

ISSN 1995-1191

ВЕСТНИК

ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ
И ИСКУССТВЕННЫХ
ОРГАНОВ



Russian Journal
of Transplantology
and Artificial Organs

ТОМ XXIII

№4–2021

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)

2021. Том XXIII. № 4

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

Главный редактор – С.В. Готье
(Москва, Россия), академик РАН, д. м. н.,
профессор (редактор раздела «Организация
трансплантологической помощи»)

Заместитель главного редактора – О.П. Шевченко
(Москва, Россия), д. м. н., профессор
(редактор раздела «Трансплантомикса»)

Ответственный секретарь – Е.А. Стаханова
(Москва, Россия), к. б. н.
E-mail: stahanova.ekaterina@mail.ru

Технический секретарь – Н.Ш. Бегмуродова
(Москва, Россия).
E-mail: edr.begmurodova@gmail.com

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

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

- С.Ф. Багненко** (Санкт-Петербург, 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
Л.А. Габбасова (Москва, Россия) – д. м. н.
Г. Данович (Лос-Анжелес, США) – профессор
М.Г. Иткин (США, Филадельфия) – профессор
В.А. Порханов (Краснодар, Россия) – академик РАН, д. м. н., профессор
Л.М. Рошаль (Москва, Россия) – 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
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
Е.В. Шлякто (Санкт-Петербург, Россия) – академик РАН, д. м. н., профессор
П.К. Яблонский (Санкт-Петербург, Россия) – д. м. н., профессор

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)

2021. Vol. XXIII. № 4

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

Editor-in-Chief – S.V. Gautier
(Moscow, Russia), MD, PhD, professor, member
of Russian Academy of Sciences (editor of the section
«Organization of transplant care»)

Deputy Chief Editor – O.P. Shevchenko
(Moscow, Russia), MD, PhD, professor
(editor of the section «Transplantomics»)

Scientific Editor – E.A. Stakhanova
(Moscow, Russia), PhD.
E-mail: stahanova.ekaterina@mail.ru

Technical Editor – N.Sh. Begmurodova
(Moscow, Russia).
E-mail: edr.begmurodova@gmail.com

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

EDITORIAL COUNCIL

- S.F. Bagnenko** (Saint Petersburg, 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
L.A. Gabbasova (Moscow, Russia) – MD, PhD
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
G.T. Sukhikh (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor, member of Russian Academy of Sciences
V.A. Tkathuk (Moscow, Russia) – PhD, professor, member of Russian Academy of Sciences
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
E.V. Shliakhto (Saint Petersburg, Russia) – MD, PhD, professor, member of Russian Academy of Sciences
P.K. Yablonsky (Saint Petersburg, Russia) – MD, PhD, professor

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

- С.А. Борзенко** (Москва, Россия) – д. м. н., профессор
А.В. Ватазин (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. Климусева (Екатеринбург, Россия) – д. м. н.
О.Н. Котенко (Москва, Россия) – к. 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.
(редактор раздела «Донорство органов»)
Б.Л. Миронков (Москва, Россия) – д. м. н., профессор
(редактор раздела «Смежная дисциплина»)
Ю.П. Островский (Минск, Республика Беларусь) – академик НАНБ, д. м. н., профессор
Ки Донг Пак (Сеул, Южная Корея) – профессор
Я.Л. Поз (Москва, Россия) – к. м. н. (редактор раздела «Заместительная почечная терапия»)
В.Н. Попцов (Москва, Россия) – д. м. н., профессор
О.Н. Резник (Санкт-Петербург, Россия) – д. м. н.
О.О. Руммо (Минск, Республика Беларусь) – член-корреспондент НАНБ, д. м. н., профессор
Р.Ш. Сaitгареев (Москва, Россия) – д. м. н., профессор
В.И. Севастьянов (Москва, Россия) – д. б. н., профессор (редактор раздела «Регенеративная медицина и клеточные технологии»)
С.М. Хомяков (Москва, Россия) – к. м. н.
О.М. Цирульников (Москва, Россия) – д. м. н. (редактор раздела «Клиническая трансплантология»)
А.О. Шевченко (Москва, Россия) – член-корреспондент РАН, д. м. н., профессор (редактор раздела «Трансплантация сердца и вспомогательное кровообращение»)

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

Журнал «Вестник трансплантологии и искусственных органов» включен ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России в перечень российских рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные результаты исследований в рамках диссертаций, представляемых к защите в диссертационный совет ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

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

EDITORIAL BOARD

- C.A. Borzenok** (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor
A.V. Vatazin (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, 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
O.N. Kotenko (Moscow, Russia) – MD, PhD
J. Lerut (Brussels, Belgium) – MD, PhD, professor
G. Massard (Strasbourg, France) – MD, PhD, professor
I.A. Miloserdov (Moscow, Russia) – MD, PhD
M.G. Minina (Moscow, Russia) – MD, PhD
(editor of the section «Organ donation»)
B.L. Mironkov (Moscow, Russia), MD, PhD, professor
(editor of the section «Related subject»)
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
I.L. Poz (Moscow, Russia), MD, PhD (editor of the section «Renal replacement therapy»)
V.N. Poptsov (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor
O.N. Reznik (Saint Petersburg, Russia) – MD, PhD
O.O. Rummo (Minsk, Belarus) – MD, PhD, professor, corresponding member of National Academy of Sciences of Belarus
R.Sh. Saitgareev (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor
V.I. Sevastianov (Moscow, Russia) – PhD, professor
(editor of the section «Regenerative medicine and cellular technology»)
S.M. Khomyakov (Moscow, Russia) – MD, PhD
O.M. Tsurulnikova (Moscow, Russia) – MD, PhD, (editor of the section «Clinical transplantology»)
A.O. Shevchenko (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor, corresponding member of Russian Academy of Sciences
(editor of the section «Heart transplantation and assisted circulation»)

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

«Russian Journal of transplantology and artificial organs» is included by the Federal State Budgetary Institution «Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs» of the Ministry of Health of Russia in the list of Russian peer-reviewed scientific publications in which the main results of research should be published within the framework of dissertations submitted for defense to the dissertation council of Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs

«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 ОАО «АРЗИ» – 80248

СОДЕРЖАНИЕ

СТРАНИЦА ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Два года пандемии:
трансплантологическая помощь в РФ в 2021 году
С.В. Готье

КЛИНИЧЕСКАЯ ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ

Анализ отношения шансов задержки развития
у детей с билиарной атрезией через 12 месяцев
после трансплантации печени

*А.В. Сыркина, О.М. Цирульникова, И.Е. Пашкова,
О.В. Силина, Е.В. Чеклецова, С.Ю. Олешкевич*

Оценка эффективности протоколов
профилактики цитомегаловирусной инфекции
у реципиентов почки детского возраста

*О.М. Цирульникова, П.М. Гаджиева, И.А. Милосердов,
Д.А. Сайдулаев, И.Е. Пашкова*

