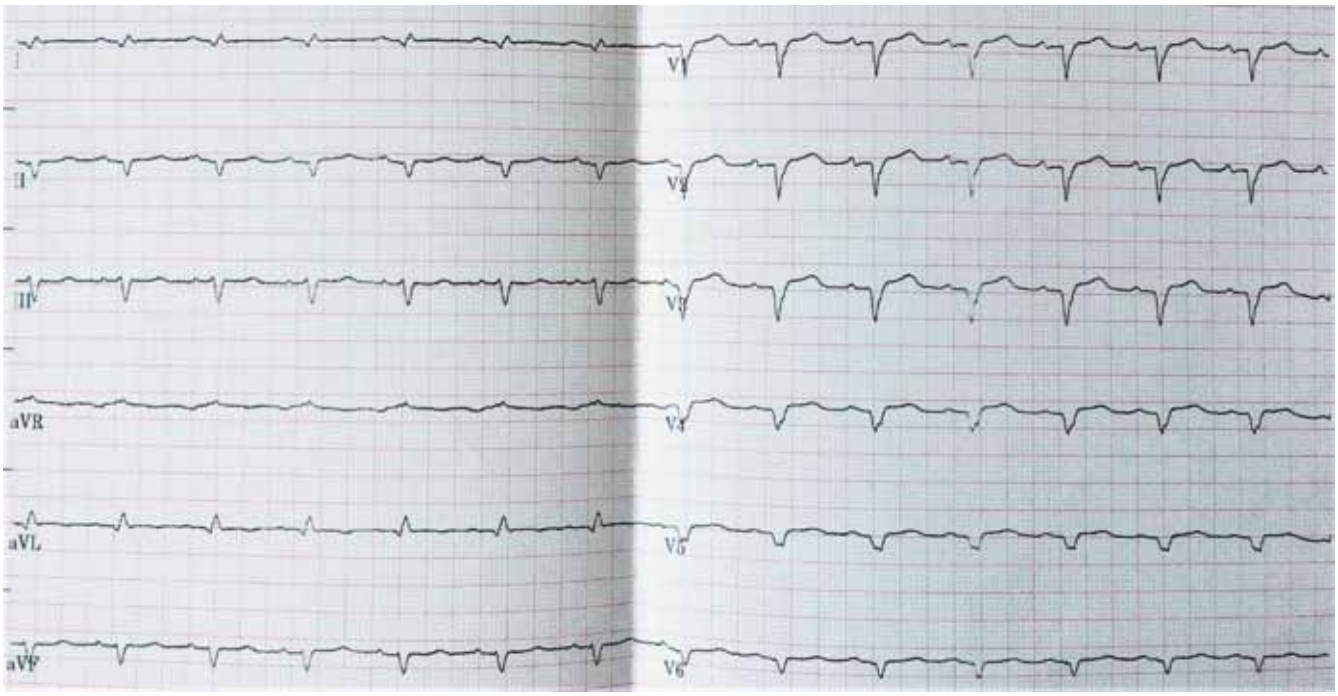

Рис. 1. Электрокардиограмма больной при поступлении в клинику. Скорость записи 25 мм/с. Синусовый ритм, резкое снижение вольтажа комплекса QRS в стандартных отведениях, комплексы QS в отв. V1–V6, минимальные R в отв. II, III, aVF, продолжительность QRS 120 мс, PQ 190 мс

Fig. 1. Patient's ECG upon admission at the clinic. Recording speed 25 mm/s. Sinus rhythm, sharp decrease in QRS voltage in standard leads, QS complexes in the V1–V6 leads, minimum R waves in the II, III, aVF leads, QRS duration 120 ms, PQ 190 ms

количество жидкости в полости перикарда (по задней стенке 1,2 см, по боковой – 0,7 см, по передней – 0,4 см, в области правого предсердия 0,7 см).

При ***рентгенографии органов грудной клетки*** *картина увеличения сердца, обызвествленный очаг диаметром 7 мм в правом легком, выпота в плевральных полостях нет. При* ***УЗИ*** *подтверждено наличие свободной жидкости во всех отделах брюшной полости, печень на верхней границе нормы.*

На МРТ от мая 2018 г. признаков некомпактного миокарда нет, отчетливо определяется рубец в области верхушки ЛЖ, тромбов нет. Провести МРТ сердца повторно не удалось в связи с ухудшением состояния больной.

Таким образом, не вызывало сомнений тяжелое поражение миокарда с развитием синдрома ДКМП и бивентрикулярной сердечной недостаточности, однако природа поражения оставалась не до конца ясной. Развитие одышки более чем через 2 года после вторых родов не позволяло говорить о перипартальной кардиомиопатии, хотя полностью нельзя было исключить отсроченную декомпенсацию первичной (генетически детерминированной) кардиомиопатии. Регулярные обострения хронического бронхита и не вполне отчетливая связь дебюта заболевания с одним из них, а также зимний выезд в Индию могли стать фоном (триггером) для развития миокардита. С учетом остроты декомпенсации в апреле 2018 г. с клиникой ангинозных болей, выраженной одышки, данных ЭКГ (комплексы QS во всех грудных отведениях), ЭхоКГ (акинезия и тромбоз верхушки ЛЖ), МРТ (субэндокардиальное контрастирование верхушки более чем на 50% толщины миокарда), наиболее вероятным представлялся инфарктоподобный дебют тяжелого миокардита с последующей его хронизацией.

В пользу миокардита свидетельствовал также отчетливый положительный ответ на терапию средними дозами преднизолона (клинический и эхокардиографический) в анамнезе, однако недостаточная выраженность улучшения и быстрая утрата эффекта могли указывать на недостаточные дозы монотерапии, особую тяжесть миокардита, его вирусную природу, наличие исходной генетической патологии миокарда. Впервые проведенный анализ крови на антикардиальные антитела выявил содружественное резкое повышение титров антител к большинству антигенов сердца, включая антигены кардиомиоцитов (табл.), что свидетельствовало в пользу высокоиммунной составляющей миокардита, однако не позволяло до конца исключить активную вирусную инфекцию в миокарде и определить объем иммуносупрессивной терапии.

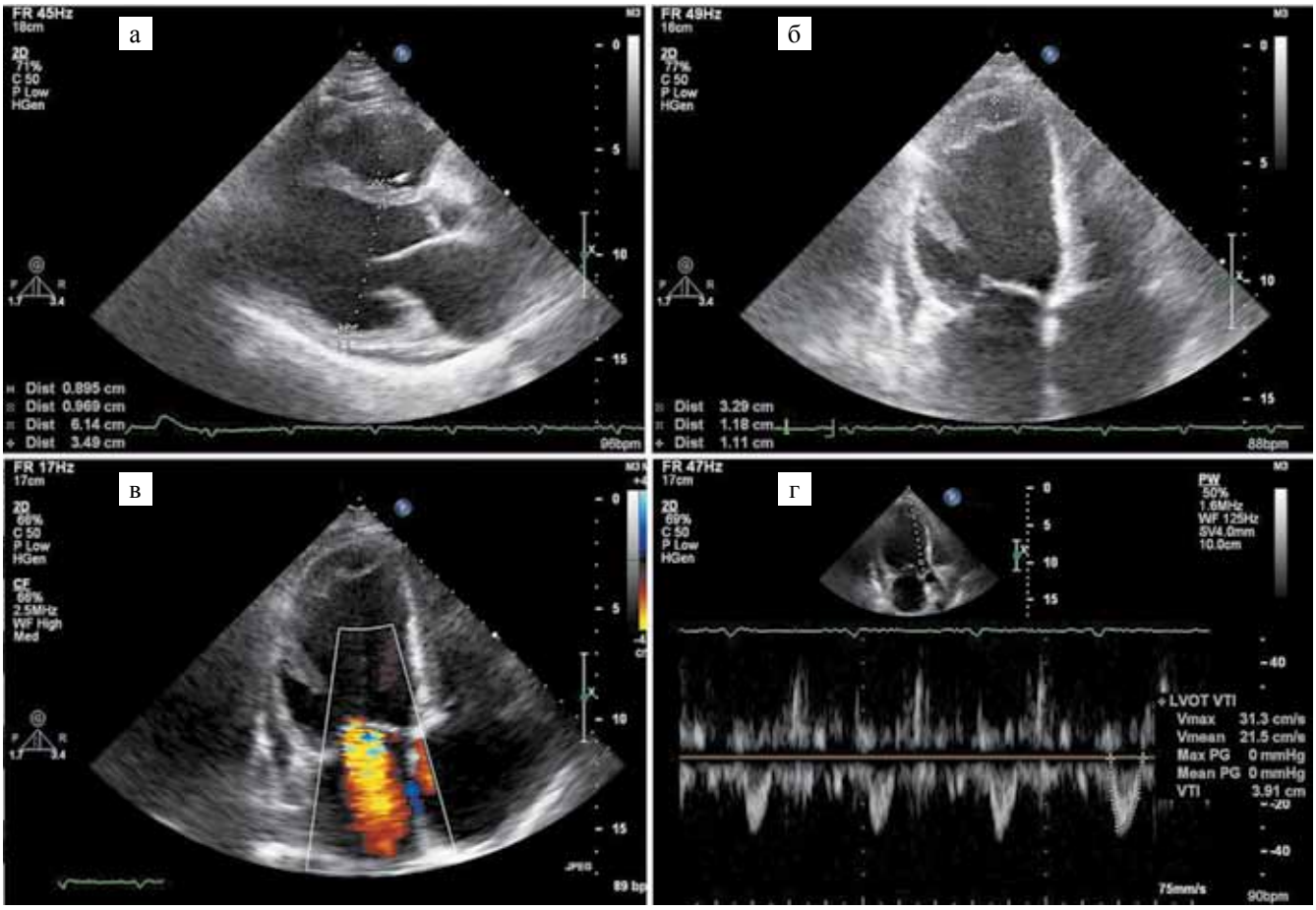

Рис. 2. Эхокардиограммы больной при поступлении в клинику: а – двухкамерная позиция, увеличение размера левого и правого желудочков; б – четырехкамерная позиция, выстилающий тромб в аневризме верхушки левого желудочка; в – цветовая доплерография, поток митральной регургитации III степени (до крыши левого предсердия); г – синдром малого выброса в аорту (резкое снижение VTI)

Fig. 2. Patient's ECG upon admission at the clinic: a – two-chamber position, increase in the size of the left and right ventricles; б – four-chamber position underlying thrombus in the left ventricular apical aneurysm; в – color flow Doppler, flow of grade 3 mitral regurgitation (up to the left atrial roof); г – low cardiac output syndrome (sharp decrease in VTI)

Единственным исследованием, которое могло бы ответить на вопрос о дальнейшей тактике медикаментозного лечения, могла стать ЭМБ. Однако тяжесть состояния больной повышала риск этого исследования и делала перспективы базисной терапии миокардита сомнительными, особенно с учетом давности болезни. Несмотря на высокую вероятность активного миокардита, время на его лечение было, очевидно, упущено, единственной возможностью избежать неблагоприятного исхода представлялась ТС.

Несмотря на попытки комплексной кардиотропной терапии (эноксапарин, фуросемид, эплеренон), за время пребывания в клинике состояние больной не улучшилось. В связи с выраженной олигоурией (по 100–150 мл мочи в течение двух суток) на фоне стойкой гипотонии (80/60 мм рт. ст. и менее), сохранявшейся несмотря на полную отмену бисопролола, переведена в отделение реанимации, где в результате постоянной инфузии низких доз допа-

Таблица

Титры различных антикардиальных антител в крови

Titers of various anti-heart antibodies in the blood

Показатель	Результат	Норма
Антитела к антигенам ядер кардиомиоцитов	нет	нет
Антитела к антигенам эндотелия	1:40	титр АТ 1:40
Антитела к антигенам кардиомиоцитов	1:320	титр АТ 1:40
Антитела к антигенам гладкой мускулатуры	1:320	титр АТ 1:40
Антитела к антигенам волокон проводящей системы сердца	1:160	титр АТ 1:40

Рис. 3. Электрокардиограмма больной в отделении интенсивной терапии и реанимации. Запись прикроватного монитора, скорость 25 мм/с. Эпизод неустойчивой желудочковой тахикардии

Fig. 3. Patient's ECG in the intensive care unit. Bedside monitor recording, speed 25 mm/s. An episode of nonsustained ventricular tachycardia

мина и введения лазикса 240 мг/сутки однократно достигнут положительный диурез (3900 мл в сутки) с некоторым уменьшением одышки; однако на фоне отмены допамина и продолжения инфузии лазикса диурез вновь снизился до 700 мл. При ЭхоКГ в динамике (от 18.11.2019) положительной динамики нет (ФВ менее 20%, VTI 3 см, тяжелая регургитация на клапанах).

Возобновлена инфузия добутамина, лазикса и хлорида калия (в связи с прогрессирующей гипокалиемией) с последующим подключением норадреналина, однако сохранялись гипотония, олигурия, появились тошнота и рвота (расценены как проявление ишемического гепатита), отмечено нарастание уровня печеночных ферментов (к 22.11 уровень АСТ составил 826 Ед/л, АЛТ – 678 Ед/л). По экрану монитора зарегистрированы бессимптомные эпизоды неустойчивой желудочковой тахикардии (рис. 3). При ***МСКТ*** *головного мозга и органов брюшной полости объемных образований не обнаружено, при исследовании органов грудной клетки выявлены группа кальцинированных очагов, зона грубого фиброза и плевральные спайки в верхней доле правого легкого. В экстренном порядке консультирована* ***фтизиатром****: остаточные изменения после спонтанно излеченного туберкулеза верхней доли правого легкого. Выполнение ТС не противопоказано. При назначении иммуносупрессивной терапии рационально проведение курса превентивной химиотерапии изониазидом (0,6/сутки) на фоне витамина B_6 (0,06/сутки) и пиразинамидом 1,5/сутки.*

После консультации в НМИЦ ТИО им. В.И. Шумакова с ***клиническим диагнозом*** *«ДКМП неуточненного генеза» 22.11.2019 г. переведена в отделение реанимации Центра, где немедленно начата экстракорпоральная мембранная оксигенация (ЭКМО). Клиническая картина на момент перевода: инфаркт (некроз) миокарда передневерхушечной локализации от апреля 2018 г. Хронический инфекционно-иммунный (вирусно-иммунный?) миоперикардит тяжелого течения, высокой степени иммунологической активности, в фазе обострения? Тромбоз верхушки левого желудочка. Синдром малого выброса. Нарушения ритма сердца: желудочковая экстрасистолия, неустойчивая желудочковая тахикардия. Относительная недостаточность митрального и трикуспидального клапанов III степени. Среднетяжелая легочная гипертензия. Хроническая сердечная недостаточность III–IV ФК, IIБ стадии: периферические отеки, двусторонний гидроторакс, асцит. Острый ишемический гепатит. ХБП 3б стадии. Гиперурикемия. Хронический бронхит вне обострения. Посттуберкулезные изменения правого легкого.*

В первые сутки пребывания в НМИЦ ТИО (в ночь на 23.11.2019 г.) выполнена ортотопическая ТС. При морфологическом исследовании эксплантированного сердца выявлена картина высокоактивного гигантоклеточного миокардита (рис. 4). В течение последующего года состояние пациентки остается стабильным, признаков отторжения трансплантата нет.

ОБСУЖДЕНИЕ

Представленное наблюдение демонстрирует целый ряд особенностей течения и ведения миокардита вообще (и ГКМ в частности), анализ которых представляется весьма поучительным для всей команды врачей, работающих с подобными больными.

Заслуживают обсуждения дебют заболевания и постановка диагноза «миокардит» в тот период. Клинические основания для диагностики миокардита в марте 2018 г. были: высоковероятная связь с респираторной инфекцией (очередное обострение хронического бронхита), быстрое развитие тяжелой дисфункции миокарда с нарастающей одышкой, изменения на ЭКГ, которые ретроспективно (но не при первом обращении к врачу) были расценены как инфарктоподобные и стали одним из оснований для немедленной госпитализации. В то же время нет данных об уровне тропонина в крови в тот период, не выявлялся (в том числе при МРТ) тромб в ЛЖ.

С учетом полного отсутствия факторов риска ИБС диагноз «инфаркт миокарда» был отвергнут по месту жительства (что подтвердили и нормальные коронарограммы), хотя могло обсуждаться развитие инфаркта с неизмененными коронарными артериями (т. н. MINOCA). Результаты МРТ косвенно подтвердили диагноз «миокардит», других возмож-

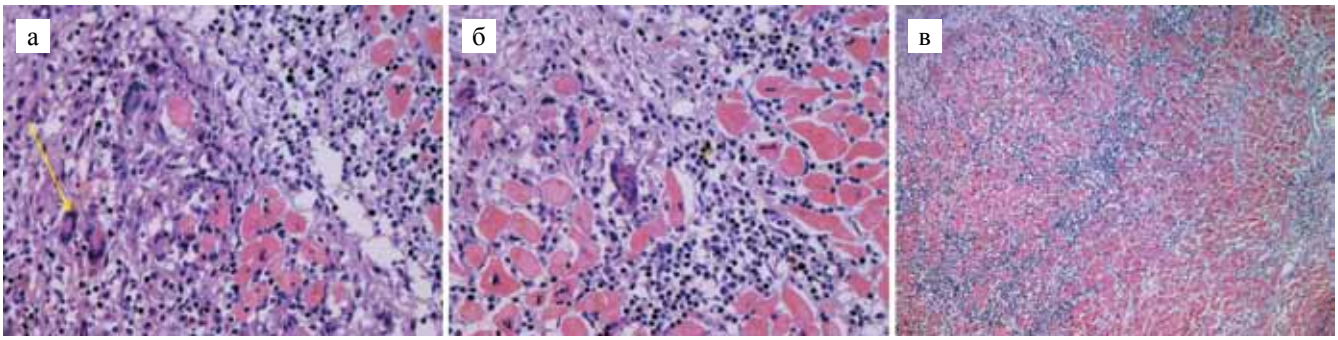

Рис. 4. Результаты морфологического исследования эксплантированного сердца: а – гигантские многоядерные клетки среди диффузной воспалительной инфильтрации в рыхлой волокнистой соединительной ткани в интерстиции и между кардиомиоцитами; б – гигантская многоядерная клетка среди диффузной воспалительной инфильтрации в рыхлой волокнистой соединительной ткани в интерстиции и между кардиомиоцитами; в – диффузно-очаговая мононуклеарная воспалительная инфильтрация в отечном интерстиции и в зонах склероза, среди воспалительных клеток встречаются гигантские многоядерные клетки. Окраска гематоксилином и эозином; а, б – ×200, в – ×100

Fig. 4. Results of morphological examination of the explanted heart: a – giant multinucleated cells among diffuse inflammatory infiltration in loose fibrous connective tissue in the interstitium and between cardiomyocytes; б – giant multinucleated cell among diffuse inflammatory infiltration in loose fibrous connective tissue in the interstitium and between cardiomyocytes; в – diffuse focal mononuclear inflammatory infiltration in the edematous interstitium and in sclerosis zones; among inflammatory cells there are multinucleated giant cells. H&E stain; а, б – ×200, в – ×100

ностей (ЭМБ, определение уровня антикардиальных антител) не было.

При инфарктоподобном дебюте миокардита возможно несколько вариантов течения: вполне благоприятный, свойственный молодым пациентам, легко диагностируется и без применения ЭМБ, не приводит к значимому падению сократимости ЛЖ даже в острый период, не оставляет необратимых последствий и не склонен к хронизации; и совсем иной, с самого начала протекающий особенно тяжело, с диффузным падением сократимости и стойким снижением ФВ [8], что и происходило у нашей больной. При тяжелом инфарктоподобном дебюте миокардита следует наряду с «банальным» лимфоцитарным миокардитом рассматривать несколько особых нозологических форм – эозинофильный миокардит, миокардит в рамках саркоидоза, системных васкулитов (эозинофильного гранулематоза с полиангиитом), и в этом ряду – ГКМ. Однако при ГКМ этот вариант дебюта описывают лишь в 6–9% случаев [9, 10]. Еще реже встречаются аневризмы ЛЖ [11], которые считаются более характерными для саркоидоза и отличаются высокой аритмогенностью (чего не было в нашем случае). Об особой выраженности воспаления с некрозом и вовлечением эндокарда говорит формирование тромбоза в ЛЖ. В нашем случае, вероятно, отсроченное формирование тромба отражает протяженный во времени воспалительный процесс, сохраняющий высокую активность.

При любом варианте миокардита развитие стойких рубцовых изменений является неблагоприятным прогностическим фактором, который в большинстве случаев не позволяет рассчитывать на стойкое улучшение функции ЛЖ в результате ИСТ [12]. В отсутствие данных ЭМБ могли рассматриваться несколько вариантов лечения: только кардиотропная терапия (которая проводилась уже какое-то время, но не давала достаточного эффекта); немедленное направление на ТС (что практикуется у подобных больных, но не может считаться оптимальной тактикой в отсутствие точного диагноза); имплантация искусственного ЛЖ с целью выиграть время и дождаться возможного эффекта от медикаментозного лечения (маловыполнимо); и наконец, назначение ИСТ (по сути, терапии *ex juvantibus*), что и было предпринято.

Подобная тактика расходится с рекомендациями европейских экспертов, но согласуется с российскими реалиями. Во многих случаях такое лечение дает желаемый эффект, поскольку лимфоцитарный миокардит является наиболее частым вариантом, а среди примерно половины вирус-позитивных случаев преобладает миокардит, ассоциированный не с герпетическими или энтеровирусами, но с парвовирусом B19, влияние которого на прогноз и эффективность ИСТ остается неясным. В нашем случае назначение (по сути бесконтрольное) средней дозы преднизолона дало лишь кратковременное и недостаточное клиническое улучшение. Дальнейшая тактика лечения не могла быть определена без проведения ЭМБ.