Рак легкого у реципиентов солидных органов

А.В. Никулин, И.В. Пашков, Я.С. Якунин

Частота возникновения и факторы риска
развития хронического отторжения при остром
отторжении трансплантированной печени
у детей

*С.М. Дехгани, И. Шахрамян, М. Аятоллахи,
Ф. Пароо, М. Саларзай, М. Бахманьяр, А. Саргази,
М. Деларамнасаб*

Изменение скорости клубочковой фильтрации
у реципиентов печени после снижения
экспозиции ингибиторов кальциневрина
с одновременным назначением эверолимуса
на протяжении первого года после конверсии
иммуносупрессии

*В.Е. Сюткин, А.А. Салиенко, С.В. Журавель,
М.С. Новрузбеков*

Особенности менструального цикла
после трансплантации почки у женщин
репродуктивного возраста

*М.Т. Хан, Р.Б. Хамид, Ш. Рашид, Э. Джахан, Н. Лал,
Р. Иштиак*

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ СЕРДЦА И ВСПОМОГАТЕЛЬНОЕ КРОВООБРАЩЕНИЕ

Антителоопосредованное отторжение
трансплантата сердца

*В.С. Кван, Н.Н. Колоскова, Ю.А. Качанова,
Н.Н. Сайфуллина, А.Ю. Гончарова, Л.Б. Круглый,
А.О. Шевченко*

CONTENTS

EDITORIAL

- 6 Two years of COVID-19:
transplant care in the Russian Federation 2021
S.V. Gautier

CLINICAL TRANSPLANTOLOGY

- 8 Analysis of the odds ratio of developmental delay
in children with biliary atresia 12 months after liver
transplantation
*A.V. Syrkina, O.M. Tsirulnikova, I.E. Pashkova,
O.V. Silina, E.V. Chekletsova, S.Yu. Oleshkevich*
- 13 Evaluation of the effectiveness of prophylactic
strategies for cytomegalovirus infection in pediatric
kidney recipients
*O.M. Tsirulnikova, P.M. Gadzhieva, I.A. Miloserdov,
D.A. Saydulaev, I.E. Pashkova*
- 19 Lung cancer in solid organ transplant recipients
A.V. Nikulin, I.V. Pashkov, Ya.S. Yakunin
- 26 The incidence and risk factors of chronic rejection
in acutely rejected pediatric liver transplantation
*S.M. Dehghani, I. Shahramian, M. Ayatollahi,
F. Parooie, M. Salarzaei, M. Bahmanyar, A. Sargazi,
M. Delaramnasab*
- 32 Changes in glomerular filtration rate in liver
recipients after reduced exposure to calcineurin
inhibitors with concomitant everolimus
administration within the first year after
immunosuppression conversion
*V.E. Syutkin, A.A. Salienko, S.V. Zhuravel,
M.S. Novruzbekov*
- 42 Pattern of menstrual cycle after kidney transplant
in reproductive women
*M.T. Khan, R. Hamid, Sh. Rashid, E. Jahan, N. Lal,
R. Ishtiaq*

HEART TRANSPLANTATION AND ASSISTED CIRCULATION

- 47 Antibody-mediated rejection in heart
transplantation
*V.S. Kvan, N.N. Koloskova, Yu.A. Kachanova,
N.N. Sayfullina, A.Yu. Goncharova, L.B. Krugly,
A.O. Shevchenko*

Заместительная почечная терапия у реципиентов
сердечного трансплантата
*Я.Л. Поз, А.Г. Строков, Ю.В. Копылова, В.Н. Попцов,
С.В. Готье*

Оценка эффективности новой системы
генерации пульсирующего потока в роторных
насосах вспомогательного кровообращения.
Исследование на математической модели
*Г.П. Иткин, А.И. Сырбу, А.П. Кулешов, А.С. Бучнев,
А.А. Дробышев*

Разработка конструкции и 3D-модели устройства
динамической фильтрации микропузырьков
для систем искусственного кровообращения
*А.П. Кулешов, А.С. Бучнев, А.А. Дробышев,
Г.П. Иткин*

РЕГЕНЕРАТИВНАЯ МЕДИЦИНА И КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

Механические свойства нативной
и децеллюляризованной стенки аорты
после длительного хранения в биоцидных
растворах

*М.Б. Васильева, Е.В. Кузнецова, Я.Л. Русакова,
Е.В. Чепелева, Д.С. Сергеевичев, И.Ю. Журавлева*

Современные технологии инкапсуляции
островков Лангерганса поджелудочной железы
для коррекции сахарного диабета 1-го типа
*П.С. Ермакова, Е.И. Черкасова, Н.А. Леншина,
А.Н. Конев, М.А. Батенькин, С.А. Чесноков,
Д.М. Кучин, Е.В. Загайнова, В.Е. Загайнов,
А.В. Кашина*

Роль апоптотических клеток костного мозга
при активации регенерационных процессов
в печени

*Н.А. Онищенко, А.О. Никольская, З.З. Гоникова,
Л.А. Кирсанова, М.Ю. Шагидулин, В.И. Севастьянов*

Биологически активное покрытие
для тканеинженерной конструкции кровеносных
сосудов малого диаметра

*В.А. Сургученко, Е.А. Немец, В.Ю. Белов,
В.И. Севастьянов*

ИМПЛАНТАТЫ И ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ

Компьютерное моделирование заплат различной
формы при классической каротидной
эндартерэктомии

*В.Г. Борисов, Ю.Н. Захаров, А.Н. Казанцев,
Ю.И. Шокин, А.В. Евтушенко, Л.С. Барбараш,
П.С. Онищенко, К.Ю. Клышников, Е.А. Овчаренко*

62 Renal replacement therapy in heart transplant
recipients
*I.L. Poz, A.G. Strokov, Yu.V. Kopylova, V.N. Poptsov,
S.V. Gautier*

73 Evaluation of the efficiency of a new pulsatile
flow-generating circulatory-assist system in rotary
blood pumps. Research on a mathematical model
*G.P. Itkin, A.I. Syrbu, A.P. Kyleshov, A.S. Buchnev,
A.A. Drobyshev*

79 Design and 3D-model of a dynamic bubble trap
for cardiopulmonary bypass
A.P. Kuleshov, A.S. Buchnev, A.A. Drobyshev, G.P. Itkin

REGENERATIVE MEDICINE AND CELL TECHNOLOGIES

86 Mechanical properties of native and decellularized
aortic wall after long-term storage in biocide
solutions

*M.B. Vasilyeva, E.V. Kuznetsova, Ya.L. Rusakova,
E.V. Chepeleva, D.S. Sergeevichev, I.Yu. Juravleva*

95 Modern pancreatic islet encapsulation technologies
for the treatment of type 1 diabetes

*P.S. Ermakova, E.I. Cherkasova, N.A. Lenshina,
A.N. Konev, M.A. Batenkin, S.A. Chesnokov, D.M. Kuchin,
E.V. Zagainova, V.E. Zagainov, A.V. Kashina*

110 The role of apoptotic bone marrow cells
in activation of liver regeneration

*N.A. Onishchenko, A.O. Nikolskaya, Z.Z. Gonikova,
L.A. Kirsanova, M.Yu. Shagidulin, V.I. Sevastianov*

119 Bioactive coating for tissue-engineered small-
diameter vascular grafts

*V.A. Surguchenko, E.A. Nemets, V.Yu. Belov,
V.I. Sevastianov*

IMPLANTS AND ARTIFICIAL ORGANS

132 Computer modeling of different shaped patches
in classical carotid endarterectomy

*V.G. Borisov, Yu.N. Zakharov, A.N. Kazantsev,
Yu.I. Shokin, A.V. Evtushenko, L.S. Barbarash,
P.S. Onishchenko, K.Yu. Klyshnikov, E.A. Ovcharenko*

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

Хирургическое лечение биатриальной миксомы
*А.С. Иванов, Н.П. Можейко, Г.А. Акопов,
М.К. Луговский, О.О. Шелест*

ПОЗДРАВЛЯЕМ С ЮБИЛЕЕМ ДМИТРИЯ АНАТОЛЬЕВИЧА ГРАНОВА

ИНФОРМАЦИЯ

Требования к публикациям

ПАМЯТИ ВИКТОРА СОЛОМОНОВИЧА КРЫЛОВА

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

Перечень материалов, опубликованных
в 2021 году в журнале «Вестник трансплантологии
и искусственных органов»

CLINICAL CASES

143 Surgical treatment of biatrial myxoma
*A.S. Ivanov, N.P. Mozheiko, G.A. Akopov, M.K. Lugovskiy,
O.O. Shelest*

151 CONGRATULATION TO DMITRII GRANOV

INFORMATION

152 Instructions to authors

155 IN MEMORY VICTOR KRYLOV

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

157 List of articles, published in 2021
in «Russian Journal of Transplantology
and Artificial Organs»

ДВА ГОДА ПАНДЕМИИ: ТРАНСПЛАНТОЛОГИЧЕСКАЯ ПОМОЩЬ В РФ В 2021 ГОДУ

TWO YEARS OF COVID-19: TRANSPLANT CARE IN THE RUSSIAN FEDERATION 2021

Длительность пандемии новой коронавирусной инфекции COVID-19 составляет уже 2 года, однако оказание трансплантологической помощи в РФ не останавливается, и в 2021 году темп выполнения трансплантаций приблизился к 2019 году – самому успешному в истории отечественной трансплантологии. Невзирая на тот факт, что многие медицинские учреждения в России, как и во всем мире, были перепрофилированы для лечения пациентов с новой коронавирусной инфекцией и проведение пересадок в некоторых из них было временно приостановлено, предпринимались все возможные меры, для того чтобы найти выходы из сложившейся ситуации. Общими усилиями удалось это сделать, и несмотря на сложности, которые создавала пандемия, мы все же добились успехов.

На сегодняшний день трансплантационная программа запущена и успешно развивается в 62 учреждениях по всей стране. Только за период пандемии были выполнены первые трансплантации почки в Туле, Владивостоке и Улан-Удэ, трансплантация сердца в Тюмени. Открыл свои двери для пациентов и Филиал НМИЦ ТИО имени академика В.И. Шумакова в г. Волжский, где пациентам не только оказывается трансплантологическая помощь, но и проводятся диагностика и устранение даже самых сложных сопутствующих диагнозов. Впервые в Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова в Санкт-Петербурге выполнили пересадку печени ребенку – до этого такие операции проводились только в столице. В Российской детской клинической больнице была запущена программа родственной трансплантации почки детям, а



The novel coronavirus disease (COVID-19) outbreak and pandemic that is ravaging our world, has already lasted two years. However, provision of transplant care in the Russian Federation continues. In 2021, the rate of transplant surgeries approached that of 2019 – the most successful year in the history of Russian transplantology. Even though many medical institutions in Russia, as well as all over the world, have been reassigned to treat COVID-19 patients, and some of these centers have temporarily suspended transplant surgeries, all possible measures have been taken to find a way out of this situation. By our joint efforts, we were able to do this, and despite the challenges posed by the pandemic, we were still able to make progress.

To date, transplantation programs have been launched and are successfully developing in 62 institutions across the country. During the pandemic period alone, kidney transplants were performed for the first time in Tula, Vladivostok and Ulan-Ude, and heart transplantation in Tyumen. The Volzhskiy branch of Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs also opened its doors to patients, where people could receive transplant care, and as well get complex related complications diagnosed and treated. A liver transplant was performed on a child for the first time in Kirov Military Medical Academy in St. Petersburg. Before then, such operations had been performed only in Moscow. The Russian Children's Clinical Hospital launched a related pediatric kidney transplantation program. The first series of liver transplants were performed at the Moscow Clinical Scientific Center.

в Московском клиническом научном центре выполнена первая серия трансплантаций печени.

Все это означает, что ведомственная целевая программа Минздрава России «Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации» продолжает успешно реализовываться, и нам удается наращивать объемы оказания помощи, даже с учетом всех сложностей, созданных пандемией.

В 2022 году операции по трансплантации будут выполнять медицинские центры в 40 регионах страны. Сегодня есть все основания рассчитывать на то, что в грядущем году удастся реализовать все задуманное и приумножить перспективы: уже обучены региональные специалисты и обсуждается запуск трансплантационных программ в Хабаровском крае, Республике Крым, Ярославской, Курской, Ивановской областях и в городе Севастополе.

Открытие новых программ, расширение существующих, приумножение числа компетентных кадров позволяет не только увеличивать количество выполняемых операций, но и способствует расширению горизонтов научной отрасли.

С уважением,
академик РАН С.В. Готье



All this makes it crystal clear that departmental special-purpose programme «Organ Donation and Transplantation in the Russian Federation» by the Russian Ministry of Health, continues to be implemented successfully, and we are able to increase the volume of care, even with all the challenges created by the COVID-19 pandemic.

In the coming year 2022, medical centers will be carrying our transplant surgeries in 40 regions across the country. Today there is every reason to expect that in the coming year, we will be able to implement all the plans and considerably increase the prospects. Regional specialists have already been trained and the launch of transplant programs in Khabarovsk Krai, Republic of Crimea, Yaroslavl Oblast, Kursk Oblast, Ivanovo Oblast and Sevastopol is currently being deliberated on.

Launching of new programs, expansion of existing ones, and boosting of the number of highly-skilled personnel would not only increase the number of operations performed, but also expand the horizons and potential of the medical industry.