Ее выполнение было одной из основных задач госпитализации, однако при поступлении стало очевидно, что степень дисфункции миокарда достигла критического уровня. Диагноз высокоиммунного миокардита оставался наиболее вероятным, особенно по результатам анализа крови на антикардиальные

антитела. Выполнение ЭМБ оказалось невозможным в связи с постоянной потребностью больной в кардиотонической поддержке и повышенным риском осложнений процедуры. Таким образом, решение о немедленной ТС оказалось единственно возможным; ретроспективная диагностика ГКМ подтвердила правильность отказа от дальнейших попыток верификации диагноза и ИСТ на данном, по сути терминальном, этапе.

Естественно, возникает вопрос, могли ли своевременно выполненная ЭМБ и диагностика ГКМ в дебюте болезни с назначением адекватной ИСТ изменить прогноз и позволить избежать ТС либо выполнить ее в менее ургентном режиме. ГКМ является одной из самых редких и, очевидно, самых злокачественных форм миокардита. В регистре НМИЦ ТИО им. акад. В.И. Шумакова на сегодня имеется лишь четыре случая ГКМ [13]. Одно из первых многоцентровых исследований ГКМ включало всего 63 случая, средний возраст пациентов составил 43 года, мужчины и женщины заболевали одинаково часто [8]. В единственном в Финляндии центре, располагающим возможностью ТС, имеется опыт диагностики 46 случаев ГКМ за период с 1991-го по 2015 г., причем частота его существенно возрастала каждые пять лет; вдвое чаще болели женщины, средний возраст составил 51 год [9].

Считается, что ГКМ является идиопатическим аутоиммунным вариантом миокардита, хотя описаны и вирус-позитивные случаи, например, фатальный ГКМ, индуцированный цитомегаловирусной инфекцией [12]. У нашей больной в пользу ГКМ могли свидетельствовать максимально высокие титры антикардиальных антител (несмотря на проведенную год назад ИСТ), однако этот признак не абсолютно специфичен для ГКМ, он лишь говорит о потенциальной пользе агрессивной ИСТ. На ГКМ может указывать наличие у пациента других аутоиммунных заболеваний, которые ассоциируются с ГКМ в 15–19% случаев [4, 8, 9] – в первую очередь тимомы с развитием миастении, для которой характерно появление антител к широкому спектру мышечных антигенов (к ацетилхолиновым рецепторам, титину, миозину, гладкой мускулатуре [14]), а также неспецифического язвенного колита, ревматоидного артрита, полимиозита, болезни Грейвса, лимфомы и др. Высокая активность болезни с массивным повреждением миокарда объясняет высокую чувствительность МРТ (100%) и позитронно-эмиссионной томографии (93%) [9]. Однако специфичного для ГКМ визуального паттерна не существует.

Оптимальный объем ИСТ при лечении ГКМ не определен, хотя не вызывает сомнений ее целесообразность – ГКМ является одним из немногих вариантов миокардита, при которых ИСТ безусловно рекомендована [2]. Европейские и американские эксперты согласны также в том, что ГКМ требует более агрессивной в сравнении с другими вариантами миокардита ИСТ. Более 20 лет назад международной группой по изучению ГКМ рекомендовано использование 3-компонентной комбинации – преднизолона, азатиоприна и циклоспорина, хотя методом выбора оставалась ТС [8]. С учетом значимости Т-лимфоцитов в патогенезе ГКМ разрабатывается применение в его лечении муромонаба-CD3 и антитимоцитарного глобулина в дополнение к циклоспорину [15]. Делаются попытки применения цитостатиков и биологически активных препаратов (метотрексат, микофенолата мофетил, сиролимус, такролимус, ритуксимаб, базиликсимаб [16]), многие из которых применяются и в трансплантологии.

Однако, по разным данным, неблагоприятных исходов (смерти и/или ТС) удается избежать лишь в 11–42% случаев, в зависимости от объема ИСТ [4]. В исследовании 1997 г. неблагоприятные исходы составили 89% (при среднем сроке от развития симптомов всего 5,5 месяца) [8]. Пятилетняя выживаемость без трансплантации 42% в недавнем финском исследовании была достигнута благодаря применению комбинированной ИСТ (у 70% больных), имплантации ИКД в 57% и ассоциировалась с менее выраженным некрозом и фиброзом по данным ЭМБ, а также с исходным уровнем тропонина (также отражающим выраженность некроза) менее 85 нг/л и положительным ответом на лечение – возрастанием ФВ на 5% и более, снижением уровня NT-proBNP на 1000 нг/л и более [9].

Необычным для ГКМ является длительное хроническое течение с периодами улучшения, наблюдавшееся у нашей больной. В типичных случаях ГКМ протекает как фульминантный, т. е. уже в остром периоде требует интенсивной кардиотонической и респираторной поддержки [5]. Его наиболее частыми проявлениями являются острая сердечная недостаточность, желудочковые аритмии, блокады и кардиогенный шок. Чаще всего именно в острый период ГКМ требуется применение механической поддержки кровообращения, в т. ч. ЭКМО, которая является одной из самых эффективных технологий при ГКМ – во французском межцентровом регистре фульминантного ГКМ она была применена в 85% случаев и у 8 из 11 больных закончилась ТС; в 87% случаев фульминантного ГКМ не удалось избежать ТС или смерти; однако ЭМБ и ИСТ проводились меньшей части больных, что сближает данные этого регистра с нашим наблюдением [17]. Следует сослаться на опыт E. Ammirati из Милана, который проводит ЭМБ даже пациентам на ЭКМО и полной антикоагуляции, понимая критическую важность точной диагностики ГКМ для определения дальнейшей тактики лечения [4].

Нашей больной ЭКМО потребовалась лишь в терминальной стадии болезни, как мост к успешной ТС, что отражает более благоприятное течение у нее ГКМ на протяжении почти двух лет. Относительно возможности длительного течения ГКМ следует отметить результаты, внушающие определенный оптимизм и полученные в недавнем многоцентровом исследовании, которое включало 26 пациентов с ГКМ – после 1-го года 5-летняя выживаемость без трансплантации составила в нем 72%, максимальный срок достиг 20 лет, однако в работе отсутствуют сведения о больных, погибших или перенесших ТС на первом году болезни [5]. Во всяком случае, можно судить о том, что успешное переживание первого года является благоприятным прогностическим признаком. Описаны случаи более чем 10-летнего течения ГКМ с поддержанием ФВ на уровне 30–35% в результате кардиотропной терапии и ИСТ, но все же ТС в исходе болезни [18]. При своевременной диагностике ГКМ и адекватной ИСТ на подобный вариант течения можно было бы надеяться и у нашей пациентки.

Особая значимость ГКМ в практике трансплантологов определяется возможностью его рецидива в пересаженном сердце (что лишний раз доказывает его аутоиммунную природу) – частота рецидивов на 1997 г. составила 26%, в 1 случае из 9 рецидив ГКМ привел к смерти [9]. Вероятно, ни одно другое заболевание миокарда не отличается столь злокачественным течением. В то же время совершенствование протоколов ИСТ после ТС, в т. ч. у больных с ГКМ, привело к существенному снижению числа рецидивов. Так, во Французском регистре (результаты опубликованы в 2018 г.) не отмечено ни одного случая развития ГКМ в трансплантированном сердце [18, 19]. Сообщается также о повышенном риске острого отторжения у больных с ГКМ в сравнении с ДКМП (16% *vs* 5%, p = 0,021), однако 1-, 5- и 10-летняя выживаемость не отличается от таковой при иных причинах ТС (94, 82 и 68% соответственно) [20].

У нашей больной признаков отторжения или рецидива ГКМ к концу первого года нет.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Гигантоклеточный миокардит является одной из самых редких и тяжелых форм миокардита, которая не может быть определенно диагностирована ни одним методом (включая МРТ), кроме эндомиокардиальной биопсии. Типичным для ГКМ является острое развитие тяжелой сердечной недостаточности, вплоть до кардиогенного шока, вспомогательное кровообращение нередко требуется уже в первые дни болезни; гораздо менее типичен инфарктоподобный дебют с формированием аневризмы, отмеченный в представленном наблюдении. Его особенностью явился слабый и непродолжительный, но отчетливый положительный ответ на монотерапию средними дозами преднизолона, которых обычно совершенно недостаточно для лечения ГКМ, и длительное (почти два года) относительно благоприятное течение болезни. На особую тяжесть миокардита и потребность в агрессивной иммуносупрессии могли указывать резко повышенные титры антикардиальных антител, однако время для выполнения ЭМБ и проведения адекватной ИСТ было упущено, что сделало единственно разумным и возможным выходом ТС. Тяжесть состояния больной на момент перевода в НМИЦ ТИО им. акад. В.И. Шумакова обусловила необходимость немедленного подключения ЭКМО и выполнения ургентной ТС в первые сутки госпитализации. Несмотря на риск рецидивов в пересаженном сердце, ТС остается методом выбора для большинства пациентов с диагнозом ГКМ, установленным как до операции, так и ретроспективно.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Готье СВ, Попцов ВН, Колоскова НН, Захаревич ВМ, Шевченко АО, Муминов ИИ и др*. Лист ожидания трансплантации сердца ФГБУ «НМИЦ ТИО имени академика В.И. Шумакова». Тенденции за период с 2010-го по 2017 год. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2018; 20 (4): 8–13. *Gautier SV, Poptsov VN, Koloskova NN, Zakharevich VM, Shevchenko AO, Muminov II et al*. Heart transplantation waiting list of V.I. Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs. Trends from 2010 to 2017. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2018; 20 (4): 8–13. [In Russ., English abstract]. doi.org/10.15825/1995-1191-2018-4-8-13.
2. *Caforio AL, Pankuweit S, Arbustini E et al*. European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. Current state of knowledge on aetiology, diagnosis, management, and therapy of myocarditis: a position statement of the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J*. 2013; 34 (33): 2636–2648, 2648a–2648d. doi: 10.1093/eurheartj/eht210.
3. *Bozkurt B, Colvin M, Cook J, Cooper LT, Deswal A, Fonarow GC et al*. American Heart Association Committee on Heart Failure and Transplantation of the Council on Clinical Cardiology; Council on Cardiovascular Disease in the Young; Council on Cardiovascular and Stroke Nursing; Council on Epidemiology and Prevention; and Council on Quality of Care and Outcomes Research. Current Diagnostic and Treatment Strategies for Specific Dilated Cardiomyopathies: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*. 2016; 134 (23): e579–e646. PMID: 27832612, doi: 10.1161/CIR.0000000000000455.

4. *Благова ОВ, Осипова ЮВ, Недоступ АВ, Коган ЕА, Сулимов ВА*. Клинические, лабораторные и инструментальные критерии миокардита, установленные в сопоставлении с биопсийным исследованием миокарда (алгоритм неинвазивной диагностики). *Терапевтический архив*. 2017; 89 (9): 30–40. *Blagova OV, Osipova YV, Nedostup AV, Kogan EA, Sulimov VA*. Clinical, laboratory and instrumental criteria for myocarditis, established in comparison with myocardial biopsy: A non-invasive diagnostic algorithm. *Ter Arkh*. 2017; 89 (9): 30–40. [In Russ., English abstract]. doi: 10.17116/terarkh201789930-40.
5. *Ammirati E, Camici PG*. Still poor prognosis for patients with giant cell myocarditis in the era of temporary mechanical circulatory supports. *Int J Cardiol*. 2018; 253: 122–123. doi: 10.1016/j.ijcard.2017.10.124.
6. *Maleszewski JJ, Orellana VM, Hodge DO, Kuhl U, Schultheiss HP, Cooper LT.* Long-term risk of recurrence, morbidity and mortality in giant cell myocarditis. *Am J Cardiol*. 2015 Jun 15; 115 (12): 1733–1738. doi: 10.1016/j.amjcard.2015.03.023.
7. *Elamm CA, Al-Kindi SG, Bianco CM, Dhakal BP, Oliveira GH*. Heart Transplantation in Giant Cell Myocarditis: Analysis of the United Network for Organ Sharing Registry. *J Card Fail*. 2017; 23 (7): 566–569. doi: 10.1016/j.cardfail.2017.04.015.
8. *Благова ОВ, Недоступ АВ*. Современные маски миокардита (от клинических синдромов к диагнозу). *Российский кардиологический журнал*. 2014; 19 (5): 13–22. *Blagova OV, Nedostup AV*. Contemporary masks of the myocarditis (from clinical signs to diagnosis). *Russian Journal of Cardiology*. 2014; (5): 13–22. [In Russ., English abstract]. doi.org/10.15829/1560-4071-2014-5-13-22.
9. *Cooper LT Jr, Berry GJ, Shabetai R*. Idiopathic giant-cell myocarditis – natural history and treatment. Multicenter Giant Cell Myocarditis Study Group Investigators. *N Engl J Med*. 1997; 336 (26): 1860–1866. doi: 10.1056/NEJM199706263362603.
10. *Ekström K, Lehtonen J, Kandolin R, Räisänen-Sokolowski A, Salmenkivi K, Kupari M*. Long-term outcome and its predictors in giant cell myocarditis. *Eur J Heart Fail*. 2016, 18: 1452–1458. doi: 10.1002/ejhf.606.
11. *Ammirati E, Roghi A, Oliva F, Turazza FM, Frigerio M, Pedrotti P*. Ventricular aneurysm as a complication of giant cell myocarditis. [Article in Italian]. *G Ital Cardiol (Rome)*. 2015; 16 (6): 389–390. doi: 10.1714/1934.21040.
12. *Благова ОВ, Недоступ АВ, Коган ЕА, Седов ВП, Донников АЕ, Кадочникова ВВ и др*. ДКМП как клинический синдром: результаты нозологической диагностики с применением биопсии миокарда и дифференцированного лечения у вирус-позитивных и вирус-негативных больных. *Российский кардиологический журнал*. 2016; 21 (1): 7–19. *Blagova OV, Nedostup AV, Kogan EA, Sedov VP, Donnikov AE, Kadochnikova VV et al*. DCMP as a clinical syndrome: results of nosological diagnostics with myocardial biopsy and differentiated treatment in virus-positive and virus-negative patients. *Russian Journal of Cardiology*. 2016; 21 (1): 7–19. [In Russ., English abstract]. doi.org/10.15829/1560-4071-2016-1-7-19.
13. *Готье СВ, Шевченко АО, Кормер АЯ, Попцов ВН, Саитгареев РШ, Шумаков ДВ, Захаревич ВМ*. Три десятилетия трансплантации сердца в ФНЦТИО имени академика В.И. Шумакова: отдаленные результаты. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2015, 17 (2): 70–73. *Gautier SV, Shevchenko AO, Kormer AYa, Poptsov VN, Saitgareev RSh, Shumakov DV, Zakharevich VM*. Three decades of heart transplantation in the Shumakov center: long-term outcomes. *Vestnik transplantologii i iskusstvennyh organov*. 2015; XVII (2): 70–73. doi.org/10.15825/1995-1191-2018-4-8-13.
14. *Gkouziouta A, Miliopoulos D, Karavolias G, Lazaros G, Kaklamanis L, Kelepeshis G et al*. Acute cytomegalovirus infection triggering fatal giant cell myocarditis. *Int J Cardiol*. 2016; 214: 204–206. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.03.202.
15. *Zhou Z, Chen X, Liu G, Pu J, Wu J*. Presence of Multiple Autoimmune Antibodies Involved in Concurrent Myositis and Myocarditis and Myasthenia Gravis Without Thymoma: A Case Report. *Front Neurol*. 2019; 10: 770. doi: 10.3389/fneur.2019.00770.
16. *Suarez-Barrientos A, Wong J, Bell A, Lyster H, Karagiannis G, Banner NR*. Usefulness of Rabbit Anti-thymocyte Globulin in Patients With Giant Cell Myocarditis. *Am J Cardiol*. 2015; 116 (3): 447–451. doi: 10.1016/j.amjcard.2015.04.040.
17. *Patel AD, Lowes B, Chamsi-Pasha MA, Radio SJ, Hyden M, Zolty R*. Sirolimus for Recurrent Giant Cell Myocarditis After Heart Transplantation: A Unique Therapeutic Strategy. *Am J Ther*. 2019; 26 (5): 600–603. doi: 10.1097/MJT.0000000000000796.
18. *Шевченко АО, Никитина ЕА, Колоскова НН, Шевченко ОП, Готье СВ*. Контролируемая артериальная гипертензия и выживаемость без нежелательных событий у реципиентов сердца. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2018; 17 (4): 4–11. *Shevchenko AO, Nikitina EA, Koloskova NN, Shevchenko OP, Gautier SV*. Controlled arterial hypertension and adverse event free survival rate in heart recipients. *Cardiovascular therapy and prevention*. 2018; 17 (4): 4–11. doi: 10.15829/1728-8800-2018-4-4-11.
19. *Montero S, Aissaoui N, Tadié JM, Bizouarn P, Scherrer V, Persichini R et al*. Fulminant giant-cell myocarditis on mechanical circulatory support: Management and outcomes of a French multicentre cohort. *Int J Cardiol*. 2018; 253: 105–112. doi: 10.1016/j.ijcard.2017.10.053.
20. *Fallon JM, Parker AM, Dunn SP, Kennedy JLW*. A giant mystery in giant cell myocarditis: navigating diagnosis, immunosuppression, and mechanical circulatory support. *ESC Heart Fail*. 2020; 7 (1): 315–319. doi: 10.1002/ehf2.12564.
21. *Elamm CA, Al-Kindi SG, Bianco CM, Dhakal BP, Oliveira GH*. Heart Transplantation in Giant Cell Myocarditis: Analysis of the United Network for Organ Sharing Registry. *J Card Fail*. 2017; 23 (7): 566–569. doi: 10.1016/j.cardfail.2017.04.015.

Статья поступила в редакцию 1.10.2020 г.
The article was submitted to the journal on 1.10.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-4-183-191

СЛУЧАЙ УСПЕШНОГО ЛЕЧЕНИЯ СИНДРОМА ИСЧЕЗАЮЩЕГО ПРОМЕЖУТОЧНОГО БРОНХА ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ЛЕГКИХ

И.В. Пашков[1], М.Т. Беков[1], Р.А. Латыпов[1], Д.О. Олешкевич[1], Е.Ф. Шигаев[1], Е.В. Лебедев[1], К.С. Смирнов[1], 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

Синдром исчезающего промежуточного бронха – это разновидность периферических бронхиальных стенозов, развивающихся у реципиентов донорских легких в сроки от 2 до 9 месяцев после трансплантации. Отсутствие своевременной диагностики и эффективного лечения приводит к снижению продолжительности и качества жизни. Представленное клиническое наблюдение демонстрирует успешное продолжительное лечение синдрома исчезающего промежуточного бронха у пациента после трансплантации донорских легких с применением методов интервенционной бронхологии.

Ключевые слова: трансплантация легких, муковисцидоз, бронхиальный стеноз, синдром исчезающего промежуточного бронха.

SUCCESSFUL TREATMENT OF VANISHING BRONCHUS INTERMEDIUS SYNDROME FOLLOWING LUNG TRANSPLANTATION

I.V. Pashkov[1], M.T. Bekov[1], R.A. Latypov[1], D.O. Oleshkevich[1], E.F. Shigaev[1], E.V. Lebedev[1], K.S. Smirnov[1], 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

The vanishing bronchus intermedius syndrome is a type of peripheral bronchial stenosis that develops in lung recipients within two to nine months after transplantation. Lack of timely diagnosis and effective treatment leads to increased mortality and poor quality of life. The clinical case presented demonstrates the successful long-term treatment of vanishing bronchus intermedius syndrome in a lung recipient using interventional bronchoscopy.

Keywords: lung transplantation, cystic fibrosis, bronchial stenosis, vanishing bronchus intermedius syndrome.

ВВЕДЕНИЕ

Бронхиальные осложнения после трансплантации легких, по данным ведущих трансплантационных центров, развиваются в 2–18% [1–8]. Среди них наибольшее количество представлено бронхиальными стенозами, частота которых варьирует от 1,4 до 32% [9, 10], что, несомненно, демонстрирует высокую заинтересованность в методах, направленных на их своевременную диагностику и коррекцию.

Наиболее часто бронхиальные стенозы развиваются в сроки 2–9 месяцев после операции, но иногда могут диагностироваться и через несколько лет после трансплантации [11]. Согласно классификации Международного общества трансплантации сердца и легких, бронхиальные стенозы в трансплантированном

Для корреспонденции: Латыпов Роберт Альбертович. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (968) 819-27-09. E-mail: livertranspl@gmail.com

Corresponding author: Robert Latypov. Address: 1, Shcukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (968) 819-27-09. E-mail: livertranspl@gmail.com

легком делятся на центральные и периферические. Центральные бронхиальные стенозы локализуются на уровне анастомоза и в пределах 2 см от него, периферические – на расстоянии более 2 см от линии швов, в проксимальном направлении [5].

Стеноз промежуточного бронха – одна из разновидностей периферических стенозов, наблюдающаяся в 2–5% случаев трансплантации донорских легких. Состояние, характеризующееся рецидивирующим в связи с отсутствием продолжительного эффекта от проводимого лечения течением, приводящим к атрезии промежуточного бронха, носит название синдрома исчезающего промежуточного бронха [5, 12–14]. По данным S. Shah et al., медиана выживаемости реципиентов после трансплантации легких при развитии синдрома исчезающего промежуточного бронха составляет около 25,3 месяца [15]. Согласно данным S. Murthy et al., рестенозы после эндоскопической коррекции возникают в 35% случаев, а при повторном вмешательстве могут достигать 70% [3].