Sincerely,
Sergey Gautier
Member, Russian Academy of Sciences

DOI: 10.15825/1995-1191-2021-4-8-12

АНАЛИЗ ОТНОШЕНИЯ ШАНСОВ ЗАДЕРЖКИ РАЗВИТИЯ У ДЕТЕЙ С БИЛИАРНОЙ АТРЕЗИЕЙ ЧЕРЕЗ 12 МЕСЯЦЕВ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ

А.В. Сыркина¹, О.М. Цирульникова^{1, 2}, И.Е. Пашкова¹, О.В. Силина¹, Е.В. Чеклецова¹, С.Ю. Олешкевич¹

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

Актуальность. Цирроз печени, сформированный в первый год жизни, может повлиять на развитие детей. Трансплантация печени (ТП) – единственный метод радикального лечения декомпенсированного цирроза. При билиарной атрезии цирроз формируется в течение первых месяцев жизни. Длительность цирроза при билиарной атрезии может варьировать в зависимости от проведения паллиативного этапа портоэнтеростомии (ПЭС) по Касаи до трансплантации печени. Нарушения развития детей с билиарной атрезией показаны в исследованиях как до трансплантации печени, так и после нее. Связь длительности существования цирроза печени с психомоторным развитием детей недооценена. **Цель.** Определить шансы задержки развития у детей в зависимости от времени персистенции цирроза. **Материалы и методы.** В исследование набрано 83 ребенка с билиарной атрезией (47 детей прошли паллиативный этап ПЭС по Касаи, 36 детей – с трансплантацией печени без ПЭС по Касаи). Все дети прошли оценку уровня психомоторного развития до ТП и через 12 месяцев после ТП с помощью шкалы психомоторного развития по Гриффитс (перевод и адаптация Е.С. Кешишян) для детей до 24 месяцев жизни. Статистический анализ проводился с помощью расчета отношения шансов с 95% доверительным интервалом. **Результаты.** Сравнительный анализ показал, что в подгруппе детей, прошедших портоэнтеростомию по Касаи, время персистенции цирроза печени до трансплантации было на 2,6 месяца больше по сравнению с детьми без ПЭС по Касаи ($p = 0,011$). Шансы задержки развития на этапе подготовки к трансплантации печени в подгруппе детей, прошедших паллиативный этап портоэнтеростомии по Касаи, в 3,3 раза выше по сравнению с детьми без паллиативного этапа (95% ДИ 1,35–8,31). Шансы задержки развития через 12 месяцев после трансплантации печени в подгруппе детей, прошедших паллиативный этап портоэнтеростомии по Касаи, в 4,4 раза выше по сравнению с детьми без паллиативного этапа (95% ДИ 1,54–12,5). **Заключение.** У детей, перенесших трансплантацию печени после паллиативного этапа хирургического лечения, уровень психомоторного развития ниже, чем у детей без паллиативной портоэнтеростомии по Касаи как до, так и через 12 месяцев после трансплантации печени ($p = 0,0018$, $p = 0,01$ соответственно).

Ключевые слова: трансплантация печени, билиарная атрезия, портоэнтеростомия по Касаи, психоневрологическое развитие.

Для корреспонденции: Сыркина Алла Владиславовна. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (903) 769-16-08. E-mail: AllaSyrk@gmail.com

Corresponding author: Alla Syrkina. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (903) 769-16-08. E-mail: AllaSyrk@gmail.com

ANALYSIS OF THE ODDS RATIO OF DEVELOPMENTAL DELAY IN CHILDREN WITH BILIARY ATRESIA 12 MONTHS AFTER LIVER TRANSPLANTATION

A.V. Syrkina¹, O.M. Tsurulnikova^{1, 2}, I.E. Pashkova¹, O.V. Silina¹, E.V. Chekletsova¹, S.Yu. Oleshkevich¹

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

² Sechenov University, Moscow, Russian Federation

Background. Liver cirrhosis occurring before 1 year of age can affect a child's development. Liver transplantation is the only radical treatment for decompensated cirrhosis. In biliary atresia, cirrhosis develops during the first months of life. The duration of cirrhosis in biliary atresia may vary from palliative Kasai portoenterostomy (PE) to liver transplantation. Developmental abnormalities in children with biliary atresia have been shown to occur both before and after liver transplantation. Association between duration of liver cirrhosis and psychomotor development of children has been underestimated. **Objective:** to determine the chances of developmental delay in children depending on the cirrhosis persistence duration. **Materials and methods.** The study enrolled 83 children with biliary atresia (47 children underwent palliative Kasai PE, 36 children with liver transplantation did not undergo Kasai PE). All children had their psychomotor development assessed before PE and 12 months after PE using the Griffiths psychomotor developmental scale (translation and adaptation by E.S. Keshishian) for children up to 24 months of age. Statistical analysis was performed by calculating odds ratios with 95% confidence intervals. **Results.** Comparative analysis showed that in the subgroup of children who underwent Kasai PE, cirrhosis persistence before transplantation was 2.6 months longer than in children without Kasai PE ($p = 0.011$). The odds of developmental delay in preparation for liver transplantation were 3.3 times higher in the subgroup of children who underwent Kasai palliative PE compared to children without palliative (95%, CI 1.35–8.31). The odds of developmental delay 12 months after liver transplantation were 4.4 times higher in the subgroup of children who underwent palliative Kasai PE than in children without the palliative care (95% CI 1.54–12.5). **Conclusion.** Children who underwent liver transplantation after palliative surgical treatment had lower levels of psychomotor development than children without palliative Kasai PE both before and 12 months after liver transplantation ($p = 0.0018$, $p = 0.01$ respectively).

Keywords: liver transplantation, biliary atresia, Kasai portoenterostomy, neuropsychiatric development.

ВВЕДЕНИЕ

Билиарная атрезия – одно из самых частых показаний к трансплантации печени у детей первого года жизни. По данным С.В. Готье (2019), ежегодное число ортотопических трансплантаций печени (ТП) детям в РФ остается стабильным и держится на уровне 110–130 операций в год, что соответствует выявленной потребности населения в данном методе лечения [1]. В 2020 г. в НМИЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова было произведено 98 трансплантаций печени детям, их них 85 – родственные. Среди них 45 трансплантаций по поводу цирроза в исходе билиарной атрезии. По опыту НМИЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова показатели одно- и трехлетней выживаемости трансплантата печени составляют 92,1 и 90,9% соответственно [2].

Выживаемость и долгосрочные результаты продолжают улучшаться для большинства детей, получающих родственную трансплантацию печени. Это обусловлено совершенствованием хирургической

техники, периоперационным уходом и современной иммуносупрессивной терапией.

Цирроз печени, сформированный в возрасте первого года, может оказать влияние на моторное и психо-речевое развитие детей [3]. Время персистенции цирроза отличается у детей с билиарной атрезией в зависимости от проведения паллиативного этапа портоэнтеростомии по Касаи (ПЭС по Касаи). Зачастую осложнения цирроза (синтетическая недостаточность печени, развитие портальной гипертензии, портосистемное шунтирование) маскируются нормальным уровнем общего и прямого билирубина у детей, прошедших портоэнтеростомию по Касаи, и приводят к поздней диагностике декомпенсации цирроза печени и откладыванию трансплантации печени.

В литературе описаны нарушения развития у детей с циррозом в исходе билиарной атрезии как на этапе подготовки к трансплантации печени [4, 5], так и после нее [6, 7].