В связи с появлением новых трансплантационных центров в Российской Федерации, динамичным развитием программ трансплантации легких в ведущих клиниках актуальность проблемы синдрома исчезающего промежуточного бронха не вызывает сомнения, что обуславливает необходимость систематизации накопленного опыта и демонстрации случаев эффективного лечения. В статье описывается случай успешного продолжительного лечения рецидивирующего стеноза промежуточного бронха (синдрома исчезающего промежуточного бронха), развившегося через 2 месяца после трансплантации легких, с применением методов мультимодальной интервенционной бронхологии.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

В сентябре 2017 г. в ФГБУ «НМИЦ ТИО имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России была направлена женщина 1988 г. р. (29 лет) с диагнозом «муковисцидоз (F508del/F508del/3272-16T>A), смешанная форма, тяжелое течение; хронический гнойно-обструктивный бронхит; диффузные бронхоэктазы, диффузный пневмосклероз; дыхательная недостаточность 3-й степени; хронический панкреатит; полипозный риносинусит с полипами носа, 2-й степени» – для обследования с целью уточнения показаний и исключения противопоказаний к трансплантации легких.

Из анамнеза пациентки было известно о частых эпизодах респираторных заболеваний с раннего детского возраста. Диагноз «муковисцидоз» поставлен в возрасте 14 лет. С того же времени диагностировано хроническое инфицирование дыхательных путей Pseudomonas aeruginosa. В 2005 и 2012 годах пациентка родила двоих здоровых детей. С 2009 года диагностировано хроническое инфицирование дыхательных путей Burcholderia cepacia complex. В период с 2016-го по 2017 год отмечено резкое ухудшение состояния в виде прогрессирования явлений дыхательной недостаточности с развитием потребности в постоянной инсуфляции кислорода (поток до 3–4 л/мин).

По результатам проведенного обследования подтверждена терминальная стадия повреждения легких. При компьютерной томографии органов грудной клетки выявлена буллезно-кистозная трансформация обоих легких с множественными бронхоэктазами. При оценке функции внешнего дыхания (ФВД): ЖЕЛ – 1,77 л (47%), $ОФВ_1$ – 0,66 (21%), индекс Тиффно – 37,2. Анализ газового состава артериальной крови демонстрировал выраженную гипоксемию 2–3-й степени: pO_2 – 42 мм рт. ст., pCO_2 – 65 мм рт. ст. В микробиологическом анализе посева мокроты диагностирована полирезистентная Burcholderia cepacia complex. Ввиду прогрессирующего течения основного заболевания, отсутствия других эффективных методов лечения и бесперспективности дальнейшей консервативной терапии в сентябре 2017 г. пациентка была включена в лист ожидания трансплантации легких от посмертного донора. Длительность ожидания органа от посмертного донора составила 12 месяцев.

02.10.2018 г. выполнена двусторонняя последовательная трансплантация легких без применения методов искусственного кровообращения.

В качестве донора выступала женщина 38 лет с диагнозом «смерть головного мозга в результате острого нарушения мозгового кровообращения по геморрагическому типу». Факт смерти головного мозга установлен на основании действующего законодательства (приказ МЗ РФ № 908н от 25.12.2014 г.). Продолжительность искусственной вентиляции легких донора составила 24 часа; газовый состав крови (на 100% фракции кислорода) в артериальной крови – pO_2 – 520 мм рт. ст., pCO_2 – 36 мм рт. ст.; эпизодов гипотензии и остановки сердечной деятельности в период кондиционирования донора не отмечалось. Изъятие донорских легких осуществлено по стандартной методике в рамках мультиорганной эксплантации. В качестве консервирующего раствора использован «Celsior» (IGL, Франция) объемом 4 литра.

Продолжительность трансплантации легких составила 10 часов 3 минуты. Интраоперационный период протекал без особенностей. Период фармако-холодовой консервации правого легочного трансплантата составил 6 часов 20 минут, левого – 9 часов 50 минут соответственно. В связи с выраженным несоответствием диаметров бронхов донора и реципиента бронхиальные анастомозы были выполнены телескопическим методом, путем

инвагинации культи бронха донора в главный бронх реципиента.

Пациентка экстубирована на 2-е сутки после операции. Ранний послеоперационный период протекал без осложнений и значимых клинических событий. Дренажи удалены на 3-и и 5-е послеоперационные сутки. Признаков дисфункции легочных трансплантатов не отмечалось. В течение госпитализации по результатам микробиологического анализа мокроты эпизодически диагностировался рост Klebsiella pneumonia, без высева Burcholderia cepacia complex. Лабораторно-инструментальные показатели к концу третьей недели после трансплантации легких: ФВД: ЖЕЛ – 1,88 л (54%), $ОФВ_1$ – 1,79 (59%), индекс Тиффно – 83,4; КЩС капиллярной крови (на атмосферном воздухе): pO_2 – 79 мм рт. ст., pCO_2 – 38 мм рт. ст., SpO_2 на атмосферном воздухе 96–97%. Выписана на 28-е послеоперационные сутки в удовлетворительном состоянии с трехкомпонентной иммуносупрессивной терапией (такролимус, метилпреднизолон, микофенолата мофетил). Сопутствующая терапия включала: антибактериальную, противовирусную, противогрибковую и ингаляционную бронхолитическую, гастропротективную терапию. Пациентка регулярно обследовалась согласно протоколу наблюдения реципиентов донорских легких.

Спустя 2 месяца после трансплантации у пациентки возникли жалобы на кашель с затрудненным отхождением скудного количества мокроты, периодическое повышение температуры тела до фебрильных цифр, одышку при физической нагрузке. При амбулаторном обследовании выявлено незначительное снижение показателей функции внешнего дыхания: (ЖЕЛ – 2,03 л (54%), $ОФВ_1$ – 1,76 л (55%), индекс Тиффно – 87). При проведении бронхоскопии диагностирована рубцовая окклюзия промежуточного бронха (рис. 1, а). По данным КТ органов грудной клетки – рентгенологическая картина воспалительной инфильтрации средней и нижней долей правого легкого (рис. 1, б). Лабораторные исследования демонстрировали рост маркеров воспаления: С-реактивный белок 154 мг/л, лейкоцитоз до 12 тыс. со сдвигом лейкоцитарной формулы влево. По результатам микробиологического исследования бронхоальвеолярного лаважа выявлена реинфекция дыхательных путей Burcholderia cepacia complex и Klebsiella pneumonia.

Учитывая клинико-рентгенологическую картину средне- и нижнедолевой обструктивной пневмонии, 17.12.2018 г. в условиях операционной методом ригидной бронхоскопии проведено эндоскопическое баллонное бужирование стеноза промежуточного бронха (баллон-расширитель для дилатации Endo-Flex, 7 Fr, трехшаговый, Германия). Противомикробная терапия включала назначение антибиотиков (меропенем, ко-тримоксазол, пиперациллин + тазобактам), противогрибковых препаратов (флуконазол), ингаляционную терапию (колистин, амфотерицин). С целью профилактики рестеноза произведена конверсия мофетила микофенолата на эверолимус с достижением целевых значений концентрации 4–5 нг/мл. На фоне проведенного лечения

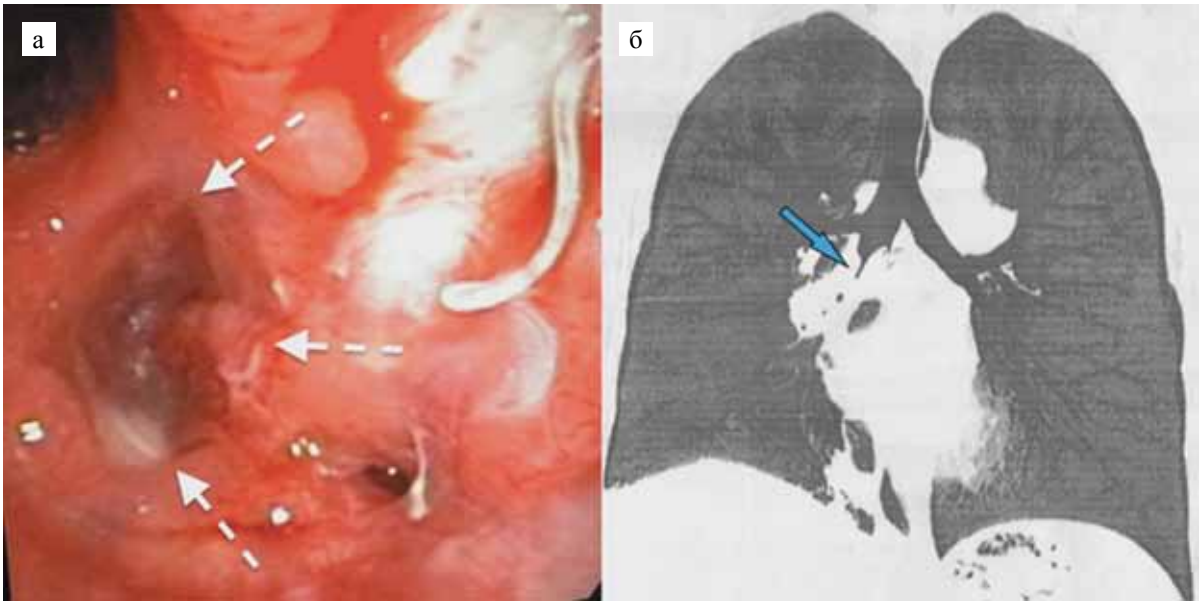

Рис. 1. Рубцовая окклюзия промежуточного бронха: а – эндоскопическая картина окклюзии промежуточного бронха (обозначено стрелками); б – КТ-признаки окклюзии (указано стрелкой)

Fig. 1. Cicatricial occlusion of the bronchus intermedius: a – endoscopic picture of the occlusion of the bronchus intermedius (indicated by arrows); б – CT signs of occlusion (indicated by an arrow)

по данным бронхоскопии и компьютерной томографии отмечалась положительная динамика в виде формирования стойкого просвета промежуточного бронха диаметром 5–6 мм, уменьшения площади и интенсивности воспалительной инфильтрации средней и нижней доли правого легкого (рис. 2). Пациентка выписана на 12-е сутки после баллонной бронхопластики стеноза промежуточного бронха в состоянии положительной клинико-лабораторно-инструментальной динамики. Показатели ФВД на момент выписки из стационара: ЖЕЛ – 2,04 л (58%), $ОФВ_1$ – 1,83 л (60%), индекс Тиффно – 89,7.

Через 4 месяца после трансплантации и 2 месяца после баллонной дилатации рубцового стеноза пациентка отметила возобновление признаков дыхательной недостаточности. При амбулаторном обследовании по данным бронхоскопии выявлен рестеноз промежуточного бронха до 3–4 мм (рис. 3, а). На КТ

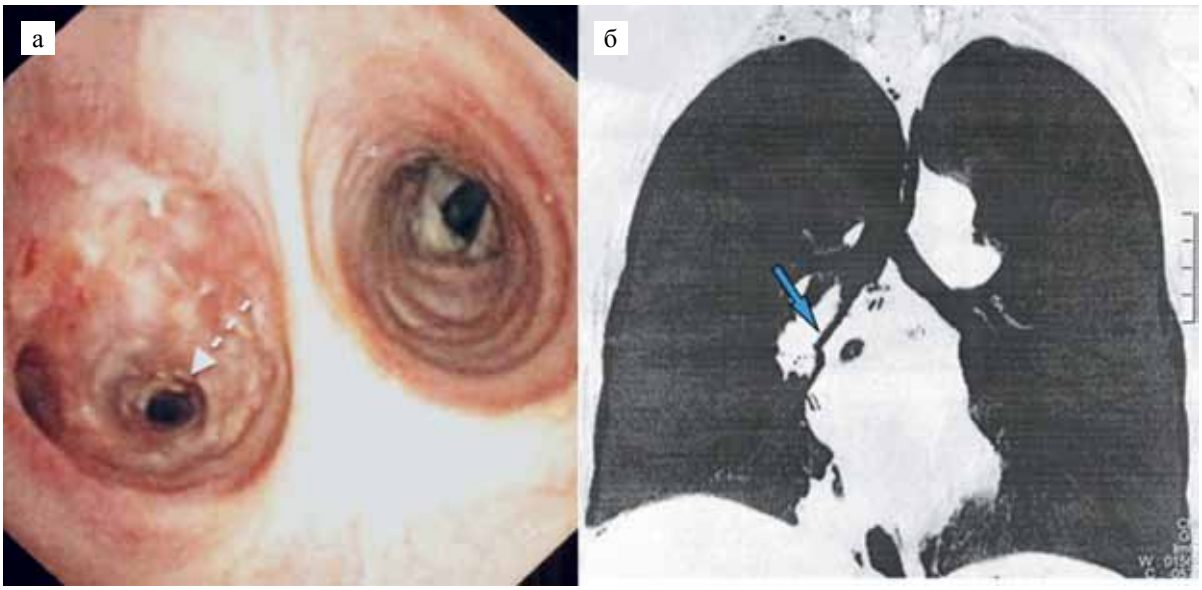

Рис. 2. Разрешение стеноза промежуточного бронха: а, б – просвет промежуточного бронха (указано стрелками)

Fig. 2. ResoluResolution of bronchus intermedius stenosis: a, б – lumen of the bronchus intermedius (indicated by arrows)

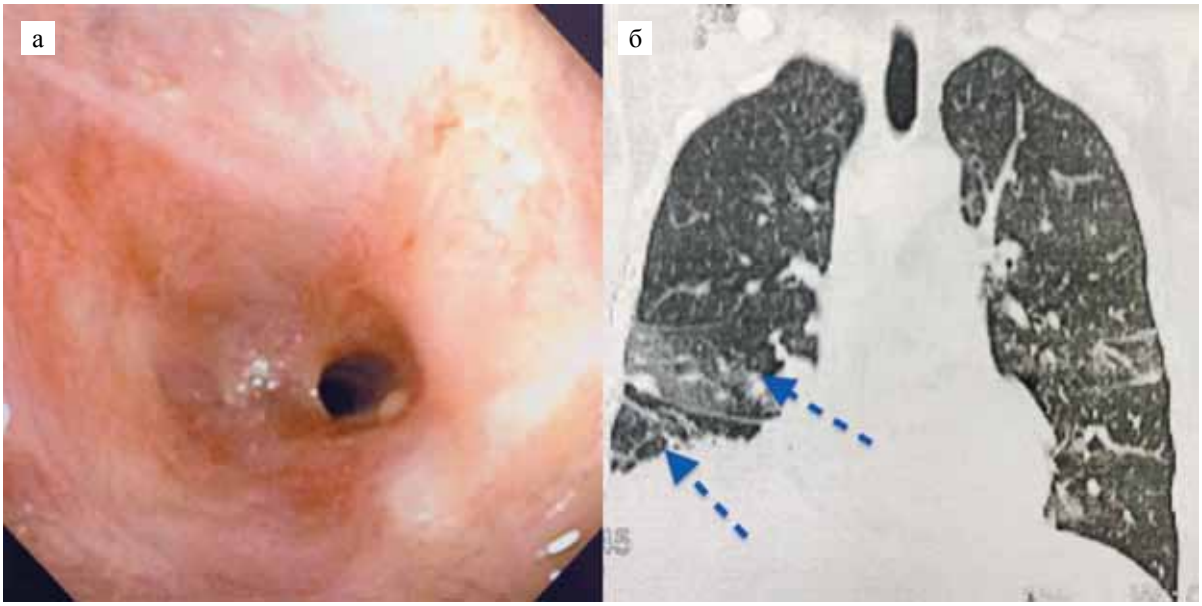

Рис. 3. Развитие рестеноза после баллонной дилатации: а – сужение просвета промежуточного бронха (d ~ 3–4 мм); б – КТ-признаки пневмонии

Fig. 3. Development of restenosis after balloon dilatation: a – narrowing of the lumen of the bronchus intermedius; (d ~ 3–4 mm); б – CT signs of pneumonia (indicated by arrow)

органов грудной клетки картина зон воспалительной инфильтрации в средней и нижней долях правого легкого (рис. 3, б). По данным ФВД: ЖЕЛ – 1,85 л (52%), $ОФВ_1$ – 1,74 л (54%), индекс Тиффно – 85,9.

В рамках комплексного лечения назначена антибактериальная терапия по схеме: меропенем, ко-тримоксазол, пиперациллин + тазобактам. Под общим обезболиванием, в условиях ригидной бронхоскопии 31.01.19 и 11.02.19 проведено два последовательных эндоскопических баллонных бужирования стеноза в области промежуточного бронха в комбинации с аргоно-плазменной коагуляцией рубцовых тканей, до достижения просвета 5–6 мм в диаметре.

В течение следующего месяца после коррекции стеноза, находясь на стационарном лечении, пациентка перенесла повторную правостороннюю средне- и нижнедолевую пневмонию, ассоциированную с полирезистентной Burcholderia cepacia complex, осложнившуюся явлениями дыхательной недостаточности 2-й степени (гипоксемия артериальной крови до 58 мм рт. ст., десатурация до 90% на атмосферном воздухе).

Спустя 6 месяцев после трансплантации легких и 4 месяца от манифестации рецидивирующего стеноза промежуточного бронха, потребовавшего серии баллонных бронхопластик, в связи с нестойким эффектом от проводимого лечения принято решение о стентировании промежуточного бронха непокрытым нитиноловым баллонорасширяемым стентом. Выбор разновидности стента обусловлен явлениями персистирующей Burcholderia cepacia-ассоциированной пневмонии и необходимостью сохранения эффективного мукоцилиарного клиренса в зоне стентирования. Имплантация стента, осуществленная в условиях ригидной бронхоскопии (рис. 4), обеспечила возможность проведения длительных программных санаций бронхиального дерева, необходимых в связи с продолжающейся правосторонней нижне- и среднедолевой пневмонией.

Продолжительные сроки имплантации непокрытого бронхиального стента (1,5 месяца) привели к его частичной обтурации за счет разрастания рубцово-грануляционной ткани в его просвете. 27.05.2019 в условиях ригидной бронхоскопии выполнена экстракция стента (рис. 5).

Динамическое наблюдение показало сохраненную каркасную функцию промежуточного бронха с просветом, проходимым для 6-мм бронхоскопа, что в совокупности с положительной клинико-лабораторно-инструментальной динамикой позволило выписать пациентку под амбулаторное наблюдение.

Спустя 9 месяцев с момента трансплантации легких, 7 месяцев после манифестации синдрома исчезающего промежуточного бронха и 1 месяц после удаления непокрытого нитинолового стента пациентка вновь стала отмечать появление одышки во время умеренной физической нагрузки. При выполнении бронхоскопии отмечен рестеноз промежуточного бронха до 2 мм (рис. 6, а). 01.09.2019 в условиях ригидной бронхоскопии выполнено повторное эндоскопическое рестентирование промежуточного

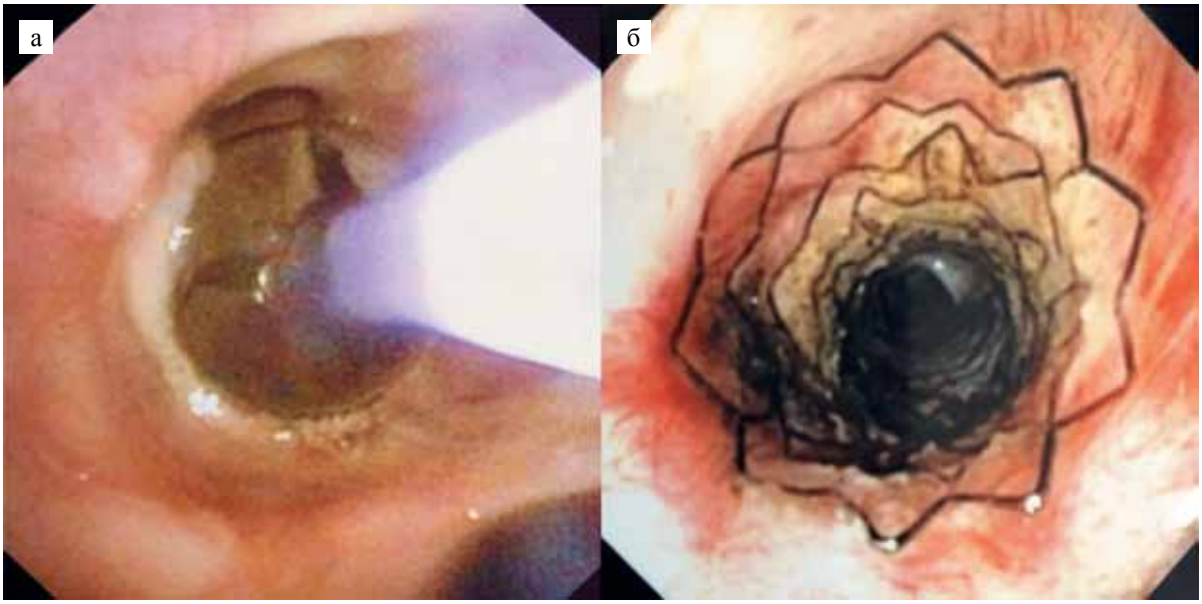

Рис. 4. Стентирование промежуточного бронха нитиноловым баллонорасширяемым непокрытым стентом: а – баллонная дилатация ПБ; б – стент в ПБ

Fig. 4. Stenting of the bronchus intermedius with an uncoated self-expanding nitinol stent: a – balloon dilatation of the bronchus intermedius; б – stent in the bronchus intermedius

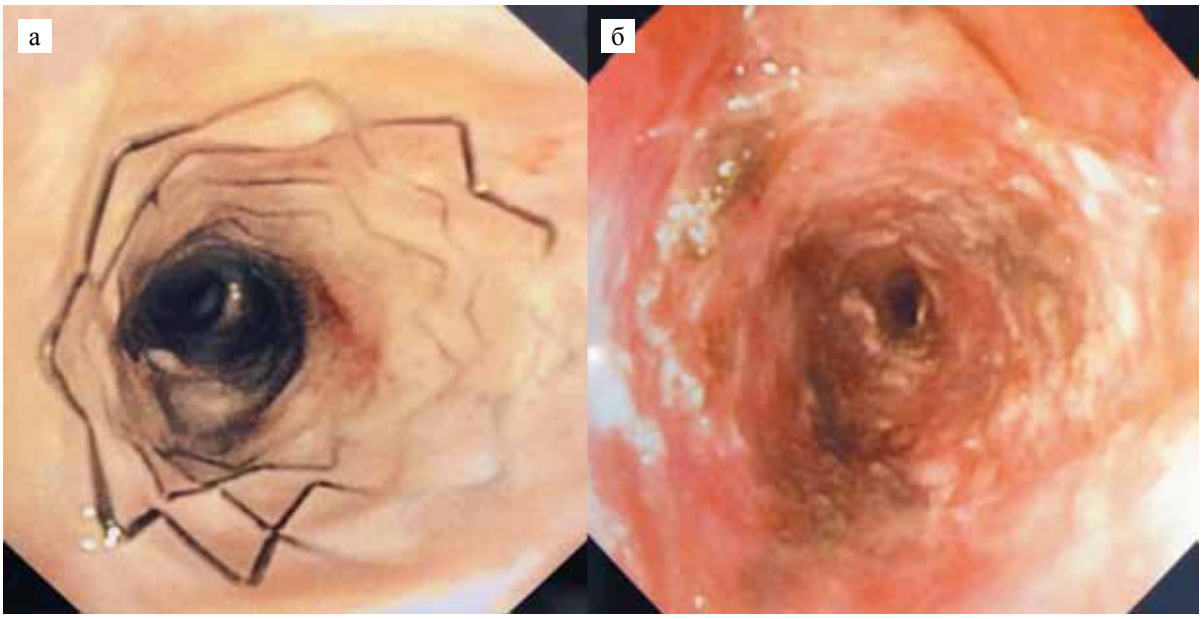

Рис. 5. Экстракция непокрытого нитинолового стента: а – рубцово-грануляционная ткань в просвете стента; б – после экстракции стента

Fig. 5. Extraction of uncoated nitinol stent: a – cicatricial-granulation tissue in the stent lumen; б – after stent extraction

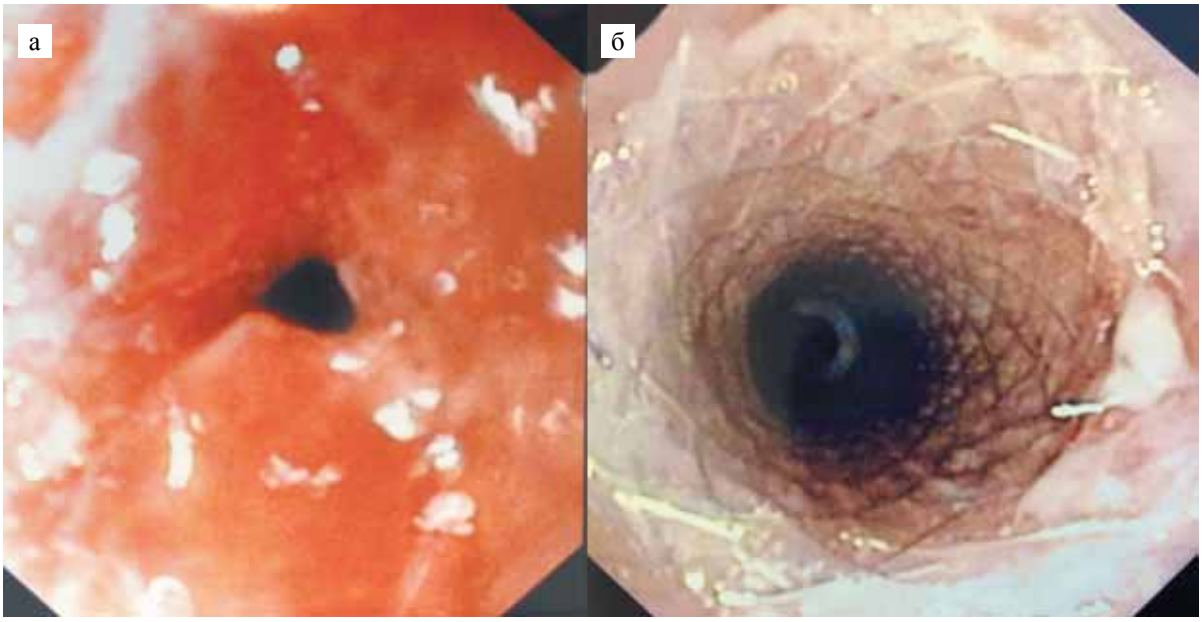

Рис. 6. Стентирование рестеноза промежуточного бронха: а – рестеноз промежуточного бронха до 2 мм; б – рестентирование промежуточного бронха нитиноловым самораскрывающимся стентом d = 8 мм

Fig. 6. Stenting of bronchus intermedius restenosis: a – up to 2 mm bronchus intermedius restenosis; б – re-stenting of the bronchus intermedius with a self-expanding nitinol stent d = 8 mm

бронха покрытым самораскрывающимся нитиноловым стентом диаметром 8 мм и длиной 19 мм (Boston Ultraflex, США) (рис. 6, б).

На протяжении 6 месяцев после рестентирования состояние пациентки сохранялось стабильным, без признаков дыхательной недостаточности. Регулярные эндоскопические исследования демонстрировали адекватный просвет на протяжении промежуточного бронха.

Через 16 месяцев после трансплантации легких, 14 месяцев с момента манифестации синдрома исчезающего промежуточного бронха и 7 месяцев от

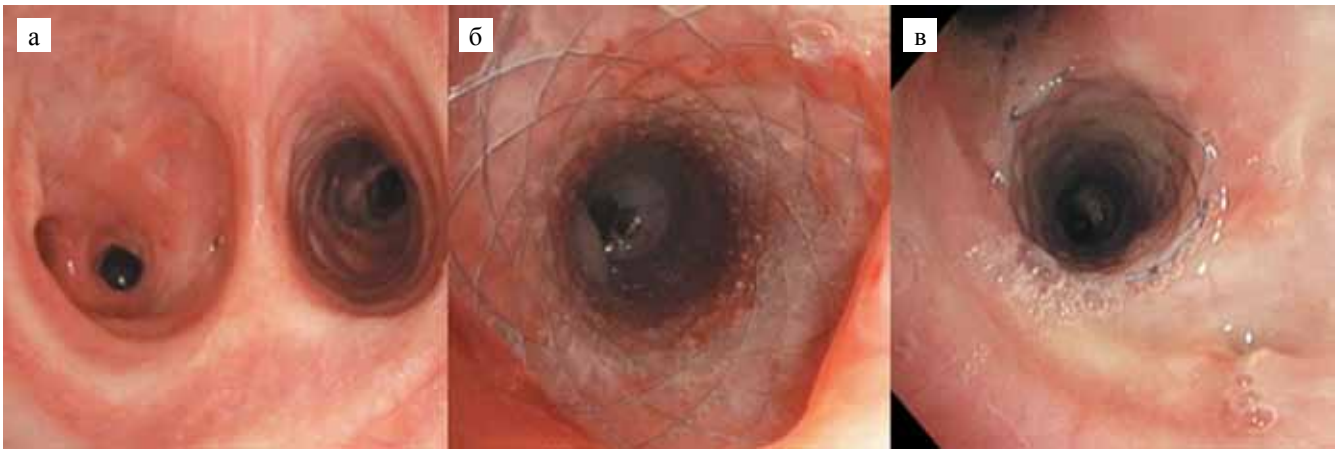

Рис. 7. Конверсия нитинолового стента диаметром 8 мм на нитиноловый стент диаметром 10 мм: а – проксимальный край стента (d ~ 4–5 мм); б – дистальная и средняя треть стента (d ~ 8 мм); в – после постановки самораскрывающегося нитинолового стента (d = 10 мм)

Fig. 7. Conversion of a 8 mm-diameter nitinol stent to a 10 mm-diameter nitinol stent: a – proximal edge of the stent (d ~ 4–5 mm); б – distal and middle third of the stent (d ~ 8 mm); в – after placement of a self-expanding nitinol stent (d = 10 mm)

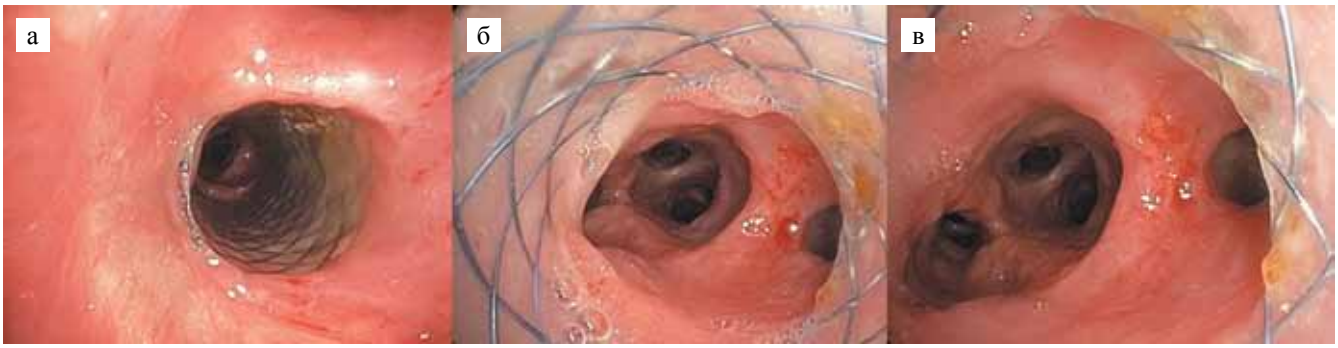

Рис. 8. Вид стента промежуточного бронха через 6 месяцев после имплантации: а – проксимальный край стента; б – дистальный край стента; в – область бифуркации промежуточного бронха

Fig. 8. View of the stent in the bronchus intermedius 6 months after implantation: a – proximal edge of the stent; б – distal edge of the stent; в – area of bifurcation of the bronchus intermedius

повторного рестентирования при плановом эндоскопическом контроле выявлены признаки повторного рестеноза в области проксимального края имплантированного ранее стента (рис. 7, а, б).

01.02.2020 в условиях ригидной бронхоскопии предпринято удаление стента из промежуточного бронха, проведена криоабляция зоны рубцового стеноза. С целью достижения гемостаза после экстракции стента использовались электрохирургические методы воздействия. Через 5 суток, по достижении отчетливой положительной динамики в процессах репарации бронхиальной слизистой после применения электрохирургических методов гемостаза, было предпринято повторное стентирование с использованием аналогичного самораскрывающегося нитинолового стента диаметром 10 мм (рис. 7, в).

На протяжении шести месяцев с момента последнего рестентирования при выполнении плановых исследований признаки рестеноза промежуточного бронха отсутствуют, функция трансплантированных легких удовлетворительная (ЖЕЛ – 2,93 л (84%), $ОФВ_1$ – 2,16 л (71%), индекс Тиффно – 74%), клинико-лабораторно-инструментальные показатели находятся в пределах нормальных значений. При эндоскопическом исследовании стент в промежуточном бронхе позиционирован правильно, просвет стента проходим, краевые рубцовые и грануляционные изменения отсутствуют (рис. 8).

ОБСУЖДЕНИЕ

Стенозы являются наиболее частой разновидностью бронхиальных осложнений в отдаленные сро-

ки после трансплантации легких [9, 16, 17]. На сегодняшний день не существует единого мнения и исчерпывающего понимания механизмов развития бронхиальных стенозов, и в частности, синдрома исчезающего промежуточного бронха. Мнение большинства авторов склоняется в пользу телескопического бронхиального анастомоза и высоковирулентной инфекции, персистирующей в трахеобронхиальном дереве, как основных факторов развития стеноза промежуточного бронха. Другие авторы отмечают значимость таких факторов, как продолжительность искусственной вентиляции легких, длительность холодовой ишемии легочного трансплантата, ишемически-реперфузионное повреждение трансплантата, нарушение кровоснабжения тканей бронхиального дерева в результате пересечения бронхиальных артерий [2, 4, 16, 18].

Основными причинами развития синдрома исчезающего промежуточного бронха в нашем наблюдении послужили: выполнение телескопического анастомоза (применен ввиду выраженных различий диаметров просвета бронха реципиента и бронха донора) и наличие хронической инфекции дыхательных путей *Pseudomonas aeruginosa* и *Burcholderia cepacia*, а позднее и *Klebsiella pneumonia*.

В течение 2 месяцев после манифестации синдрома исчезающего промежуточного бронха в виде обструктивной пневмонии тактика нашего лечения ограничивалась этапным баллонным бужированием. Сокращение продолжительности положительного эффекта от проводимых вмешательств угрожало повторным развитием бронхиальной обструкции с исходом в средне- и нижнедолевую пневмонию. С целью сохранения адекватного просвета промежуточного бронха, обеспечивающего эффективную эвакуацию содержимого дыхательных путей средней и нижней долей правого легкого, было предпринято стентирование области рецидивирующего стеноза непокрытым нитиноловым стентом. Несмотря на риски прорастания, вплоть до полной обструкции, выбор был сделан в пользу непокрытого металлического стента, что позволило сохранить эффективный мукоцилиарный клиренс в области имплантации и тем самым избежать усугубления течения инфекционного процесса и добиться разрешения воспалительно-инфильтративных изменений в правом легком. Удаление частично проросшего рубцово-грануляционной тканью непокрытого металлического стента закономерно потребовало применения эндоскопических электрохирургических методов гемостаза. Повторные вмешательства в виде этапных баллонных или электрохирургических бронхопластик с имплантацией стентов позволили добиться устойчивого продолжительного эффекта в виде сохранения просвета промежуточного бронха, достаточного для удовлетворительных показателей функции внешнего дыхания. Таким образом, по состоянию на август 2020 г. продолжительность эффективной коррекции синдрома исчезающего промежуточного бронха составляет 21 месяц. Клинико-лабораторно-инструментальная оценка демонстрирует отсутствие признаков дыхательной недостаточности и дисфункции легочного трансплантата.

ВЫВОДЫ

Строгий амбулаторный и удаленный контроль в совокупности с активным использованием методов обсервационной и интервенционной бронхологии являются эффективными мерами своевременной диагностики и оперативной коррекции тяжелых форм бронхиальных осложнений, угрожающих развитием дисфункции легочного трансплантата, снижением качества и продолжительности жизни реципиентов донорских легких.

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. *Frye L, Machuzak MS*. Airway complications after lung transplantation. *Clinics in Chest Medicine*. 2017; 38 (4): 693–706. doi: 10.1016/j.ccm.2017.07.010.
2. *Santacruz JF, Mehta AC*. Airway complications and management after lung transplantation: ischemia, dehiscence, and stenosis. *Proceedings of the American thoracic society*. 2009; 6 (1): 79–93.
3. *Murthy SC, Blackstone EH, Gildea TR, Gonzalez-Stawinski GV, Feng J, Budev M et al.* Impact of anastomotic airway complications after lung transplantation. *The Annals of thoracic surgery*. 2007; 84 (2): 401–409. doi: 10.1016/j.athoracsur.2007.05.018.
4. *Murthy SC, Gildea TR, Machuzak MS*. Anastomotic airway complications after lung transplantation. *Current Opinion in Organ Transplantation*. 2010; 15 (5): 582–587. doi: 10.1097/MOT.0b013e32833e3e6e.
5. *Crespo MM, McCarthy DP, Hopkins PM, Clark SC, Budev M, Bermudez CA et al.* ISHLT Consensus Statement on adult and pediatric airway complications after lung transplantation: Definitions, grading system, and therapeutics. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2018; 37 (5): 548–563. doi: 10.1016/j.healun.2018.01.1309.
6. *Van Berkel V, Guthrie TJ, Pur V, Krupnick AS, Kreisel D, Patterson GA et al.* Impact of anastomotic techniques on airway complications after lung transplant. *The Annals of*

thoracic surgery. 2011; 92 (1): 316–321. doi: 10.1016/j.athoracsur.2011.03.031.

7. *Yserbyt J, Dooms C, Vos R, Dupont LJ, Van Raemdonck DE, Verleden GM.* Anastomotic airway complications after lung transplantation: risk factors, treatment modalities and outcome – a single-centre experience. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. 2016; 49 (1): e1–e8. doi: 10.1093/ejcts/ezv363.
8. *FitzSullivan E, Gries CJ, Phelan P, Farjah F, Gilbert E, Keech JC et al*. Reduction in airway complications after lung transplantation with novel anastomotic technique. *The Annals of thoracic surgery*. 2011; 92 (1): 309–315. doi: 10.1016/j.athoracsur.2011.01.077.
9. *Fonseca HV, Iuamoto LR, Minamoto H.* Stents for bronchial stenosis after lung transplantation: should they be removed? *Transplantation proceedings*. 2015; 47 (4): 1029–1032.
10. *Schweiger T, Nenekidis I, Stadler JE, Schwarz S, Benazzo A, Jaksch P et al.* Single running suture technique is associated with low rate of bronchial complications after lung transplantation. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2020. doi: 10.1016/j.jtcvs.2019.12.119.
11. *Choong CK, Sweet SC, Zoole JB, Guthrie TJ, Mendeloff EN, Haddad FJ et al.* Bronchial airway anastomotic complications after pediatric lung transplantation: incidence, cause, management, and outcome. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 2006; 131 (1): 198–203. doi: 10.1016/j.jtcvs.2005.06.053.
12. *Hayes Jr D, Mansour HM*. Vanishing bronchus intermedius syndrome in a pediatric patient with cystic fibrosis after lung transplantation. *Pediatric transplantation*. 2012; 16 (8): E333–E337. doi: 10.1111/j.1399-3046.2012.01682.x.
13. *De Gracia J, Culebras M, Alvarez A, Catalán E, De la Rosa D, Maestre J et al.* Bronchoscopic balloon dilatation in the management of bronchial stenosis following lung transplantation. *Respiratory medicine*. 2007; 101 (1): 27–33. doi: 10.1016/j.rmed.2006.04.019.
14. *Marulli G, Loy M, Rizzardi G, Calabrese F, Feltracco P, Sartori F et al*. Surgical treatment of posttransplant bronchial stenoses. *Transplantation proceedings*. 2007; 39 (6): 1973–1975. doi: 10.1016/j.transproceed.2007.05.021.
15. *Shah SS, Karnak D, Minai O, Budev MM, Mason D, Murthy SC et al.* Symptomatic narrowing or atresia of bronchus intermedius following lung transplantation vanishing bronchus intermedius syndrome (VBIS). *Chest Meeting Abstracts*. 2006; 130 (4): 236S.
16. *Fallis RJ, Jablonski L, Moss S, Axelrod P, Clauss H.* Infectious complications of bronchial stenosis in lung transplant recipients. *Transplant Infectious Disease*. 2019; 21 (4): e13100. doi: 10.1111/tid.13100.
17. *Mahajan AK, Folch E, Khandhar SJ, Channick CL, Santacruz JF, Mehta AC et al.* The diagnosis and management of airway complications following lung transplantation. *Chest*. 2017; 152 (3): 627–638. doi: 10.1016/j.chest.2017.02.021.
18. *Alraiyes AH, Inaty H, Machuzak MS*. Vanishing Bronchus After Lung Transplantation. The Role of Sequential Airway Dilatations. *Ochsner Journal*. 2017; 17 (1): 71–75. doi: 10.1043/1524-5012-17.1.71.

Статья поступила в редакцию 31.08.2020 г.
The article was submitted to the journal on 31.08.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-4-192-196

МОРФОЛОГИЯ ТРАНСПЛАНТИРОВАННОЙ ПЕЧЕНИ ПРИ ВОЗВРАТНОМ ПРОГРЕССИВНОМ СЕМЕЙНОМ ВНУТРИПЕЧЕНОЧНОМ ХОЛЕСТАЗЕ ВТОРОГО ТИПА

И.М. Ильинский[1], Н.П. Можейко[1], О.М. Цирульникова[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

Прогрессирующий семейный внутрипеченочный холестаз II типа (ПСВХ-2), ранее известный как синдром Байлера, представляет собой заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования. Это заболевание уже в младенческом или раннем детском возрасте приводит к терминальной стадии печеночной недостаточности, при которой единственным радикальным методом лечения является трансплантация печени. В целом результаты пересадки печени хорошие, но в отдаленном периоде возможен возврат ПСВХ-2. Мы приводим наблюдение, в котором девочке в возрасте 28 месяцев, страдавшей циррозом печени в исходе ПСВХ-2, была выполнена родственная трансплантация левого латерального сектора печени (донор – бабушка). Через восемь лет после пересадки печени в связи с дисфункцией трансплантата была выполнена пункционная биопсия. Патогистологический диагноз: «возврат ПСВХ-2; F4». Нарастание печеночной недостаточности послужило причиной ретрансплантации левой доли печени также от родственного донора (матери). Патоморфологическая картина в биоптате и в печени, удаленной при ретрансплантации, была идентична, что еще раз подтвердило возврат ПСВХ-2.