Целью данного исследования было определение шансов задержки развития у детей в зависимости от времени персистенции цирроза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для реализации этой цели была набрана группа детей с билиарной атрезией (n = 83), поступивших в НИИЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова для проведения трансплантации печени. Критериями включения были: установленный диагноз билиарной атрезии, трансплантация печени до 12 месяцев жизни. Кри-

терии исключения: сопутствующие неврологические заболевания, нейротоксические реакции на введение иммуносупрессантов после трансплантации печени.

Дети были разделены на подгруппы в зависимости от проведения паллиативного этапа портоэнтеростомии по Касаи. 47 детей прошли ПЭС по Касаи в возрасте 1–3 месяцев, 36 детей без паллиативного этапа сразу прошли родственную трансплантацию печени. Характеристики детей в подгруппах представлены в таблице.

Таблица

Характеристики детей, набранных в исследование

Characteristics of children recruited into the study

Характеристика	ПЭС по Касаи		Достоверность различий
	не проводилась, n = 36	проводилась, n = 47	
Возраст на момент трансплантации печени, месяцы (min–max)	6,5 (4–15)	9,1 (5–24)	p = 0,011
Количество детей с окружностью плеча <3 перцентилей, n (%)	17 (47)	23 (48)	p = 0,06
PELD среднее значение (min–max)	23 (13–44)	28,5 (9–34)	p = 0,075
Средняя масса тела перед трансплантацией, кг (min–max)	6,7 (5,3–9,3)	6,9 (5,0–10,5)	p = 0,34
Печеночная энцефалопатия, n (%)	1 (2,8)	1 (2,1)	p = 0,1

Сравнительный анализ показал, что в подгруппе детей, прошедших портоэнтеростомию по Касаи, длительность персистенции цирроза печени до трансплантации была на 2,6 месяца больше по сравнению с детьми без ПЭС по Касаи (p = 0,011).

Все дети проходили оценку уровня развития до трансплантации печени и через 12 месяцев после нее с помощью шкалы психомоторного развития по Гриффитс (перевод и адаптация Е.С. Кешишян) для детей до 24 месяцев жизни.

Проводился статистический анализ отношения шансов задержки развития для детей в зависимости от проведения паллиативного этапа ПЭС по Касаи.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Первое измерение проводилось на этапе подготовки к трансплантации печени. 34 ребенка демонстрировали задержку развития: 14 детей без паллиативного этапа и 32 ребенка подгруппы ПЭС по Касаи. Разница в подгруппах была статистически достоверной (p = 0,0018). На рис. 1 представлено число детей на этапе подготовки к трансплантации печени с нормальным и отклоняющимся от нормы развитием в зависимости от проведения паллиативного этапа ПЭС по Касаи.

Нами был проведен анализ наличия задержки развития в зависимости от проведения ПЭС по Касаи. На рис. 2 представлено наглядное графическое отображение данных.

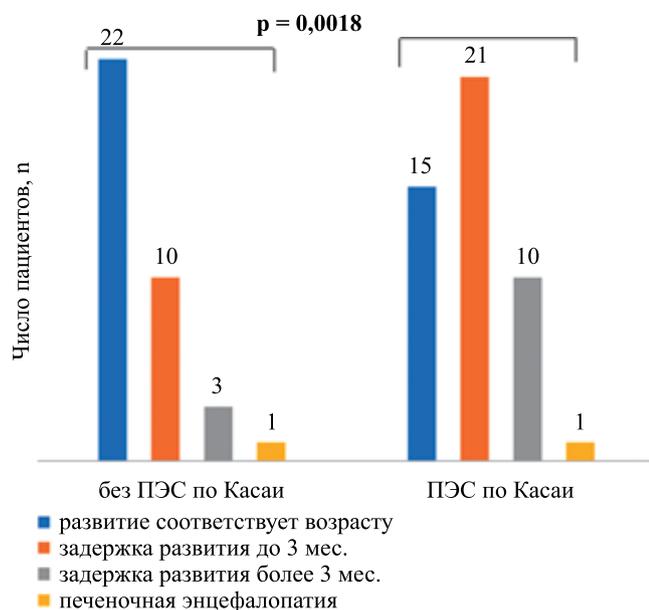


Рис. 1. Уровни развития детей с циррозом печени в исходе билиарной атрезии на этапе подготовки к трансплантации в подгруппах

Fig. 1. Levels of development of children with liver cirrhosis in the outcome of biliary atresia at the stage of preparation for transplantation in subgroups

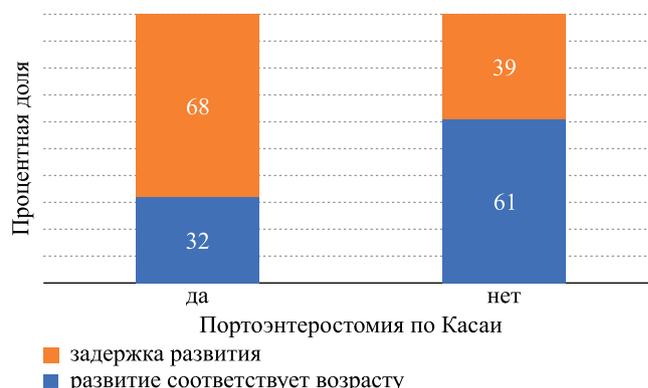


Рис. 2. Анализ наличия задержки развития в зависимости от проведения паллиативного этапа ПЭС по Касаи

Fig. 2. Analysis of the presence of developmental delay, depending on the palliative stage of Kasai portoenterostomy

Шансы задержки развития на этапе подготовки к трансплантации печени в подгруппе детей, прошедших паллиативный этап портоэнтеростомии по Касаи, в 3,3 раза выше по сравнению с детьми без паллиативного этапа (95%, ДИ 1,35–8,31).

Второе измерение проводилось детям через 12 месяцев после трансплантации печени. В группе детей без портоэнтеростомии по Касаи у 6 детей (16,7%) отмечали задержку развития менее 3 месяцев. В группе детей, прошедших паллиативный этап ПЭС по Касаи, 8 пациентов демонстрировали задержку развития более 3 месяцев и 14 детей имели задержку менее 3 месяцев – всего 22 ребенка (46,8%). Разница в подгруппах в отношении числа детей с задержкой развития была статистически значимой, $p = 0,01$ (рис. 3).

Нами был проведен анализ шансов наличия задержки развития детей через 12 месяцев после трансплантации печени в зависимости от проведения ПЭС по Касаи. На рис. 4 представлено наглядное графическое отображение данных.

Шансы задержки развития через 12 месяцев после трансплантации печени в подгруппе детей, прошедших паллиативный этап портоэнтеростомии по Касаи, в 4,4 раза выше по сравнению с детьми без паллиативного этапа (95%, ДИ 1,54–12,5).