Ключевые слова: возвратный прогрессивный семейный внутрипеченочный холестаз, ПСВХ, дистрофия гепатоцитов, многоядерные клетки.

MORPHOLOGY OF TRANSPLANTED LIVER IN RECURRENT PROGRESSIVE FAMILIAL INTRAHEPATIC CHOLESTASIS TYPE 2

I.M. Iljinsky[1], N.P. Mozheiko[1], O.M. Tsirulnikova[1, 2]

[1] Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation
[2] Sechenov University, Moscow, Russian Federation

Progressive familial intrahepatic cholestasis type 2 (PFIC-2), formerly known as Byler's syndrome, is an autosomal recessive disorder. In infancy or early childhood, this disease leads to end-stage hepatic disease, in which liver transplantation is the only radical treatment. In general, liver transplantation outcomes are good, but in the long term, PFIC-2 may reoccur. We present a case where a girl, aged 28 months, who suffered from cirrhosis resulting from PFIC-2, underwent a related transplantation of the left lateral sector of the liver (her grandmother as the donor). Punch biopsy was performed 8 years after the liver transplant due to graft dysfunction. Histopathology revealed a recurrent PFIC-2. F4. Increased liver failure was the reason for retransplantation of the left lobe of the liver also from a related donor (mother). Pathological pictures in the biopsy specimen and in the liver removed during retransplantation were identical, which once again confirmed PFIC-2 recurrence.

Keywords: recurrent progressive familial intrahepatic cholestasis, PFIC-2, hepatocyte dystrophy, multinucleated cells.

Для корреспонденции: Ильинский Игорь Михайлович. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (999) 877-60-95. E-mail: iiljinsky@mail.ru

Corresponding author: Igor Iljinsky. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (999) 877-60-95. E-mail: iiljinsky@mail.ru

Прогрессирующий семейный внутрипеченочный холестаз (ПСВХ) представляет собой гетерогенную группу заболеваний с аутосомно-рецессивным типом наследования. При ПСВХ нарушается желчеобразование и развивается гепатоцеллюлярный холестаз. В настоящее время известно шесть типов ПСВХ [1, 2]. Среди них ПСВХ II типа (ПСВХ-2), ранее известный как синдром Байлера, характеризуется нарушением гена ABCB11, который кодирует транспортный белок BSEP. Его отсутствие в каналикулярной мембране гепатоцитов вызывает холестаз и приводит к развитию фиброза печени и терминальной стадии заболевания в первом десятилетии жизни [3].

При ПСВХ-2 основными клиническими симптомами являются холестаз, кожный зуд и желтуха. В сыворотке крови активность гамма-глутамилтрансферазы в пределах нормы [4, 5]. Диагностика основана на клинических проявлениях, ультразвуковом исследовании печени, холангиографии и гистологии печени [5]. Анализ результатов паллиативных операций у детей показал уменьшение зуда и холестаза [6–8], но безальтернативным радикальным методом лечения остается трансплантация печени.

В целом результаты трансплантации печени страдавшим ПСВХ-2 хорошие [9]. Однако сравнительно недавно появились сообщения о том, что у пациентов с ПСВХ-2 после трансплантации печени развивается рецидив холестаза вместе с клиническими и гистологическими признаками первичной болезни. Рецидив заболевания связывают с появлением аутоантител против белка BSEP, которые ингибируют транспортную активность насоса солей желчи и вызывают тяжелый холестаз [3, 10–13].

Целью данного сообщения является одно из наблюдений, в котором при исследовании биоптатов трансплантированной печени были найдены гистологические признаки возврата ПСВХ-2.

СОБСТВЕННОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

Двадцать шестого ноября 2009 года девочке в возрасте 28 месяцев, страдавшей циррозом печени в исходе ПСВХ II типа, была выполнена родственная ортотопическая трансплантация левого латерального сектора печени от бабушки. Удаленная нативная печень была массой 630 г, размерами 19 × 15 × 11 × 6 см, поверхность коричнево-зеленого цвета, слабозернистая. На разрезе печень зеленовато-коричневого цвета, желчные протоки, преимущественно в области ворот, расширены, заполнены густой желчью и песком.

Гистологическое исследование. *Балочное и дольковое строение печени нарушено. Гепатоциты увеличены в размерах в 2–3 раза по сравнению с нормой, в состоянии выраженной белковой дистрофии, некрозы отдельных клеток (рис. 1). Большое количество многоядерных гигантских клеток. Внутриклеточный холестаз. Отмечается застой желчи в расширенных желчных капиллярах. Очаги скопления полинуклеарных лейкоцитов и их обломков в синусоидах. В склерозированных портальных трактах желчные протоки сохранены, полнокровие сосудов (рис. 2). Порто-портальные и порто-центральные септы с незначительной инфильтрацией лимфоидными клетками, с примесью полинуклеарных лейко-*

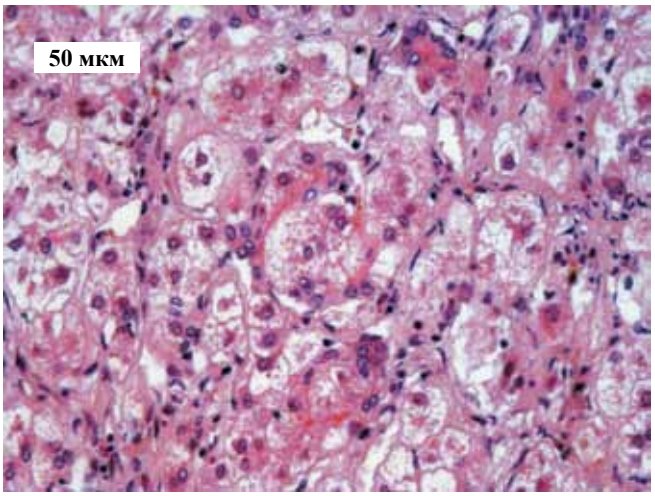

Рис. 1. Возраст девочки – 28 месяцев. Собственная печень. Дистрофия крупных гепатоцитов. Среди них видны многоядерные клетки. Окраска гематоксилином и эозином. ×400

Fig. 1. The girl is 28 months old. Native liver. Dystrophy of large hepatocytes. Visible among them are multinucleated cells. H&E stain. ×400

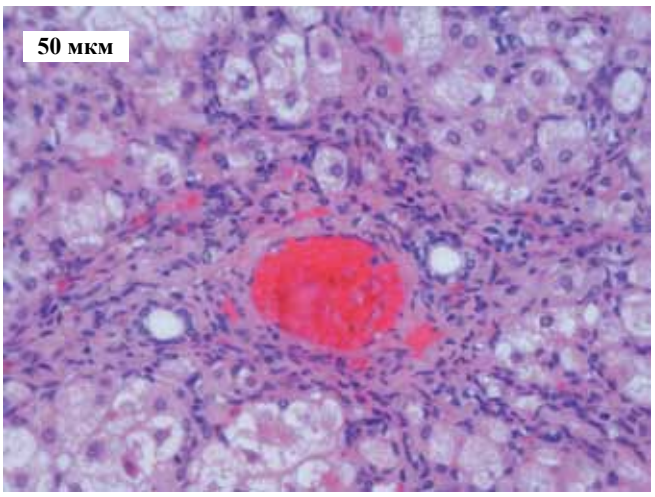

Рис. 2. Возраст девочки – 28 месяцев. Собственная печень. Красный тромб в вене склерозированного портального тракта. Инфильтрация лимфоцитами портального тракта и септ. F4 (по METAVIR). Окраска гематоксилином и эозином. ×400

Fig. 2. The girl is 28 months old. Native liver. Red thrombus in the vein of the sclerosed portal tract. Lymphocytic infiltration of the portal tract and septa. F4 (by METAVIR). H&E stain. ×400

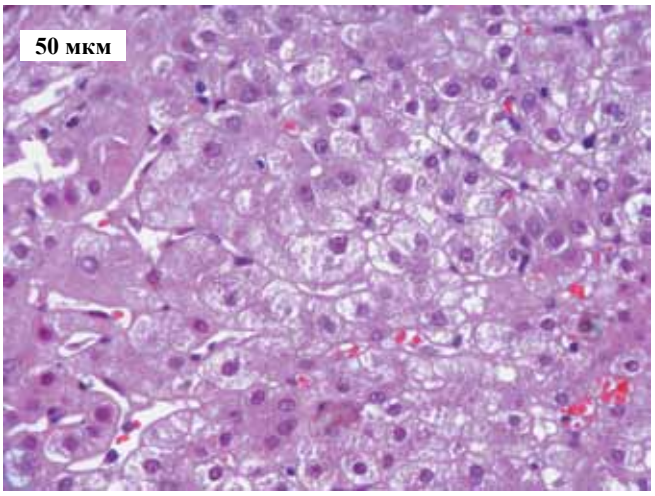

Рис. 3. После пересадки печени – 2 года и 8 месяцев. Пункционный биоптат трансплантированной печени. Дистрофия крупных гепатоцитов. Окраска гематоксилином и эозином. ×400

Fig. 3. At 2 years and 8 months after liver transplant. Punch biopsy of the transplanted liver. Dystrophy of large hepatocytes. H&E stain. ×400

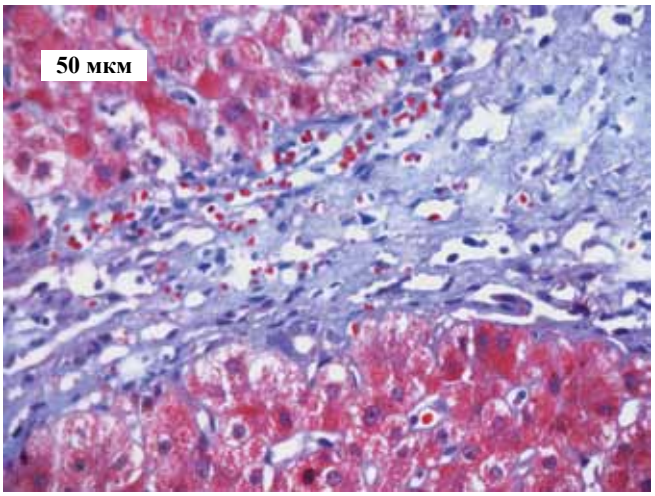

Рис. 4. После пересадки печени – 2 года и 8 месяцев. Пункционный биоптат трансплантированной печени. Склероз портального тракта и септы. F2 (по METAVIR). Окраска гематоксилином и эозином. ×400

Fig. 4. At 2 years and 8 months after liver transplant. Punch biopsy of the transplanted liver. Sclerosis of the portal tract and septal sclerosis. F2 (by METAVIR). H&E stain. ×400

цитов и умеренно выраженным дуктулонеогенезом. ***Гистологический диагноз:*** *цирроз печени в исходе прогрессирующего семейного внутрипеченочного холестаза II типа.*

Ранний послеоперационный период протекал гладко. Больная выписана под амбулаторное наблюдение в удовлетворительном состоянии. Функция трансплантата оставалась удовлетворительной. Отмечены эпизоды интеркуррентных инфекционных заболеваний (острые респираторные, кишечные). Проводили плановую терапию.

До августа 2012 года состояние больной было удовлетворительным. В качестве иммуносупрессивной терапии получала граф по 1,5 мг в сутки, метилпреднизолон 6 мг в сутки и селлсепт по 500 мг в сутки. Креатинин плазмы крови – 19,6 ммоль/л; мочевина плазмы крови – 2,57 ммоль/л; билирубин крови – 150 ммоль/л, АСТ 67,8; АЛТ 59,6. Масса тела больной – 21 кг. Концентрация в крови графа – 8,8 мг/мл.

В связи с появлением признаков нарушения функции трансплантированной печени 2 августа 2012 года была выполнена транскутанная пункционная биопсия трансплантата. В биоптате – нарушение долькового и балочного строения печени, выраженная диффузная белковая дистрофия и микроочаговые некрозы гепатоцитов (рис. 3). Порто-портальные и порто-центральные септы с кровоизлияниями, умеренной воспалительной инфильтрацией, слабой степенью пролиферации желчных протоков (рис. 4). Выраженный перивенулярный фиброз стенки центральных вен. Очаговая мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов.

С октября 2018 г. появился и нарастает кожный зуд. Было исключено аллергическое, механическое и инфекционное происхождение зуда. К 13 февраля 2019 года выявлены клинические и лабораторно-инструментальные признаки дисфункции трансплантата печени. Уровень цитолиза 1044/1444, билирубин общий 84, прямой – 44, альбумин 28 г/л. Иммуносупрессия: такролимус 2 × 2 раза в сутки. Масса тела больной 33 кг.

Повторная биопсия трансплантированной печени была выполнена 14.02.2019 года. При гистологическом исследовании изменения в трансплантате были сходными с описанными в материале предыдущей биопсии. Балочное и дольковое строение печени нарушено. Выраженная зернистая и очаговая баллонная дистрофия гепатоцитов, многоядерные гепатоциты. В отличие от предыдущего биоптата большое количество клеток с «песочными» ядрами (рис. 5). Выраженный фиброз портальных трактов, образование различной ширины порто-портальных септ. Портальные триады инфильтрированы мононуклеарными клетками, с единичными новообразованными желчными протоками; эпителий желчных протоков сохранен (рис. 6, 7). Внутриклеточное скопление гранул желчного пигмента, преимущественно в гепатоцитах, расположенных перипортально, застой желчи в единичных мелких желчных протоках. Иммунофлуоресцентный метод выявил мелкие гранулярные отложения C4d-фрагмента комплемента в зоне портальных трактов и в единичных синусоидах.

На основании клинической картины и результатов исследования пункционных биоптатов трансплан-

тированной печени был выставлен гистологический диагноз: «возврат прогрессирующего внутрипеченочного семейного холестаза II типа; F4».

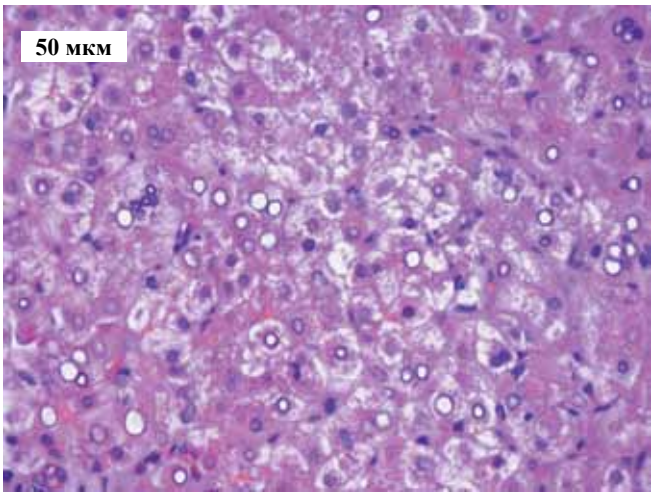

Рис. 5. Материал пункционной биопсии трансплантированной печени через 8 лет и 11 месяцев после операции. Дистрофические изменения не только в цитоплазме крупных гепатоцитов, но и в ядрах, которые имеют вид песочных часов. Окраска гематоксилином и эозином. ×400

Fig. 5. Material from a punch biopsy of the transplanted liver 8 years and 11 months after surgery. Dystrophic changes not only in the cytoplasm of large hepatocytes, but also in the nuclei, which look like an hourglass. H&E stain. ×400

Таким образом, результаты исследования показали, что через восемь лет после пересадки печени в трансплантате развились изменения, аналогичные с патологией собственной печени. В связи с этим, а также в связи с нарастанием печеночной недостаточности 19.06.2019 года девочке была выполнена ретрансплантация левой доли печени также от родственного донора (матери.). Патоморфологическая картина в биоптате и в печени, удаленной при ретрансплантации, была идентична, что еще раз подтвердило возврат ПСВХ-2.

ОБСУЖДЕНИЕ

Возвратный ПСВХ-2 является редким осложнением после трансплантации печени. Только в одной сравнительно давней публикации [14] было сообщено о шести пациентах с ПСВХ-2, у которых развился возврат заболевания. Остальные публикации на эту тему посвящены единичным наблюдениям [3, 10–13].

В нашем наблюдении определить срок начала возврата ПСВХ-2 не представляется возможным, так как первые клинические признаки недостаточности трансплантированной печени появились через два года и восемь месяцев после операции. В это же время была выполнена первая чрескожная пункционная биопсия трансплантата. При гистологическом исследовании биоптата трансплантированной печени было найдено увеличение размеров гепатоцитов в несколько раз из-за отека, что связано с отсутствием

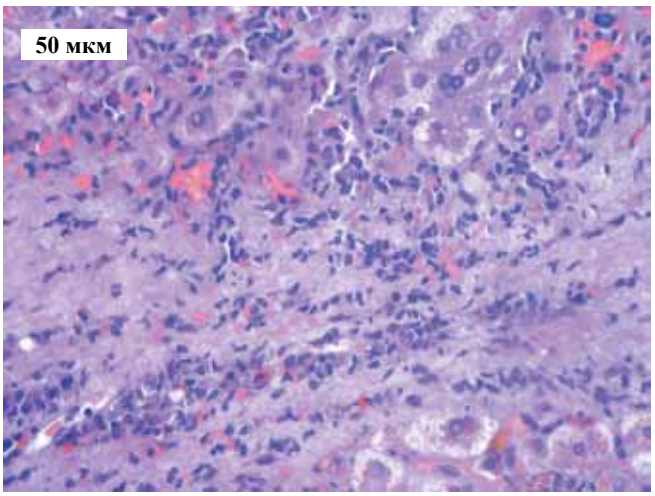

Рис. 6. Материал чрескожной пункционной биопсии трансплантированной печени через 8 лет и 11 месяцев после операции. Инфильтрация лимфоцитами портального тракта и септ. F4 (по METAVIR). По периферии септы – крупные и многоядерные гепатоциты. Окраска гематоксилином и эозином. ×400

Fig. 6. Material of percutaneous punch biopsy of the transplanted liver at 8 years and 11 months after surgery. Lymphocytic infiltration of the portal tract and septa. F4 (by METAVIR). On the periphery of the septum are large and multinucleated hepatocytes. H&E stain. ×400

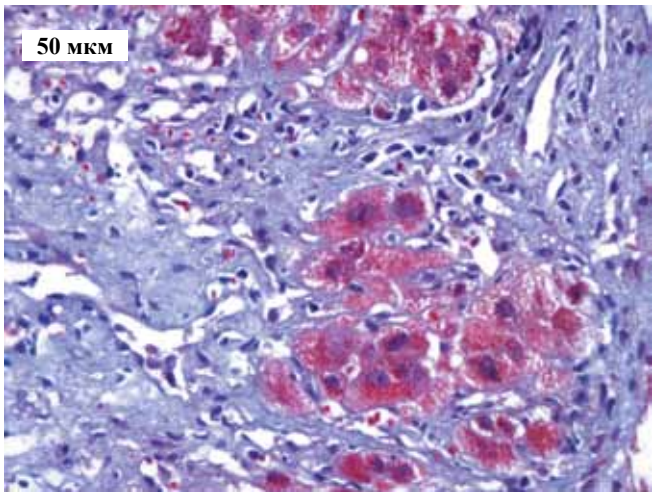

Рис. 7. Материал чрескожной пункционной биопсии трансплантированной печени через 8 лет и 11 месяцев после операции. Дистрофические изменения крупных гепатоцитов в ложных дольках. F4 (по METAVIR). Окраска гематоксилином и эозином. ×400

Fig. 7. Material from percutaneous punch biopsy of the transplanted liver at eight years and 11 months after surgery. Dystrophic changes in large hepatocytes in the false lobules. F4 (by METAVIR). H&E stain. ×400

белка BSEP, который обеспечивает транспорт солей желчи из гепатоцитов [3, 10–13]. Присутствовали также многоядерные гепатоциты, которые, по данным литературы [13], являются отличительным гистологическим признаком именно ПСВХ-2. Внутриклеточное скопление желчных кислот привело к развитию склероза портальных трактов и появлению септ (F2). Особенностью нашего наблюдения является то, что терминальная стадия печеночной недостаточности развилась спустя шесть с половиной лет после появления ее первых признаков, когда во втором биоптате был выявлен цирроз трансплантата. Примечательно, что во втором биоптате патология гепатоцитов была сходной с их изменениями в значительно более раннем, первом биоптате. Отличительным признаком было появление большого количества гепатоцитов с «песочными ядрами», что, по нашему мнению, свидетельствует о более выраженной их дистрофии.

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ, ОСНОВАННЫЕ НА ПРИВЕДЕННОМ НАБЛЮДЕНИИ

– Типичные гистологические изменения в трансплантированной печени при возврате ПСВХ-2: выраженная дистрофия гепатоцитов, увеличение их размеров в несколько раз, многоядерные гепатоциты.
– При возврате ПСВХ-2 первые клинические признаки недостаточности трансплантированной печени появляются в соответствии с гистологическими изменениями гепатоцитов и наличием фиброза печени не менее F2 (по METAVIR).
– При возврате ПСВХ-2 терминальная стадия недостаточности трансплантированной печени соответствует гистологической картине цирроза печени.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Sticova E, Jirsa M, Pawłowska J.* New Insights in Genetic Cholestasis: From Molecular Mechanisms to Clinical Implications. *Can J Gastroenterol Hepatol*. 2018 Jul 26; 2018: 2313675. doi: 10.1155/2018/2313675.
2. *Henkel SA, Squires JH, Ayers M, Ganoza A, Mckiernan P, Squires JE.* Expanding etiology of progressive familial intrahepatic cholestasis. *World J Hepatol*. 2019 May 27; 11 (5): 450–463. doi: 10.4254/wjh.v11.i5.450.
3. *Kubitz R, Dröge C, Kluge S, Stross C, Walter N, Keitel V et al.* Autoimmune BSEP disease: disease recurrence after liver transplantation for progressive familial intrahepatic cholestasis. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2015 Jun; 48 (2–3): 273–284. doi: 10.1007/s12016-014-8457-4.
4. *Davit-Spraul A, Gonzales E, Baussan C, Jacquemin E.* Progressive familial intrahepatic cholestasis. *Orphanet J Rare Dis*. 2009 Jan 8; 4: 1. doi: 10.1186/1750-1172-4-1.
5. *Jacquemin E.* Progressive familial intrahepatic cholestasis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2012 Sep; 36 Suppl 1: S26–35. doi: 10.1016/S2210-7401(12)70018-9.
6. *Wang KS, Tiao G, Bass LM, Hertel PM, Mogul D, Kerkar N et al.* Childhood Liver Disease Research Network (ChiLDReN). Analysis of surgical interruption of the enterohepatic circulation as a treatment for pediatric cholestasis. *Hepatology*. 2017 May; 65 (5): 1645–1654. doi: 10.1002/hep.29019.
7. *Saha H, Tapanjyoti G, Biswas S, Mishra PK, Basu KS, Chatterjee U.* Two Cases of Progressive Familial Intrahepatic Cholestasis Type 2: Role of Surgery with Brief Review of Literature. *J Indian Assoc Pediatr Surg*. 2019 Jan–Mar; 24 (1): 75–77. doi: 10.4103/jiaps.JIAPS_235_17.
8. *Kamath BM, Stein P, Houwen RHJ, Verkade HJ.* Potential of ileal bile acid transporter inhibition as a therapeutic target in Alagille syndrome and progressive familial intrahepatic cholestasis. *Liver Int*. 2020 Jun 3; 40 (8): 1812–1822. doi: 10.1111/liv.14553.
9. *Squires JE.* Protecting the allograft following liver transplantation for PFIC1. *Pediatr Transplant*. 2016 Nov; 20 (7): 882–883. doi: 10.1111/petr.12787.
10. *Keitel V, Burdelski M, Vojnisek Z et al. De novo* bile salt transporter antibodies as a possible cause of recurrent graft failure after liver transplantation: a novel mechanism of cholestasis. *Hepatology*. 2009; 50 (2): 510–517.
11. *Masahata K, Uehara S, Ibuka S, Nakahata K, Hasegawa Y, Kondou H et al.* Recurrence of Progressive Familial Intrahepatic Cholestasis Type 2 Phenotype After Living-donor Liver Transplantation: A Case Report. *Transplant Proc*. 2016 Nov; 48 (9): 3156–3162. doi: 10.1016/j.transproceed.2016.02.067.7.
12. *Stindt J, Kluge S, Dröge C, Keitel V, Stross C, Baumann U et al.* Bile salt export pump-reactive antibodies form a polyclonal, multi-inhibitory response in antibody-induced bile salt export pump deficiency. *Hepatology*. 2016 Feb; 63 (2): 524–537. doi: 10.1002/hep.28311.
13. *Kang HJ, Hong SA, Oh SH, Kim KM, Yoo HW, Kim GH, Yu E.* Progressive Familial Intrahepatic Cholestasis in Korea: A Clinicopathological Study of Five Patients. *J Pathol Transl Med*. 2019 Jul; 53 (4): 253–260. doi: 10.4132/jptm.2019.05.03.
14. *Siebold L, Dick AA, Thompson R, Maggiore G, Jacquemin E, Jaffe R et al.* Recurrent low gamma-glutamyl transpeptidase cholestasis following liver transplantation for bile salt export pump (BSEP) disease (posttransplant recurrent BSEP disease). *Liver Transpl*. 2010 Jul; 16 (7): 856–863. doi: 10.1002/lt.22074.

Статья поступила в редакцию 1.10.2020 г.
The article was submitted to the journal on 1.10.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-4-197-201

НОВАЯ КОРОНАВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ (COVID-19) У БОЛЬНОГО С ДЕКОМПЕНСИРОВАННЫМ ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ

О.В. Тащян, М.Г. Мнацаканян, А.П. Погромов, И.В. Куприна, Ю.Ф. Шумская
ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация

Введение. К группе риска тяжелого течения новой коронавирусной инфекции COVID-19 относятся пожилые пациенты, страдающие сахарным диабетом, артериальной гипертензией и имеющие избыточную массу тела. Пациенты с хроническими заболеваниями печени также имеют повышенный риск тяжелого течения и летального исхода при присоединении новой коронавирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-2. **Описание случая.** Пациент Д., 65 лет, с 2010 г. наблюдался по поводу цирроза печени смешанного генеза (алиментарного и метаболического), класс B-C по Child-Pugh, сахарного диабета 2-го типа. 17 мая 2020 г. был госпитализирован в связи с появлением одышки, нарастанием энцефалопатии и выявлением на КТ картины двусторонней полисегментарной пневмонии с объемом поражения до 75% легочной ткани (КТ-картина с высокой вероятностью соответствует COVID-19-ассоциированной пневмонии). Несмотря на повторные отрицательные результаты исследования РНК SARS-CoV-2, учитывая клиническую картину и данные КТ, был поставлен диагноз новой коронавирусной инфекции COVID-19 (вирус не идентифицирован). В связи с наличием декомпенсированного цирроза печени от проведения противовирусной и антицитокиновой терапии было решено воздержаться. Проводилась O_2-терапия, позиционная терапия, антитромботическая терапия (фондапаринукс натрия), антибактериальная терапия (цефтриаксон, затем левофлоксацин), инфузии раствора альбумина 20% и СЗП. В связи с нарастающей гипоксемией был переведен в ОРИТ и начата ИВЛ. С нарастающими явлениями полиорганной недостаточности и последующим развитием асистолии пациент скончался. **Обсуждение.** Смертность пациентов с хроническими заболеваниями печени, в том числе с циррозом печени, при новой коронавирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-2, достигает 40% [4]. Факторами, усугубляющими течение НКИ у таких пациентов, являются: иммуно-опосредованное повреждение клеток печени, прямая цитотоксичность в результате репликации вируса в гепатоцитах, гипоксия, лекарственное повреждение печени, реактивация ранее латентно протекавших заболеваний печени (в том числе вирусных гепатитов B, C). **Заключение.** В приведенном клиническом случае к летальному исходу пациента с циррозом печени и COVID-19 привели терминальная стадия поражения легких (КТ стадия 3–4), осложнившаяся развитием ДВС-синдрома, с прогрессирующей дыхательной и полиорганной недостаточностью.

Ключевые слова: COVID-19, цирроз печени, пневмония.

COVID-19 IN DECOMPENSATED CIRRHOSIS

O.V. Tashchyan, M.G. Mnatsakanyan, A.P. Pogromov, I.V. Kuprina, Yu.F. Shumskaya
Sechenov University, Moscow, Russian Federation

Elderly patients with diabetes, hypertension and obesity are at risk of severe course of the novel coronavirus infection COVID-19. Patients with chronic liver disease are also at high risk of severe course and death due to SARS-CoV-2. **Case report.** Patient D., 65 years old, since 2010, was observed for Child-Pugh class B-C cirrhosis of mixed etiology (alimentary and metabolic), type 2 diabetes. He was hospitalized on May 17, 2020 due shortness of breath, increased encephalopathy and CT signs of bilateral polysegmental pneumonia, involving about 75% of the lung tissue (CT-scan indicates possible COVID-19-associated pneumonia). Despite repeated negative results of PCR test targeting SARS-CoV-2 viral RNA, the clinical picture and CT scans pointed at the

Для корреспонденции: Тащян Ольга Валерьевна. Адрес: 119991, Москва, ул. Б. Пироговская, д. 6, стр. 1. Тел. (499) 248-63-85. E-mail: Olgatash1@rambler.ru

Corresponding author: Olga Tashchyan. Address: 6/1, B. Pirogovskaya str., Moscow, 119991, Russian Federation. Phone: (499) 248-63-85. E-mail: Olgatash1@rambler.ru

novel coronavirus infection COVID-19 (virus not identified). Because of decompensated cirrhosis, the patient decided to refrain from antiviral and anticytokine therapy. Oxygen therapy, positional therapy, antithrombotic therapy (fondaparinux sodium), antibacterial therapy (ceftriaxone, then levofloxacin), infusion of 20% albumin solution and fresh frozen plasma were carried out. Due to increasing hypoxemia, the patient was transferred to the ICU and placed under mechanical ventilation. Despite all measures, he developed symptoms of multiple organ failure and died of asystole. **Discussion.** Mortality in chronic liver diseases, including cirrhosis, under the novel coronavirus infection caused by SARS-CoV-2, reaches 40% [4]. Factors aggravating the novel coronavirus disease in such patients include immune-mediated liver cell damage, direct cytotoxicity resulting from viral replication in hepatocytes, hypoxia, drug-induced liver injury, and reactivation of previously latent liver diseases (including hepatitis B and C virus). **Conclusion.** In the above clinical case, end-stage lung disease (CT stage 3–4), complicated by disseminated intravascular coagulation (DIC) syndrome, with progressive respiratory and multiple organ failure, led to the death of the patient suffering from cirrhosis and COVID-19.

Keywords: COVID-19, cirrhosis, pneumonia.

Актуальность исследования клинической картины, особенностей течения коронавирусной инфекции COVID-19, вызываемой вирусом SARS-CoV-2 у больных с хроническими заболеваниями, не вызывает сомнений. Известно, что в группу риска тяжелого течения новой коронавирусной инфекции (НКВ) попадают пожилые пациенты, а также больные, страдающие сахарным диабетом, гипертонической болезнью и имеющие избыточную массу тела. Данных о взаимосвязи хронических заболеваний печени и инфекции COVID-19 в литературе немного [1–3].

Очевидно, что пациенты с тяжелым фиброзом и циррозом печени, больные после трансплантации печени также представляют собой достаточно уязвимую группу с повышенным риском инфицирования и тяжелого течения COVID-19. Эксперты британского Оксфордского университета и Университета Северной Каролины в США утверждают, что у пациентов с циррозом и хроническими заболеваниями печени зафиксирован общий уровень смертности до 40% после заражения COVID-19, что в несколько десятков раз превышает стандартные показатели смертности при этом заболевании [4].

В этой связи интересным представляется следующее клиническое наблюдение.

Пациент Д., 65 лет, наблюдался клиникой в течение 10 лет с сентября 2010 года с дигнозом: «цирроз печени смешанного (алиментарный, метаболический) генеза, класс B-C по Child-Pugh; портальная гипертензия; варикозное расширение вен пищевода, кардии желудка, тонкой и толстой кишки; спленомегалия, гиперспленизм (глубокая тромбоцитопения, лейкопения (нейтропения), эритропения; отечно-асцитический синдром; печеночная энцефалопатия 2-й ст; анемия смешанного генеза – железодефицитная, B_{12}-дефицитная; сахарный диабет 2-го типа, компенсированный».

За время наблюдения практически ежегодно госпитализировался в клинику в связи с декомпенсацией цирроза печени. Многочисленная терапия включала ингибиторы альдостерона, гептрал, гепа-мерц, неоднократные переливания растворов альбумина и свежезамороженной плазмы, что позволяло на короткое время уменьшать проявления печеночно-клеточной недостаточности. Неоднократно обсуждался вопрос о трансплантации печени, от которой больной отказывался. После выписки из стационара (10 апреля 2020 года) больному было рекомендовано соблюдение строгого режима самоизоляции. Через 2 недели отметил эпизод повышения температуры тела до 38 °С без озноба и катаральные явления, сопровождающееся болями в правом ухе. Консультирован амбулаторно ЛОР-врачом, был диагностирован средний отит, рекомендована антибактериальная терапия (азитромицин 500 мг в сутки 3 дня). На этом фоне боли в ухе уменьшились, состояние несколько улучшилось, сохранялся небольшой субфебрилитет. Через несколько дней наросли явления энцефалопатии (изменилось настроение больного, нарушился ночной сон). Состояние было расценено в программе осложнений цирроза печени, проводилась деконтаминация толстой кишки, ограничена диета (исключены термически не обработанные продукты и ограничены животные белки), начат прием болтушки с канамицином 1000 мг перорально. Через 2–3 дня отметил улучшение самочувствия, нормализацию ночного сна, субфебрилитет (максимально до 37,3 °С). Одышки, кашля, катаральных явлений не отмечалось. 10 мая 2020 года заболела дочь пациента (высокая вечерняя лихорадка, кашель, слабость), затем – жена (аналогичная клиническая картина). В течение последующих 10 дней при остающемся субфебрилитете значимо усилилась слабость, появился сухой кашель и нарастающие явления дыхательной недостаточности. 17 мая 2020 г. больному амбулаторно было выполнено МСКТ органов грудной клетки, выявлена картина внебольничной двусторонней полисегментарной пневмонии, объем поражения составил до 75% легочной ткани с каждой стороны (КТ-3). Бригадой СМП больной был госпи-

тализирован в отделение по лечению пациентов с коронавирусной инфекцией УКБ № 1 Сеченовского университета.

При поступлении состояние пациента тяжелое. Сознание по ШКГ 15 баллов. Мышечный тонус и периферическая чувствительность сохранены в полном объеме. Очаговой неврологической и менингеальной симптоматики не выявлено. Кожные покровы желтушные, бледные, цианотичны. Периферических отеков не выявлено. Температура тела 37,4 °С. Дыхание самостоятельное, ротоносовое. Аускультация не проводилась, согласно эпидемическим требованиям. ЧД = 24–26/мин. Sat O_2 – 75%, при дыхании атмосферным воздухом. На фоне респираторной поддержки – малопоточная оксигенотерапия увлажненным кислородом через лицевую маску (скорость потока кислорода 10–12 л/мин) в прональной позиции – сатурация кислорода возрастала до 93%. Гемодинамика стабильна, с тенденцией к гипотензии. АД 100/55 мм рт. ст. Живот увеличен в размерах за счет вздутия и асцита, при пальпации безболезненный. Стул 2 раза в день неоформленный, без патологических примесей. Дизурических расстройств не отмечал.

При лабораторном обследовании (от 18.05.2020): протромбин по Квику – 42% (70–130); МНО – 1,98 (0,9–1,16); протромбиновое время – 22 с (10,4–12,6); фибриноген – 1,29 г/л (1,8–4,0); гематокрит – 28,6% (35–52); гемоглобин – 90 г/л (117–180); тромбоциты – 93 × 10^9/л (150–450); эритроциты – 3,41 × 10^{12}/л (3,8–6,1); лейкоциты – 3,95 × 10^9/л (4–11) (базофилы – 0,04 × 10^9/л (0–0,1); лимфоциты – 0,44 × 10^9/л (1,0–3,7); моноциты – 0,42 × 10^9/л; нейтрофилы – 2,88 × 10^9/л; эозинофилы – 0,1 × 10^9/л; неклассифицируемые кол-во – 0,07 × 10^9/л); СОЭ – 29 мм/ч; цветовой показатель – 0,79 (0,8–1,5); белок общий – 66,8 г/л (57–82); альбумин – 19,8 г/л (32–48); глюкоза – 5,8 ммоль/л (4,1–5,9); креатинин – 65 мкмоль/л (44–115); холестерин – 1,7 ммоль/л (3,2–5,6); триглицериды – 0,62 ммоль/л (0,41–1,7); железо – 6 мкмоль/л (9–20); билирубин общий – 28,3 мкмоль/л (3–21); билирубин прямой – 13,4 мкмоль/л (0–5); мочевая кислота – 320 мкмоль/л (145–415); калий – 4,6 ммоль/л (3,5–5,0); натрий – 135 ммоль/л (136–145); АЛТ – 12 ед/л (10–49); АСТ – 46 ед/л (0–34); ГГТ – 34 ед/л (0–73); КФК – 232 ед/л (0–190); С-реактивный белок – 57,78 мг/л (0–8,0); ферритин – 63,9 мкг/л (7,0–200,0). Исследование мочи – без патологических изменений. При инструментальном обследовании: компьютерная томография органов грудной клетки без контрастирования от 18.05.2020. Заключение: двусторонний гидроторакс; КТ-картина изменений легких с высокой вероятностью соответствует двусторонней полисегментарной COVID-19-ассоциированной пневмонии. Цирроз? Асцит. Степень тяжести по КТ – КТ-4 (критическая). Поражение до 100% легочной ткани обоих легких. УЗИ органов брюшной полости (от 19.05.2020): ЭХО-признаки асцита, диффузно-дистрофических изменений паренхимы печени (по типу цирротических), диффузных изменений паренхимы поджелудочной железы. Данные результатов исследования на наличие RNA SARS-Cov-2: 17.05.2020 г. – не обнаружено; 19.05.2020 г. – не обнаружено; 23.05.2020 г. – не обнаружено.

Таким образом, у больного с циррозом печени, класс С по Child-Pugh, выявлена коронавирусная инфекция, вызванная вирусом COVID-19, вирус не идентифицирован (COVID-19 диагностируется клинически). Внебольничная двусторонняя полисегментарная пневмония крайне тяжелого течения (КТ-4). Дыхательная недостаточность 2-й ст. Гидроторакс.

С учетом сопутствующей патологии от этиологической терапии противовирусными препаратами решено было отказаться. Больному проводилась оксигенотерапия (инсуффляция увлажненного кислорода через лицевую маску), антибактериальная терапия цефтриаксоном 1000 мг в сутки в/в капельно, продолжалась плановая терапия (гепа-мерц, инспро, лазикс, рабепразол), однако отмечалось постепенное нарастание явлений дыхательной недостаточности, сохранялась быстрая десатурация пациента при отключении респираторной поддержки.

Был проведен заочный консилиум в Центре по борьбе с коронавирусной инфекцией, при котором было решено воздержаться от биологической антицитокиновой терапии. Согласно рекомендациям консилиума, больному была проведена трансфузия 1 дозы свежезамороженной плазмы.

Несмотря на проводимую терапию, состояние больного прогрессивно ухудшалось, нарастали явления дыхательной недостаточности, прогрессировала слабость. 24.05.2020 г. больной был переведен в ОРИТ УКБ № 1. При поступлении в ОРИТ состояние крайне тяжелое. Сознание по ШКГ 13–14 баллов. Пациент ажиатирован. OD = OS, фотореакция сохранена, живая, симметрична. Мышечный тонус и периферическая чувствительность сохранены в полном объеме. Очаговой неврологической и менингеальной симптоматики не выявлено. Кожные покровы желтушные, бледные, цианотичны. Периферических отеков не выявлено. Температура тела 37,4 °С, одышка (ЧД = 31–34/мин). Sat O_2 – 50%, на фоне дыхания атмосферным воздухом. Пациент был переведен в прон-позицию. На фоне прон-позиции и инсуффляции увлажненного O_2 со скоростью 15 л/мин прироста оксигенации не наблюдалось.

Принято решение об интубации трахеи. Выполнена интубация трахеи интубационной трубкой № 8.0. Начата ИВЛ аппаратом в режиме SIMV-PC, со следующими параметрами вентиляции: Pinsp 15 см. Н20 ст., на этом фоне Vt: 490–520 мл, PEEP: 11 см. Н20 ст., FiO_2 – 75%, Sat O_2 – 92%. Гемодинамика стабильна без вазопрессорной и инотропной поддержки. В повторной коагулограмме на 6-й день пребывания протромбин по Квику – 36%; АЧТВ – 1,52; Д-димер – 126,65 мкг/мл!!! МНО – 2,26; протромбиновое время – 25,2 с. Общий анализ крови: гематокрит – 35,5%; гемоглобин – 107 г/л; тромбоциты – 168 × 10^9/л (в динамике – 50, 37, 47, 87, 91 тыс.); эритроциты – 3,91 × 10^{12}/л; лейкоциты – 21 × 10^9/л (в динамике – 7,9; 5,3; 5,7; 5,9 тыс.); (лимфоциты # – 0,8 × 10^9/л; нейтрофилы # – 19,1 × 10^9/л); СОЭ 43 мм/ч; цветовой показатель – 0,82. Биохимический анализ крови от 24.05.2020: альбумин – 25 г/л; азот мочевины – 10,3 ммоль/л; билирубин общий – 32,4 мкмоль/л; билирубин прямой – 16,9 мкмоль/л; креатинин – 92,11 мкмоль/л; АЛТ – 14 ед/л; АСТ – 46 ед/л; ГГТ – 24 ед/л; КФК – 29 ед/л; ЛДГ – 896 ед/л (2–250); С-реактивный белок – 130,4 мг/л!!! Биохимический анализ крови от 25.05.2020: белок общий – 68,2 г/л; альбумин – 23,5 г/л; азот мочевины – 17,8 ммоль/л; билирубин общий – 31,8 мкмоль/л; билирубин прямой – 18 мкмоль/л; глюкоза – 10,8 ммоль/л; калий – 3,8 ммоль/л; натрий – 141 ммоль/л; креатинин – 96,6 мкмоль/л; мочевая кислота – 467 мкмоль/л; АЛТ – 10 ед/л; АСТ – 29 ед/л; ГГТ – 27 ед/л; КФК – 32 ед/л; ЛДГ – 632 ед/л; С-реактивный белок – 173,81 мг/л!!! Ферритин – 115,9 мкг/л.