ОБСУЖДЕНИЕ

Патогенез задержки развития у детей с билиарной атрезией связан со многими процессами: накоплением нейротоксических веществ, оказывающих воздействие на уровне центральной и периферической нервной системы, катаболической направленностью обменных процессов, недостаточным синтезом печенью факторов роста, а также с истощением мышц, что связано с нарушением детоксикации аммиака. Повышение провоспалительных цитокинов ИЛ-6, ИЛ-18 отмечено у пациентов с циррозом [8]. Системное воспаление означает развитие нейровоспаления, что может проявляться по-разному. На уровне центральной нервной системы – развитием острых состояний: судорожных приступов и комы, хронической нейродегенерации, проявляющейся нарушением развития и поведения детей [9–13]. Нейровоспаление на уровне периферической нервной системы проявляется хронической воспалительной демиелинизирующей полиневропатией [14, 15] с клинической картиной мышечной слабости, снижения мышечного тонуса и силы, вегетативными нарушениями у пациентов с билиарным циррозом [15].

Значимость нейровоспаления в настоящее время активно изучается в контексте различных заболеваний, тогда как в отношении билиарной атрезии и декомпенсированного цирроза у детей требуется проведение исследований.

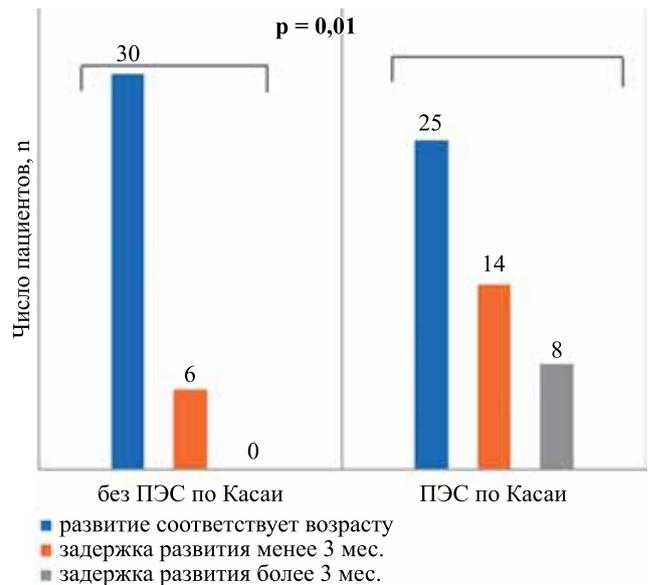


Рис. 3. Уровни развития детей с циррозом печени в исходе билиарной атрезии через 12 месяцев после трансплантации печени в подгруппах

Fig. 3. Levels of development of children with liver cirrhosis in the outcome of biliary atresia 12 months after liver transplantation in subgroups

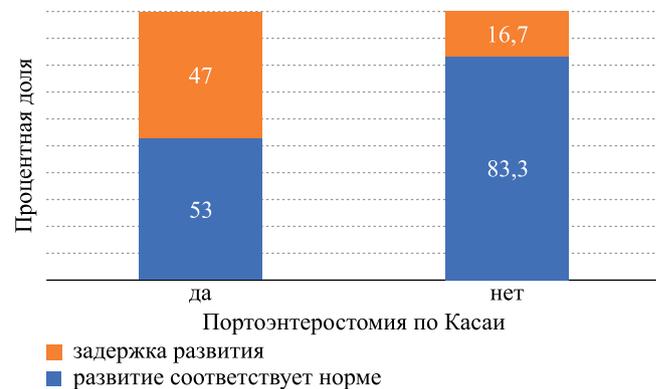


Рис. 4. Анализ наличия задержки развития в зависимости от проведения паллиативного этапа ПЭС по Касаи

Fig. 4. Analysis of the presence of developmental delay, depending on the palliative stage of Kasai portoenterostomy

Нейровоспаление коррелирует с когнитивными и эмоциональными проблемами взрослых с циррозом, в частности, повышение уровня фактора некроза опухоли альфа связано с депрессией и утомляемостью при хронических заболеваниях печени [16]. В то же время результаты клинических исследований, посвященных развитию детей – реципиентов донорской печени, демонстрируют противоречивые данные. Только часть исследователей склонны связывать нарушения развития детей – реципиентов печени с неудачным этапом портоэнтеростомии по Касаи [17–19].

ВЫВОД

В нашем исследовании показана разница в уровне развития детей с билиарной атрезией в зависимости от времени персистенции цирроза печени. Увеличение времени персистенции цирроза на 2,6 месяца увеличивает шансы на задержку развития в 3,3 раза до ТП (95% ДИ 1,35–8,31) и в 4,4 раза через 12 месяцев после ТП (95% ДИ 1,54–12,5). У детей, перенесших трансплантацию печени после паллиативного этапа хирургического лечения, уровень психомоторного и когнитивного развития в среднем ниже, чем у детей без паллиативной портоэнтеростомии по Касаи как до, так и через 12 месяцев после трансплантации печени ($p = 0,0018$, $p = 0,01$ соответственно).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Готье СВ, Хомяков СМ. Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2019 году. XII сообщение регистра Российского трансплантологического общества. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2020; 22 (2): 8–34. Gautier SV, Khomyakov SM. Donorstvo i transplantatsiya organov v Rossiyskoy Federatsii v 2019 godu. XII soobshchenie registra Rossiyskogo transplantologicheskogo obshchestva. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2020; 22 (2): 8–34.
2. Monakhov A, Gautier S, Tsirolnikova O et al. Living donor left lateral sectionectomy: Should the procedure still be performed open? *Journal of Liver Transplantation*. 2021; 1.
3. Stewart SM, Uauy R, Waller DA et al. Mental and motor development correlates in patients with end-stage biliary atresia awaiting liver transplantation. *Pediatrics*. 1987; 79 (6): 882–888.
4. Sun Y, Jia L, Yu H et al. The Effect of Pediatric Living Donor Liver Transplantation on Neurocognitive Outcomes in Children. *Ann Transplant*. 2019; 24: 446–453.
5. Rodijk LH et al. Early Motor Repertoire in Infants With Biliary Atresia: A Nationwide Prospective Cohort Study. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2021; 72 (4): 592.
6. Santos JC et al. Neuropsychomotor development in children and adolescents with liver diseases: systematic review with meta-analysis. *Arq Gastroenterol*. 2021; 58 (2): 217–226.
7. Squires JE, Saquetto MB, Gomes M et al. Neurodevelopmental Outcomes in Preschool and School Aged Children With Biliary Atresia and Their Native Liver. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2020; 70 (1): 79–86.
8. Montoliu C, Piedrafita B, Serra SA et al. IL-6 and IL-18 in blood may discriminate cirrhotic patients with and without minimal hepatic encephalopathy. *J Clin Gastroenterol*. 2009; 43 (3): 272–279.
9. Rangroo Thrane V, Thrane AS, Wang F et al. Ammonia triggers neuronal disinhibition and seizures by impairing astrocyte potassium buffering. *Nat Med*. 2013; 19 (12): 1643–1648.
10. Цирульникова ОМ, Сыркина АВ, Милосердов ИА и др. Острые симптоматические судорожные приступы в раннем послеоперационном периоде трансплантации печени, почки. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2021; 23 (2): 158–166. Tsirol'nikova OM, Syrkina AV, Miloserdov IA i dr. Ostrye simptomaticheskie sudorozhnye pristupy v rannem posleoperatsionnom periode transplantatsii pecheni, pochki. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2021; 23 (2): 158–166.
11. Kenston SSF, Song X, Li Z et al. Mechanistic insight, diagnosis, and treatment of ammonia-induced hepatic encephalopathy. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2019; 34 (1): 31–39.
12. Garcia-Martinez R, Rovira A, Alonso J et al. Hepatic encephalopathy is associated with posttransplant cognitive function and brain volume. *Liver Transpl*. 2011; 17 (1): 38–46.
13. Sotil EU, Gottstein J, Ayala E et al. Impact of preoperative overt hepatic encephalopathy on neurocognitive function after liver transplantation. *Liver Transpl*. 2009; 15 (2): 184–192.
14. Kharbanda PS, Prabhakar S, Chawla YK et al. Peripheral neuropathy in liver cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2003; 18 (8): 922–926.
15. Murata K, Ishiguchi H, Ando R et al. Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy associated with primary biliary cirrhosis. *J Clin Neurosci*. 2013; 20 (12): 1799–1801.
16. Swain MG. Fatigue in liver disease: pathophysiology and clinical management. *Can J Gastroenterol*. 2006; 20 (3): 181–188.
17. Caudle SE, Katzenstein JM, Karpen S et al. Developmental assessment of infants with biliary atresia: differences between boys and girls. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012; 55 (4): 384–389.
18. Ng VL, Sorensen LG, Alonso EM et al. Neurodevelopmental Outcome of Young Children with Biliary Atresia and Native Liver: Results from the ChiLDReN Study. *J Pediatr*. 2018; 196: 139–147.e3.
19. Сыркина АВ, Пашкова ИЕ, Монахов АР и др. Особенности нервно-психического развития детей с билиарной атрезией после трансплантации печени. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2021; 23 (3): 66–72. Syrkina AV, Pashkova IE, Monakhov AR i dr. Osobennosti nervno-psikhicheskogo razvitiya detey s biliarnoy atreziyey posle transplantatsii pecheni. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2021; 23 (3): 66–72.