Бронхофиброскопия: Диффузный двусторонний катаральный эндобронхит 2-й степени активности воспаления с выраженной обструкцией на сегментарном уровне.

УЗ-доплерография в импульсном режиме вен голеней: ЭХО-признаки неокклюзионного тромбоза глубоких вен обеих голеней, без признаков флотации. ЭхоКГ от 25.05.2020: ритм синусовый, ЧСС – 68–70 в 1 мин. Пациент в ОРИТ, на ИВЛ. Визуализация крайне ограничена. Отсутствует УЗИ-окно в парастернальной и апикальной позициях. Частичная визуализация только в субкостальной проекции. Правые камеры сердца не расширены. ПЖ – 3,5 см, ПП – 60 мл. Нельзя исключить умеренное увеличение ЛП – до 84 мл. ЛЖ – не увеличен, КДР – 4,0 см, КДО ок. 60–70 мл, ФИ ок. 60–68%. Значимая гипертрофия ЛЖ не выявлена (МЖП ок. 1,2 см). Диастолическая дисфункция ЛЖ 1-го типа. Клапанный аппарат без грубой патологии. Вероятны склеротические изменения АК – пик. град. до 11,6 мм рт. ст., расхождение створок АК достаточное. Аортальная регургитация не выявлена. Значимые митральная и трикуспидальная регургитации не выявлены. Возможно, трикуспидальная регургитация до 1-й ст. Систол. Дла – ок. 24 + 5 = до 29 мм рт. ст. Легочная гипертензия не выявлена. НПВ не расширена – на уровне печени на расстоянии ок. 5,0 см от ПП 2,3–2,5 см, ближе к ПП до 1,6 см, при впадении в ПП до 1,4 см, реагирует на дыхание более 50%. Жидкость в полости перикарда не выявлена.

В ОРИТ помимо ИВЛ проводилась: инфузионная терапия растворами глюкозы и солевыми растворами, позиционная терапия, нутриционная терапия, гастропротективная терапия (омез 40 мг × 2 р/день), антибиотикотерапия (левофлоксацин 500 мг × 2 р/сут), антикоагулянтная терапия (арикстра 2,5 мг × 1 р/сут). Несмотря на комплексную проводимую терапию у пациента отмечалось постепенное ухудшение состояния с развитием полиорганной недостаточности. Смерть больного наступила в результате остановки сердца по типу асистолии. Реанимационные мероприятия выполнены в полном объеме, без эффекта.

ОБСУЖДЕНИЕ

На основании данных, опубликованных в России в июне 2020 г., в печени умерших выявляются жировая дистрофии разной степени выраженности, вероятнее, гипоксического и метаболического, возможно ятрогенного генеза. Характерные петехиальные кровоизлияния, лимфоидная инфильтрация портальных трактов, сходная с реактивным межуточным гепатитом. В отдельных наблюдениях обнаружены обширные некрозы ткани печени [5].

Среди возможных механизмов повреждения печени при COVID-19 рассматриваются следующие.

1. Иммунно-опосредованное повреждение в результате тяжелой воспалительной реакции, поскольку значимо повышены биомаркеры воспаления, включая С-реактивный белок (СРБ), сывороточный ферритин, ЛДГ, D-димер, интерлейкин-6, интерлейкин-2 при COVID-19 [6].
2. Прямая цитотоксичность в результате активной репликации вируса в клетках печени: SARS-CoV-2 связывается с клетками-мишенями через АПФ-2 рецепторы. Поскольку АПФ-2 в изобилии экспрессируется в печени, и в частности, в клетках билиарного эпителия, печень является потенциальной мишенью для прямой инфекции [7].
3. Гипоксия (аноксия): отличительной чертой COVID-19 является дыхательная недостаточность. Таким образом, гипоксический гепатит в результате аноксии часто встречается в тяжелых случаях [8].
4. Лекарственное поражение печени: в первоначальных клинических рекомендациях присутствова-

ли противовирусные препараты для COVID-19, причем некоторые из них, включая лопинавир/ритонавир, ремдесивир, хлорохин, гидроксихлорохин, уминефовир, потенциально гепатотоксичны у ряда пациентов (а некоторые впоследствии уже доказали свою неэффективность).

5. Реактивация ранее существовавшего заболевания печени: пациенты с ранее существовавшим хроническим заболеванием печени могут быть более восприимчивы к повреждению печени от биологических препаратов SARS-CoV-2.18, таких как тоцилизумаб и барицитиниб, также может вызвать реактивацию HBV, и таким образом, привести к ухудшению функции печени. С другой стороны, до сих пор неизвестно, усугубляет ли инфекция SARS-CoV-2 холестаз у лиц с основным холестатическим заболеванием печени.

Применительно к описанному наблюдению, по нашему мнению, ведущими факторами развития болезни, приведшими к летальному исходу, явились терминальная стадия COVID-пневмонии, аноксия, осложнившиеся ДВС-синдромом.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Gong Feng, Kenneth I Zheng, Qin-Qin Yan, Rafael S Rios, Giovanni Targher, Christopher D Byrne et al.* COVID-19 and Liver Dysfunction: Current Insights and Emergent Therapeutic Strategies. *J Clin Transl Hepatol*. 2020 Mar 28; 8 (1): 18–24.
2. *Jian Wu, Shu Song, Hong-Cui Cao, Lan-Juan Li.* Liver diseases in COVID-19: Etiology, treatment and prognosis. *World J Gastroenterol*. 2020 May 21; 26 (19): 2286–2293.
3. *Isabel Garrido, Rodrigo Liberal, Guilherme Macedo*. Review article: COVID-19 and liver disease – what we know on 1st May 2020. *Aliment Pharmacol Ther*. 2020 Jun 2: 10.1111/apt.15813.
4. Journal of Hepatology. 2020; 05.
5. Патологическая анатомия COVID-19. Атлас / Под общей ред. О.В. Зайратьянца. 2020: 21. Patologicheskaya anatomiya COVID-19. Atlas / Pod obshchej red. O.V. Zajrat'yanca. 2020: 21.
6. *Liu J, Li S, Liu J et al.* Longitudinal characteristics of lymphocyte responses and cytokine profiles in the peripheral blood of SARS-CoV-2 infected patients. *EBioMedicine*. 2020. doi: 10.1016/j.ebiom.2020.102763.
7. *Chai X, Hu L, Zhang Y et al.* Specific ACE2 expression in cholangiocytes may cause liver damage after2019-nCoV infection. *bioRxiv*. 2020. doi: https://doi.org/10.1101/2020.02.03.931766.
8. *Jian Sun, Alessio Aghemo, Alejandro Forner, Luca Valenti.* COVID-19 and liver disease. *J Liver International*. 2020 Apr. doi: 10.1111/LIV.14470.

Статья поступила в редакцию 2.07.2020 г.
The article was submitted to the journal on 2.07.2020

ПОЗДРАВЛЯЕМ С ЮБИЛЕЕМ ВИКТОРА ИВАНОВИЧА СЕВАСТЬЯНОВА

Редакция журнала «Вестник трансплантологии и искусственных органов» с главным редактором академиком Сергеем Владимировичем Готье и коллектив ФГБУ «НМИЦ трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава России сердечно поздравляют с 75-летним юбилеем заведующего отделом биомедицинских технологий и тканевой инженерии, доктора биологических наук, профессора Виктора Ивановича Севастьянова.

Виктор Иванович Севастьянов родился 28 августа 1945 года в городе Новокузнецке Кемеровской области. В 1969 г. окончил медико-биологический факультет 2-го Московского медицинского института им. Н.И. Пирогова по специальности «биофизика». С 1970-го до 1978 г. работал в Институте химической физики АН СССР, где в 1973 г. защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности «физическая химия».

В ФГБУ «НМИЦ трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава России В.И. Севастьянов начал работать с 1978 г., возглавив фундаментальные и прикладные исследования, связанные с разработкой и экспериментально-клиническим применением гемосовместимых биоматериалов. При его активном участии были созданы первые отечественные гемосовместимые полимерные материалы (Гемотан, Витур, Силурем, Силаплен) для искусственного сердца и систем вспомогательного кровообращения.

В 1985 г. В.И. Севастьянов успешно защитил диссертацию на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности «биофизика». В.И. Севастьянов впервые предложил и экспериментально обосновал принципиально новый подход к исследованию процессов, протекающих на границе раздела твердое тело / кровь, основанный на комплексном анализе механизма первичных стадий взаимодействия чужеродной поверхности с биологическими средами на белковом и клеточном уровне.

В 1992 г. получил звание профессора по специальности «биофизика».

Под руководством В.И. Севастьянова разработаны методы оценки гемосовместимых свойств изделий для контакта с кровью, вошедшие в национальный стандарт ГОСТ Р ИСО 10 993 «Оценка биологического действия медицинских изделий»; технологии модифицирования полимерных материалов, направленные на улучшение биологических и функциональных свойств медицинских изделий.

Виктор Иванович Севастьянов является ведущим ученым в области биоматериалов для искусственных органов, систем доставок лекарственных веществ, тканевой и регенеративной медицины. Им организована разработка, производство и внедрение в клиническую практику первых в России биополимерных имплантатов для заместительной и регенеративной медици-

ны. В течение многих лет уделяет большое внимание разработке и проведению доклинических исследований трансдермальных терапевтических систем, не имеющих зарубежных аналогов.

В настоящее время В.И. Севастьянов ведет большую научно-общественную работу, входит в состав членов редколлегий двух отечественных и пяти международных журналов.

Также он является председателем национального и межгосударственного технических комитетов ТК 422 / МТК 547 «Оценка биологического действия медицинских изделий»; экспертом конкурсных проектов Минобрнауки, Российского фонда фундаментальных исследований и Российского научного фонда, членом экспертного совета «Медицинская физика» РФФИ, экспертом Минздрава России по приоритетному направлению развития медицинской науки «Регенеративная медицина».

В последнее десятилетие акцент исследований В.И. Севастьянова сделан на разработке клеточно- и тканеинженерных конструкций жизненно важных органов. Под его руководством и при непосредственном участии предложен и экспериментально обоснован биомиметический подход к разработке биополимерных гидрогелевых матриксов и тканеспецифических матриксов из децеллюляризованных тканей. Доказана функциональная эффективность созданных на их основе клеточно-инженерных конструкций как для стимулирования внутренней регенерации поврежденных тканей, так и для формирования in vitro тканевых эквивалентов печени, поджелудочной железы и суставного хряща.

В.И. Севастьянов – автор 306 статей, в том числе 99 за рубежом, 22 монографий и глав книг, из них 7 – в иностранных издательствах, 60 авторских свидетельств и патентов, четыре из которых – международные.

Виктор Иванович уделяет огромное внимание подготовке молодых ученых, передавая свой величайший опыт и знания. Под руководством и при консультативном участии В.И. Севастьянова защищено 34 кандидатские и 6 докторских диссертаций.

За выдающиеся достижения в области биоматериалов и научные заслуги В.И. Севастьянов отмечен дипломами Международного биографического центра (Кембридж, Англия, 1999); Американского биографического института (США, 1999), Индийского общества биоматериалов и искусственных органов (2000 г.).

В 2009 г. В.И. Севастьянову присвоено звание заслуженного деятеля науки РФ. За многолетнюю плодотворную научную работу в области трансплантологии и искусственных органов в 2014 г. награжден медалью «Академик В.И. Шумаков».

Нельзя не отметить не только высочайший профессионализм Виктора Ивановича, но и его прекрасные человеческие качества: отзывчивость, доброту, готовность прийти на помощь в любой жизненной ситуации.

Коллектив сотрудников ФГБУ «НМИЦ ТИО им. академика В.И. Шумакова» Минздрава России, редколлегия журнала «Вестник трансплантологии и искусственных органов» вместе с главным редактором академиком РАН С.В. Готье от всей души желают ему здоровья, бодрости духа, творческого долголетия и дальнейших успехов в профессиональной деятельности на благо отечественной и мировой науки!

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. Аксенова[1], А.А. Улыбышева[1, 3], Н.П. Можейко[1], Е.А. Никитина[1], В.И. Орлов[1], Е.А. Стаханова[1], 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. Aksyonova[1], A.A. Ulybysheva[1, 3], N.P. Mozheiko[1], E.A. Nikitina[1], V.I. Orlov[1], E.A. Stakhanova[1], 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 пристатейном 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

Готье 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, Филипцев 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, Цирульникова ОМ. Трансплантация печени. М.: МИА (2008), 246 с. *Gautier SV, Konstantinov BA, Tsirulnikova 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 prognozirovanii vaskulopatii serdechnogo transplantata. [Dissertation]. M., 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 Library of Medicine (http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html). If the number of authors does not exceed 6, the bibliographic description includes all the authors. If the number of authors is more, only the first six authors should be indicated and then add et al.

Requirements for tables and figures

Tables should be placed into the text; they should have numbered heading and clearly labeled graphs, convenient and simple to read. Table's data must comply with the numbers in the text, but should not 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**

ПАМЯТИ АННЫ ИЛЬИНИЧНЫ КРЫЛОВОЙ

20 ноября 2020 года, на 86-м году ушла из жизни Анна Ильинична Крылова, одна из старейших сотрудниц НМИЦ трансплантологии и искусственных органов.

Анна Ильинична родилась в семье выдающегося русского хирурга Владимира Николаевича Розанова, который внес неоценимый вклад в медицинскую науку в области оперативного лечения заболеваний эндокринной системы и почек, первым начал попытки проводить трансплантацию эндокринных желез. Следуя семейным традициям и идя по стопам своего деда, наставника и учителя, Анна Ильинична посвятила жизнь медицине и трансплантологии. Анна Ильинична закончила 2-й медицинский институт, аспирантуру. С 1966 года Анна Ильинична Крылова работала в НИИ клинической и экспериментальной хирургии под руководством академика Б.В. Петровского и в 1974 году вместе с командой профессора В.И. Шумакова перешла во вновь созданный Институт трансплантации органов и тканей.

В 1975 году Анна Ильинична защитила диссертацию на тему: «Выбор растворов для консервации почек в условиях гипотермии», которая внесла существенный вклад в разработку методов консервации почки при пересадке от донора реципиенту. Трансплантология как наука и практика делала свои первые уверенные шаги на пути становления современной высокотехнологичной медицины. Делались первые заборы органов, первые в стране трансплантации почки, сердца. Анна Ильинична участвовала во всех самых важных и ответственных событиях, происходящих в институте.

С 1976-го по 2009 год, работая старшим научным сотрудником лаборатории медико-биологических исследований искусственного сердца (с 1991 года – лаборатория вспомогательного кровообращения), Анна Ильинична участвовала в создании искусственного сердца. Результатом напряженной, круглосуточной работы врачей, медсестер, лаборантов и ветеринаров в экспериментах на животных явились первые отечественные имплантированные насосы искусственного кровообращения.

Анна Ильинична была частью коллектива, создававшего отечественную школу трансплантологии. Жизнь и трудовой путь А.И. Крыловой – это путь честного, добросовестного человека и ученого.

Светлая память об Анне Ильиничне Крыловой сохранится в сердцах родных, друзей и коллег.

ПАМЯТИ ЛЮДМИЛЫ МИХАЙЛОВНЫ КОНДРАШОВОЙ

23 декабря 2020 года после продолжительной борьбы с COVID-19 не стало Людмилы Михайловны Кондрашовой. Она была яркой личностью, борцом за жизнь пациентов, бессменным лидером Межрегиональной общественной организации нефрологических пациентов «НЕФРО-ЛИГА», которую создала для защиты прав людей с заболеваниями почек, и начав работу с трех регионов, вскоре распространила свою деятельность на всю страну.

Человек с большим, неравнодушным сердцем, она откликалась на любые проблемы пациентов, помогая каждому, кто к ней обращался за помощью.

Людмила Михайловна отстаивала интересы пациентов на федеральном уровне в диалоге с органами государственной власти в сфере здравоохранения и профессиональным медицинским сообществом. С ее активным участием в советах общественных организаций по защите прав пациентов при Минздраве РФ и Росздравнадзоре, а также в Совете по законотворчеству при Председателе ГД РФ были разработаны и приняты нормативно-правовые документы, регулирующие права пациентов.

Благодаря ее усилиям транспортировка состоящих на диализе пациентов была включена в программу государственных гарантий, ряд инновационных лекарственных препаратов для нефрологических пациентов и людей с трансплантированными органами вошел в перечень жизненно важных лекарственных препаратов (ЖНВЛП) и «Обеспечение необходимыми лекарственными средствами» (ОНЛС).

Под руководством Людмилы Михайловны стали реализовываться проекты, направленные на увеличение информированности пациентов о заболевании, формирование приверженности лечению, сотрудничества с врачом и самоконтроля, такие как «Грамотный пациент». В регионах начали регулярно проводиться «Школы пациента», а в рамках «Всемирного дня почки» – многочисленные просветительские акции для взрослых и детей. Проект «Трансплантация – я ЗА» способствует формированию в обществе положительного отношения к трансплантации и органному донорству. Людмила Михайловна неоднократно участвовала в трансплантологических форумах, проходивших в НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова и была организатором общественных акций: «Люди ради людей».

«Помогая другим – помогаешь себе» – вот жизненное кредо Людмилы Михайловны Кондрашовой, в ее лице мы потеряли друга и соратника. Светлая и добрая память о Людмиле Михайловне навсегда сохранится в сердцах родных, друзей и коллег.

ПЕРЕЧЕНЬ МАТЕРИАЛОВ, ОПУБЛИКОВАННЫХ В 2020 ГОДУ В ЖУРНАЛЕ «ВЕСТНИК ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ»

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ОРГАНОВ

О.П. Шевченко, А.А. Улыбышева, Н.П. Можейко, О.Е. Гичкун, Е.А. Стаханова, В.П. Васильева, А.О. Шевченко
Диагностическая значимость галектина-3 при патологии миокарда трансплантированного сердца ..... № 1 (8–15)

И.М. Ильинский, А.С. Иванов, Н.П. Можейко, М.К. Луговский
Изолированный некомпактный миокард левого желудочка сердца: клинико-морфологическое исследование ..... № 1 (16–25)

Д.А. Великий, О.Е. Гичкун, С.О. Шарапченко, О.П. Шевченко, А.О. Шевченко
Уровень экспрессии микроРНК в ранние и отдаленные сроки после трансплантации у реципиентов сердца ..... № 1 (26–34)

М. Сарьер, М. Каллиоглу, Ю. Юксел
Необходимость проведения микционной цистоуретрографии для оценки взрослых кандидатов на трансплантацию почки ..... № 1 (35–39)

Д.В. Артемов, А.Б. Зулькарнаев, А.В. Ватазин
Возрастные особенности субпопуляционного состава лимфоцитов и функциональной активности мононуклеаров периферической крови у больных хронической болезнью почек до и после трансплантации ..... № 1 (40–49)

С.А. Борзенок, М.Ю. Герасимов, Х.Д. Тонаева, М.Х. Хубецова, Т.З. Керимов, Ю.А. Комах
Скрининг гемотрансмиссивных инфекций у посмертных доноров роговицы в Глазном тканевом банке НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» ..... № 1 (50–54)

А.В. Шабунин, И.П. Парфенов, М.Г. Минина, П.А. Дроздов, И.В. Нестеренко, Д.А. Макеев, О.С. Журавель
Программа трансплантации Боткинской больницы: опыт 100 трансплантаций солидных органов ..... № 1 (55–58)

В.Л. Коробка, М.Ю. Кострыкин, Е.С. Пак, Р.О. Даблиз, О.В. Котов, А.М. Шаповалов
Трансплантация печени в Ростовской области: пятилетний опыт ..... № 2 (35–43)

Ш.Р. Галеев, Р.Х. Галеев, М.И. Хасанова, С.В. Готье
Сравнительный анализ протоколов индукции иммуносупрессивной терапии у реципиентов почечных трансплантатов (ретроспективный обзор) ..... № 2 (44–52)

С.В. Зыблева, С.Л. Зыблев
Показатели моноцитарного звена иммунитета у пациентов с удовлетворительной функцией почечного трансплантата ..... № 2 (53–62)

О.Н. Ветчинникова, М.Ю. Иванова
Распространенность и факторы риска гиперпаратиреоза у пациентов после трансплантации почки: опыт одного центра ..... № 2 (63–71)

А.В. Дерюгина, О.П. Абаева, С.В. Романов, М.В. Ведунова, Е.Н. Рябова, С.А. Васенин, Н.А. Титова
Электрокинетические, оксидантные и агрегационные свойства эритроцитов в послеоперационном периоде при трансплантации почки ..... № 2 (72–79)

А.Л. Акопов, Г.В. Папаян, С.Д. Горбунков, С.В. Орлов, Д.Д. Карал-оглы, П.А. Капланян, Е.А. Губарева, Е.В. Куевда, Д.М. Кузнецова
Возможности флуоресцентной визуализации в оценке реваскуляризации гетеротопически трансплантированного сегмента трахеи приматов ..... № 2 (80–85)

О.П. Шевченко, С.О. Шарапченко, О.М. Цирульникова, И.В. Пашков, О.Е. Гичкун, Д.А. Великий, Е.Ф. Шигаев, Д.О. Олешкевич, М.Т. Беков
Экспрессия микроРНК у реципиентов легких: корреляции с клиническими и лабораторными данными ..... № 2 (86–96)

А.И. Сушков, В.С. Рудаков, К.К. Губарев, Д.С. Светлакова, А.И. Артемьев, С.Э. Восканян
Оценка и мониторинг жизнеспособности и начальной функции пересаженной печени с помощью внутритканевого микродиализа ..... № 2 (97–106)

А.Р. Монахов, Б.Л. Миронков, М.А. Восканов, С.В. Мещеряков, Э.Т. Азоев, К.О. Сёмаш, Т.А. Джанбеков, О.В. Силина, С.В. Готье
Лечение стриктур билиодигестивного анастомоза после трансплантации левого латерального сектора печени ..... № 3 (18–25)

В.Л. Коробка, М.Ю. Кострыкин, В.Д. Пасечников, Е.С. Пак
Определение приоритетности в выборе пациентов из листа ожидания для трансплантации печени ..... № 3 (26–35)

А.Г. Строков, Я.Л. Поз, А.Р. Монахов, С.В. Мещеряков, М.А. Восканов, С.В. Готье
Эффективность альбуминового диализа в качестве моста к трансплантации у детей с терминальными заболеваниями печени ..... № 3 (36–42)

Э.А. Тенчурина, М.Г. Минина
Организационные и медико-эпидемиологические предпосылки пересмотра донорских критериев при трансплантации сердца ..... № 3 (43–52)

И.Ю. Логинова, О.В. Каменская, А.В. Фомичев, Д.В. Доронин, А.М. Чернявский, В.В. Ломиворотов
Функциональное состояние кардиореспираторной системы после ортотопической трансплантации сердца с длительной холодовой ишемией трансплантата ..... № 3 (53–61)

М.А. Симоненко, П.А. Федотов, П.В. Широбокова, Ю.В. Сазонова, М.А. Борцова, А.В. Березина, М.А. Карпенко
Особенности личностных характеристик реципиентов после трансплантации сердца ..... № 3 (62–68)

Д.А. Великий, О.Е. Гичкун, А.А. Улыбышева, С.О. Шарапченко, А.В. Марченко, О.П. Шевченко, А.О. Шевченко
Связь уровня экспрессии микроРНК в плазме крови реципиентов сердца с концентрацией биомаркеров посттрансплантационных осложнений ..... № 3 (69–78)

В.Н. Попцов, Е.А. Спирина, Е.Н. Золотова, В.М. Захаревич, Н.Н. Колоскова, Н.П. Можейко, А.А. Сибякина, Я.Л. Поз, А.И. Скокова, В.В. Боронова, В.Ю. Воронков, В.М. Хатуцкий
Трансплантация сердца у реципиентов с сахарным диабетом 2-го типа ..... № 4 (8–19)

Д.А. Великий, О.Е. Гичкун, С.О. Шарапченко, Н.П. Можейко, Р.М. Курабекова, О.П. Шевченко
Диагностическое значение микроРНК-101 и микроРНК-27 при остром отторжении трансплантированного сердца ..... № 4 (20–26)

Э.А. Тенчурина, М.Г. Минина
Модель оценки донорского сердца, прогнозирующая его использование для трансплантации ..... № 4 (27–31)

В.Б. Полищук, М.П. Костинов, А.А. Рыжов, О.О. Магаршак, Н.Е. Ястребова, Н.А. Карчевская, Е.А. Тарабрин, Т.Э. Каллагов, А.Е. Власенко
Особенности вакцинации против гемофильной инфекции типа b пациентов листа ожидания трансплантации легких ..... № 4 (32–42)

А.Н. Шутко, О.А. Герасимова, Н.В. Марченко, Ф.К. Жеребцов
Индукция циркулирующих CD133+ стволовых лимфоцитов, коммитированных к ткани печени, у пациентов из листа ожидания трансплантации ..... № 4 (43–51)

Д.А. Гранов, А.С. Полехин, П.Г. Таразов, И.О. Руткин, И.И. Тилеубергенов, В.В. Боровик
Химиоэмболизация печеночных артерий у больных гепатоцеллюлярным раком на фоне цирроза перед трансплантацией печени: прогностическое значение концентрации альфафетопротеина ..... № 4 (52–57)

В.Л. Коробка, М.Ю. Кострыкин, А.М. Шаповалов
Лечение кровотечений из варикозно расширенных вен пищевода у больных из листа ожидания трансплантации печени ..... № 4 (58–64)

М.А. Танаш, М.А. Фролов, П.А. Гончар, Г.Н. Душина, Л.Т. Абабнех
Клинико-функциональные особенности сквозной кератопластики в Королевстве Иордания. Опыт одного центра ..... № 4 (65–68)

О.Н. Котенко, Л.Ю. Артюхина, Н.Ф. Фролова, Е.С. Столяревич
Особенности ведения реципиентов почечного трансплантата с новой коронавирусной инфекцией COVID-19 ..... № 4 (69–74)

Г.А. Акопов, А.С. Иванов, Т.Н. Говорова, Д.В. Москалев
J-образная стернотомия в хирургии пороков аортального клапана и восходящей аорты. Непосредственные результаты ..... № 4 (75–82)

ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ

З.Б. Карданахишвили, А.Б. Зулькарнаев, Б.В. Байков, В.А. Степанов
Неоднозначные результаты баллонной ангиопластики при стенозах центральных вен у пациентов на гемодиализе с нативной артериовенозной фистулой ..... № 1 (59–71)

К.Ю. Клышников, Т.В. Глушкова, Н.А. Щеглова, А.В. Костельцев, Е.А. Овчаренко
Зависимость механических свойств протеза-кольца для аннулопластики митрального клапана от режимов термической обработки ..... № 1 (72–78)

С.И. Бабенко, Р.М. Муратов, Т.А. Чабаидзе, Н.Н. Соболева, М.Н. Соркомов
Результаты коррекции пороков аортального клапана каркасным ксеноперикардиальным протезом «БиоЛАБ» малых размеров у возрастных пациентов ..... № 1 (79–85)

Е.А. Сенокосова, Е.О. Кривкина, Л.В. Антонова, Л.С. Барбараш
Биодеградируемый сосудистый протез малого диаметра: виды модифицирования биологически активными молекулами и RGD-пептидами ..... № 1 (86–96)

М.С. Носов, Г.П. Иткин, В.М. Заико, В.А. Мальгичев
Численный анализ влияния конфигурации канюли осевого насоса на образование зон стагнации и рециркуляции в левом желудочке сердца ..... № 2 (107–112)

М.О. Жульков, А.М. Головин, Е.О. Головина, А.С. Гренадеров, А.В. Фомичев, С.А. Альсов, А.М. Чернявский
Первый опыт имплантации аппарата механической поддержки кровообращения на основе насоса дискового типа в остром эксперименте ..... № 2 (113–116)

К.Ю. Клышников, Е.А. Овчаренко, Ю.А. Кудрявцева, Л.С. Барбараш
Гидродинамическая эффективность бесшовного протеза клапана сердца ..... № 2 (117–124)

А.П. Кулешов, Г.П. Иткин, А.С. Бучнев, А.А. Дробышев
Математическая оценка гемолиза канального центробежного насоса ..... № 3 (79–85)

М.О. Жульков, Д.А. Сирота, А.В. Фомичев, А.С. Гренадеров, А.М. Чернявский
Проблема биосовместимости и тромбогенности устройств вспомогательного кровообращения ..... № 4 (83–88)

РЕГЕНЕРАТИВНАЯ МЕДИЦИНА И КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

А.С. Пономарева, Л.А. Кирсанова, Н.В. Баранова, В.А. Сургученко, Г.Н. Бубенцова, Ю.Б. Басок, И.А. Милосердов, В.И. Севастьянов
Децеллюляризация фрагмента донорской поджелудочной железы для получения тканеспецифического матрикса ..... № 1 (123–133)

Г.Н. Скалецкая, Н.Н. Скалецкий, Л.А. Кирсанова, Г.Н. Бубенцова, В.И. Севастьянов
Внутриселезеночная имплантация тканеинженерной конструкции поджелудочной железы крысам с экспериментальным сахарным диабетом ..... № 1 (134–141)

М.Н. Егорихина, Д.Я. Алейник, Ю.П. Рубцова, И.Н. Чарыкова, А.А. Стручков, А.А. Ежевская, В.И. Загреков, Л.Н. Соснина, Е.В. Загайнова
Модель биомедицинского клеточного продукта для доклинических исследований на крупном лабораторном животном ..... № 1 (142–156)

Е.А. Горбунова, О.И. Кривошеина, Л.Р. Мустафина
Формирование опорно-двигательной культи глазного яблока с помощью тканеинженерной конструкции из никелида титана и аутологичных мононуклеарных лейкоцитов крови ..... № 1 (157–164)

Е.М. Фоминых, В.Н. Митрофанов, О.П. Живцов, А.А. Стручков, В.Ф. Зубрицкий, Ю.Н. Лебедева, Е.А. Воротеляк, Ю.В. Суханов
Трансплантация тканевых эквивалентов в лечении некоторых повреждений кожи ..... № 1 (165–173)

Е.В. Мельникова, О.В. Меркулова, В.А. Меркулов
Клинические исследования препаратов клеточной терапии: опыт рассмотрения зарубежными регуляторными органами ..... № 2 (139–150)

Т.Н. Акентьева, Д.К. Шишкова, А.Ю. Бураго, Ю.А. Кудрявцева
Локальный воспалительный ответ на использование шовного материала в хирургической практике: экспериментальные данные ..... № 2 (151–157)

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
Экспериментальные подходы к созданию тканеспецифического матрикса для биоискусственной печени ..... № 3 (123–133)

Н.А. Онищенко, Е.В. Фоменко, А.О. Никольская, З.З. Гоникова, М.Ю. Шагидулин, М.В. Балясин, А.В. Ельчанинов, В.И. Севастьянов
К механизму активации восстановительных процессов в печени при использовании общей РНК клеток костного мозга ..... № 3 (134–142)

А.Е. Ефимов, О.И. Агапова, Л.А. Сафонова, М.М. Боброва, И.И. Агапов
Трехмерный анализ микро- и наноструктуры ткани легкого методом сканирующей зондовой нанотомографии ..... № 3 (143–148)

Е.Г. Кузнецова, О.М. Курылева, Л.А. Саломатина, С.В. Курсаков, С.В. Гурьянова, В.И. Севастьянов
Влияние компонентов микроэмульсионной системы на трансдермальный перенос иммуномодулятора глюкозаминилмурамилдипептида ..... № 3 (149–155)

А.И. Лебедева, С.А. Муслимов, Л.А. Мусина, Е.М. Гареев, Р.З. Кадыров, Д.С. Кондратьева, С.А. Афанасьев, С.В. Попов
Эффект интрамиокардиального введения аллогенного биоматериала на уровень ангиогенеза и ремоделирования постишемического рубца у крыс ..... № 3 (156–166)

А.К. Ахмедов, Т.З. Керимов, Х.Д. Тонаева, Б.Э. Малюгин, С.А. Борзенок
Технология получения ультратонкого заднего послойного трансплантата роговицы в условиях Глазного тканевого банка ..... № 3 (167–173)

М.Ю. Шагидулин, Н.А. Онищенко, Ю.Б. Басок, А.М. Григорьев, А.Д. Кириллова, Е.А. Немец, Е.А. Волкова, И.М. Ильинский, Н.П. Можейко, В.И. Севастьянов, С.В. Готье
Функциональная эффективность клеточно-инженерной конструкции печени на основе тканеспецифического матрикса (экспериментальная модель хронической печеночной недостаточности) ..... № 4 (89–97)

М.М. Боброва, Л.А. Сафонова, А.Е. Ефимов, О.И. Агапова, И.И. Агапов
Микроносители в виде волокон из натурального шелка для культивирования клеток ... № 4 (98–104)

Л.А. Сафонова, М.М. Боброва, А.Е. Ефимов, О.И. Агапова, И.И. Агапов
Биодеградируемые материалы на основе тканей из натурального шелка как перспективные скаффолды для тканевой инженерии и регенеративной медицины ... № 4 (105–114)

О.И. Агапова, А.Е. Ефимов, Л.А. Сафонова, М.М. Боброва, И.И. Агапов
Исследование микро- и наноструктуры клеток печени, культивированных на биодеградируемых скаффолдах на основе фиброина шелка, методом сканирующей зондовой оптической нанотомографии ... № 4 (115–122)

А.Н. Иванов, Д.Д. Лагутина, Т.В. Степанова
Особенности механизмов реализации дистантного стимулирующего эффекта аутотрансплантации кожного лоскута на перфузию микроциркуляторного русла в условиях локальных и системных нарушений ... № 4 (123–132)

К.А. Воробьев, Т.О. Скипенко, Н.В. Загородний, Д.В. Смоленцев, А.Р. Закирова, В.И. Севастьянов
Аутологичные стимуляторы регенерации при имплантации аллогенных костнопластических материалов ... № 4 (133–139)

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

О.В. Ткаченко, О.О. Руммо, К.У. Вильчук, И.В. Курлович, А.Е. Щерба, О.В. Калачик, А.М. Дзядзько, С.Ю. Нагибович, И.В. Наумчик, В.В. Римашевский, О.А. Панкратова, М.А. Фролова
Первый опыт успешного вынашивания двух последовательных беременностей после симультанной трансплантации печени с рено-портальной транспозицией и почки ... № 1 (97–106)

С.В. Арзуманов, И.В. Чучина, А.Е. Митиш, С.К. Яровой
Одномоментная лапароскопическая билатеральная нефруретерэктомия, аллотрансплантация трупной почки и формирование везикостомы у больного с нейрогенным мочевым пузырем ... № 1 (107–113)

И.Н. Дымков, А.В. Смирнов, А.Д. Перлина, К.Г. Тайлер, И.В. Александров
Фатальное развитие плоскоклеточного рака через 10 лет после аллотрансплантации трупной почки ... № 1 (114–117)

С.В. Журавель, В.Э. Александрова, И.И. Уткина, Н.К. Кузнецова, Е.А. Тарабрин
Применение левосимендана при трансплантации легких в условиях ВА ЭКМО ... № 1 (118–122)

С.В. Щекатуров, И.В. Семенякин, А.К. Зокоев, Т.Б. Махмудов, Р.Р. Погосян
Робот-ассистированная трансплантация почки. Первый опыт ... № 2 (125–131)

Е.И. Прокопенко, С.А. Пасов, А.В. Ватазин, А.Я. Цалман, Т.Е. Панкратенко, Г.А. Генералова
Трансплантация почки с применением комплемент-блокирующей терапии у пациентки, страдающей атипичным гемолитико-уремическим синдромом, ассоциированным с антителами к фактору Н: успешное предотвращение рецидива основного заболевания ... № 2 (132–138)

В.Л. Медведев, В.А. Порханов, К.Е. Чернов, С.Н. Волков, Г.А. Палагута, О.В. Арепьева, Е.В. Гердель
Первый отечественный опыт аллотрансплантации трупной почки с использованием роботизированной системы Da Vinci ... № 3 (86–98)

А.В. Моисеенко, А.А. Поликарпов, П.Г. Таразов, Д.А. Гранов
Первый опыт прямого перфузионного исследования трансплантата после ортотопической пересадки печени ... № 3 (99–106)

Л.С. Коков, В.В. Соколов, М.В. Пархоменко, Р.Ш. Муслимов, М.В. Буланова, Н.М. Бикбова
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 ... № 3 (107–114)

А.И. Шайхалиев, П.С. Петрук, И.М. Шпицер, А.С. Мигачев, Л.Д. Аразашвили, Т.Р. Давыдова, Г.А. Гасбанов, Р.С. Корголоев
Эндопротез нижней челюсти с опорными зонами как искусственный орган ... № 3 (115–122)

И.В. Пашков, А.В. Никулин, Д.О. Олешкевич, М.Т. Беков, Р.А. Латыпов, Е.Ф. Шигаев, А.Г. Сухорукова, В.Н. Попцов, Е.А. Спирина, Е.В. Лебедев, Я.С. Якунин
Лечение экспираторного стеноза трахеи в сочетании с бронхоэктатической болезнью у реципиента донорских легких (первое наблюдение в Российской Федерации) ... № 4 (162–167)

Г.В. Анискевич, Г.А. Садриева, В.Н. Попцов, Е.А. Спирина, В.И. Орлов, Р.Ш. Саитгареев
Трансплантация сердца у реципиента с аномальной левой верхней полой веной ... № 4 (168–172)

О.В. Благова, Ю.А. Лутохина, Д.Х. Айнетдинова, В.П. Седов, А.Н. Воловченко, Д.А. Парфенов, Н.П. Можейко
Хронический миокардит тяжелого течения, верифицированный как гигантоклеточный: неизбежный выбор в пользу трансплантации сердца ... № 4 (173–182)

И.В. Пашков, М.Т. Беков, Р.А. Латыпов, Д.О. Олешкевич, Е.Ф. Шигаев, Е.В. Лебедев, К.С. Смирнов, С.В. Готье
Случай успешного лечения синдрома исчезающего промежуточного бронха после трансплантации легких ... № 4 (183–191)

И.М. Ильинский, Н.П. Можейко, О.М. Цирульникова
Морфология трансплантированной печени при возвратном прогрессивном семейном внутрипеченочном холестазе второго типа ..... № 4 (192–196)

О.В. Тащян, М.Г. Мнацаканян, А.П. Погромов, И.В. Куприна, Ю.Ф. Шумская
Новая коронавирусная инфекция (COVID-19) у больного с декомпенсированным циррозом печени ..... № 4 (197–201)

ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ

О.Н. Резник, Д.В. Михель
Глобальный дефицит донорских органов: анализ национальных стратегий самообеспечения ..... № 1 (174–183)

В.Е. Загайнов, А.В. Мелешина, К.Г. Корнева, С.А. Васенин, Е.В. Загайнова
Трансплантационные технологии для лечения нарушений углеводного обмена ..... № 1 (184–195)

В.Г. Матвеева, М.Ю. Ханова, Л.В. Антонова, Л.С. Барбараш
Фибрин – перспективный материал для тканевой сосудистой инженерии ..... № 1 (196–208)

А.В. Ватазин, А.Б. Зулькарнаев, В.А. Степанов
Клинические, иммунологические и этические аспекты выбора реципиента при трансплантации трупных донорских почек ..... № 1 (209–219)

О.Е. Гичкун
Контроль концентрации такролимуса в крови ..... № 2 (165–170)

Э.А. Тенчурина, М.Г. Минина
Современные представления о критериях селекции доноров сердца ..... № 3 (174–181)

С.В. Готье, М.А. Восканов, А.Р. Монахов, К.О. Сёмаш
Роль эндоваскулярных и эндобилиарных методов в лечении осложнений после трансплантации печени ..... № 4 (140–148)

К.О. Сёмаш, С.В. Готье
Обзор хирургической техники выполнения лапароскопических донорских резекций фрагментов печени ..... № 4 (149–153)

Н.С. Журавель, И.В. Дмитриев, А.В. Пинчук
Способы артериальной реконструкции трансплантата поджелудочной железы ..... № 4 (154–161)

КОНСЕРВАЦИЯ ДОНОРСКИХ ОРГАНОВ

Н.В. Грудинин, В.К. Богданов, М.Г. Шарапов, Н.С. Буненков, Н.П. Можейко, Р.Г. Гончаров, Е.Е. Фесенко, В.И. Новоселов
Применение пероксиредоксина для прекондиционирования трансплантата сердца крысы ..... № 2 (158–164)

ОРГАНИЗАЦИЯ ТРАНСПЛАНТОЛОГИЧЕСКОЙ ПОМОЩИ

С.В. Готье, С.М. Хомяков
Рекомендации по совершенствованию организации медицинской помощи по профилю «трансплантация» в субъекте РФ ..... № 2 (171–178)

АКТУАЛЬНАЯ ПРОБЛЕМА

С.В. Готье, А.О. Шевченко, О.М. Цирульникова, 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. Порчхидзе, Д.А. Сайдулаев, А.Д. Сапожников, С.Б. Семченко, М.М. Скоробогатов, В.Ю. Терещенко, Н.Ф. Фролова, Д.В. Халикова, Т.А. Халилулин
Особенности клинического течения коронавирусной инфекции COVID-19 у реципиентов сердца, почки, печени: первые результаты национального многоцентрового наблюдательного исследования «РОККОР-реципиент» ..... № 3 (8–17)

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 18.01.21.

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 0294

FibroScan®
by echosens

ФИБРОСКАН – эталонное решение для неинвазивной диагностики печени*

В предоперационном периоде FibroScan может помочь неинвазивно оценить распространенность жирового гепатоза у донора, тем самым обеспечить более качественный отбор трансплантата для пациента.

В предоперационном периоде FibroScan поможет снизить количество биопсий для анализа печени (что положительно скажется на восстановлении пациента), либо, проводя его совместно с биопсией, можно организовать более качественный и детальный мониторинг функций трансплантата.

Клиническая валидация: более 2400 рецензируемых публикаций

FibroScan compact 530 by echosens

ТОЛЬКО ФИБРОСКАН ОБЕСПЕЧИВАЕТ
ДВОЙНОЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПЕЧЕНИ:
- VCTE (транзиентная эластография с контролем вибрации)
- CAP (контролируемый параметр затухания)

Фиброз и стеатоз измеряются одновременно в одной области печени (объем около 3 см³)

Технология:

НЕИНВАЗИВНАЯ
ВОСПРОИЗВОДИМАЯ
КОЛИЧЕСТВЕННАЯ
МОБИЛЬНАЯ

FibroScan® 430 mini by echosens

reddot design award
winner 2017

* - European Association for the Study of the Liver, Asociación Latinoamericana para el Estudio del Hígado. EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. Journal of Hepatology 2015; https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.04.006.

ДЕЛЬРУС
www.delrus.ru

+7 495 120 77 00

echosens

Вся продукция зарегистрирована

Реклама