*Статья поступила в редакцию 7.09.2021 г.
The article was submitted to the journal on 7.09.2021*

DOI: 10.15825/1995-1191-2021-4-13-18

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТОКОЛОВ ПРОФИЛАКТИКИ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У РЕЦИПИЕНТОВ ПОЧКИ ДЕТСКОГО ВОЗРАСТА

О.М. Цирульникова^{1, 2}, П.М. Гаджиева¹, И.А. Милосердов^{1, 2}, Д.А. Сайдулаев¹, И.Е. Пашкова¹

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

ЦМВ-инфекция представляет собой наиболее серьезную вирусную инфекцию у реципиентов почечно-го трансплантата, которая может возникнуть в посттрансплантационном периоде как у взрослых, так и у реципиентов детского возраста. Разработка и применение эффективного протокола профилактики и лечения ЦМВ-инфекции у реципиентов почки детского возраста является приоритетной задачей. **Цель:** провести сравнительный анализ эффективности применяемых протоколов профилактики ЦМВ-инфекции у реципиентов почки детского возраста. **Материалы и методы.** В исследование включено 118 пациентов, перенесших первичную трансплантацию почки в НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова. На основе ретроспективного анализа все реципиенты были разделены на две группы в зависимости от применяемой у них стратегии профилактики после трансплантации почки. Срок наблюдения реципиентов почки детского возраста составил от 108 до 1803 ($623,5 \pm 379,5$) дней. Контроль активности ЦМВ-инфекции осуществлялся методом полимеразной цепной реакции. **Результаты.** Частота эпизодов активации цитомегаловирусной инфекции в периоды 3 и 6 месяцев не зависела от применяемой стратегии профилактики. Частота рецидивов цитомегаловирусной инфекции через год после операции достоверно ниже ($p = 0,037$) при использовании Стратегии 2. Не зафиксировано ни одного случая ЦМВ-синдрома или ЦМВ-заболевания, дисфункции трансплантата или хронического отторжения, связанного с цитомегаловирусной инфекцией. Повышение дозы противовирусных препаратов в рамках Стратегии 1 не увеличивает риск цитотоксичности и нефротоксичности, которые являются обратимыми (уровень креатинина достоверно не отличался в исследуемых группах в 3, 6, 12 месяцев – $p = 0,542$, $p = 0,287$, $p = 0,535$ соответственно). Частота отторжения трансплантированной почки не возрастает у пациентов при снижении дозы иммунодепрессантов в рамках Стратегии 2. **Заключение.** Результаты настоящего исследования подтверждают эффективность использования у реципиентов почки детского возраста обеих стратегий профилактики ЦМВ-инфекции. Однако выбор стратегии профилактики определяется индивидуальными характеристиками пациента и требует персонализированного подхода.

Ключевые слова: цитомегаловирусная инфекция (ЦМВ), трансплантация почки, универсальная профилактика, педиатрия, нефрология, иммуносупрессия.

EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF PROPHYLACTIC STRATEGIES FOR CYTOMEGALOVIRUS INFECTION IN PEDIATRIC KIDNEY RECIPIENTS

О.М. Tsirulnikova^{1, 2}, P.M. Gadzhieva¹, I.A. Miloserdov^{1, 2}, D.A. Saydulaev¹, I.E. Pashkova¹

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

² Sechenov University, Moscow, Russian Federation

Cytomegalovirus (CMV) infection is the most severe viral infection in renal transplant recipients, which can occur in the post-transplant period in both adult and pediatric recipients. Developing and applying an effective prevention

Для корреспонденции: Гаджиева Патимат Магомедовна. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (916) 358-16-80. E-mail: gadzhievamd@gmail.com

Corresponding author: Patimat Gadzhieva. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (916) 358-16-80. E-mail: gadzhievamd@gmail.com

and treatment strategy for pediatric renal graft recipients is a priority. **Objective:** to compare the effectiveness of the protocols used for the prevention of CMV infection in pediatric kidney transplant recipients. **Materials and methods.** The study enrolled 118 patients who underwent primary kidney transplantation at Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs. Based on retrospective analysis, all recipients were divided into two groups, depending on the prophylactic strategy after kidney transplantation. The follow-up period for pediatric kidney recipients ranged from 108 to 1803 (623.5 ± 379.5) days. CMV infection activity was monitored by polymerase chain reaction. **Results.** The frequency of CMV infection activation episodes at 3 and 6 months was independent of the prophylaxis strategy used. The recurrence rate of CMV infection one year after surgery was significantly lower ($p = 0.037$) with Strategy 2. No cases of CMV syndrome or CMV disease, graft dysfunction, or chronic rejection associated with CMV infection were reported. Increasing the dose of antiviral drugs in Strategy 1 did not increase the risk of cytotoxicity and nephrotoxicity, which are reversible (creatinine levels were not significantly different in the study groups at 3, 6, 12 months, $p = 0.542$, $p = 0.287$, $p = 0.535$, respectively). The incidence of kidney graft rejection did not increase in patients with lower doses of immunosuppressants in Strategy 2. **Conclusion.** Both prophylactic strategies are effective in pediatric kidney recipients. However, the choice of a strategy depends on the individual characteristics of the patient and requires a personalized approach.

Keywords: cytomegalovirus (CMV) infection, kidney transplantation, universal prophylaxis, pediatrics, nephrology, immunosuppression.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время протоколы профилактики и лечения ЦМВ-инфекции в различных центрах трансплантации варьируемы, однако в соответствии с международными рекомендациями приемлемы две стратегии: универсальная профилактика и превентивная терапия [1]. Универсальная профилактика предполагает назначение противовирусных препаратов всем пациентам или пациентам из группы риска сразу после трансплантации почки длительностью от 3 до 6 месяцев [2, 6]. Однако все чаще сообщается о резистентности ЦМВ-инфекции к такой проводимой терапии у реципиентов солидных органов [3].

Наличие ЦМВ-инфекции считают прогностическим фактором риска потери трансплантата, ухудшения долгосрочных результатов, а также причиной смертности реципиентов аллотрансплантата почки. Tomas Reischig et al. установили, что вирусемия ЦМВ (≥ 2000 копий/мл) у реципиентов почки является независимым фактором риска потери трансплантата ($OR = 7,62$; $p < 0,001$) [13].

Для проведения превентивной терапии пациентов регулярно направляют на исследование наличия ЦМВ-инфекции и терапию (внутривенно ганцикловир или валганцикловир перорально) начинают при очевидной активной репликации вируса [2]. У каждой из стратегий есть свои недостатки и преимущества. Недостатком превентивной терапии является условие высокой комплаентности реципиентов детского возраста и их родителей. Универсальная профилактика снижает количество эпизодов ЦМВ-событий, частоту рецидивов и тяжесть течения заболевания, однако она ассоциирована с нефро- и цитотоксичностью. Имеются клинические отчеты о возникновении ЦМВ-инфекции в отдаленные сроки после трансплантации у реципиентов, получавших профилактику валганцикловиром [1, 10, 12, 14]. В ис-

следовании Andre C. Kalil при оценке безопасности и эффективности универсальной профилактики валганцикловиром среди реципиентов солидных органов у каждого 25-го реципиента ($n = 1831$) имела место ЦМВ-инфекция с поздним началом ($OR = 8,95$, 95% ДИ от 1,07 до 74,83; $p = 0,04$) [4], также было выявлено наиболее часто встречающееся побочное явление валганцикловира – абсолютная нейтропения.

Ряд других исследований посвящен успешному применению ингибиторов пролиферативного сигнала в составе базовой трехкомпонентной иммуносупрессивной терапии с целью профилактики и лечения цитомегаловирусной инфекции [15]. Пациенты, получавшие эверолимус, демонстрируют значительное увеличение количества ЦМВ-специфичных эффекторных CD8+ и CD4+ Т-клеток по сравнению с пациентами, получающими циклоспорин и микофенолата мофетил [5]. Эффективность и безопасность комбинации такролимуса и эверолимуса была недавно подтверждена в исследовании TRANSFORM [5]. Эффективность данного протокола в отношении цитомегаловирусной инфекции также объясняется возможностью снижения концентрации такролимуса при применении эверолимуса, что позволяет обеспечить увеличение количества эффекторных ЦМВ-специфичных клеток. Принимая во внимание имеющиеся побочные эффекты валганцикловира, риски нежелательных иммунологических событий при снижении уровня иммуносупрессии, риски применения превентивной терапии у реципиентов детского возраста, в силу невозможности обеспечить высокий комплаенс у данной категории пациентов вопрос разработки оптимального протокола профилактики ЦМВ-инфекции у реципиентов детского возраста все еще остается открытым к обсуждению.

Цель настоящего исследования: провести сравнительный анализ эффективности применяемых про-

токолов профилактики ЦМВ-инфекции у реципиентов почки детского возраста.

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование включено 118 пациентов, которым с января 2018-го по июль 2021 г. в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России была выполнена трансплантация почки. Среди них было 63 мальчика (53,3%) и 55 девочек (46,7%) в возрасте от 1 года до 17 лет ($10,6 \pm 5$), с массой тела от 7 до 71 кг ($29,5 \pm 14,7$), получивших трансплантат от посмертного ($n = 37$) и от живого родственного ($n = 81$) донора. Срок наблюдения реципиентов почки детского возраста составил от 108 до 1803 дней ($623,5 \pm 379,5$). Минимальный период наблюдения – 3 месяца.

На основе анализа историй болезни и амбулаторных карт все реципиенты были разделены на две группы, в зависимости от применяемой у них стратегии профилактики после трансплантации почки (Стратегия 1 и Стратегия 2). В группу Стратегии 1 включен 71 реципиент детского возраста после первичной трансплантации почки в период с 2018-го по 2021 г. Среди оперированных детей было 30 девочек (42,3%) и 41 мальчик (57,7%) в возрасте от 1 года до 17 лет (10 ± 5), с массой тела от 8 до 57 кг ($28 \pm 14,7$), получивших трансплантат от посмертного ($n = 23$) и от живого родственного ($n = 48$) донора. Реципиенты получали универсальную профилактику ЦМВ-инфекции, которая представлена валганцикловиром с расчетом дозы по методу Asberg в течение 6 месяцев; при выявлении репликации вируса валганцикловир назначался в лечебной дозе.

В группу Стратегии 2 включено 47 реципиентов детского возраста после первичной трансплантации почки в период с 2018-го по 2021 г. Среди оперированных детей было 25 девочек (53,2%) и 22 мальчика (46,8%) в возрасте от 2 до 17 лет ($11,6 \pm 5$), с массой тела от 7 до 68 кг ($30,9 \pm 14,9$), получивших трансплантат от посмертного ($n = 14$) и от живого родственного ($n = 33$) донора. Реципиенты получали универсальную профилактику ЦМВ-инфекции, которая включала валганцикловир с расчетом дозы по методу Asberg в течение 6 месяцев, при выявлении репликации вируса проводилось снижение уровня иммуносупрессивной терапии (т. е. уменьшение числа компонентов в схеме лечения, снижение дозы иммуносупрессанта и др.).

Мониторинг ЦМВ осуществлялся исследованием ДНК вируса в крови методом количественной полимеразной цепной реакции. В первый месяц после трансплантации почки мониторинг осуществлялся каждую неделю, далее каждый месяц, через 6 месяцев после трансплантации мониторинг ЦМВ осуществлялся каждые 3 месяца.

В исследовании оценивали следующие показатели: клинико-демографические характеристики реципиентов, частота и характеристика ЦМВ-событий, частота острого отторжения аллотрансплантата, функция почек, выживаемость пациента и трансплантата, а также нефротоксичность и цитотоксичность проводимого протокола профилактики. Функция почек после трансплантации оценивалась по формуле Шварца.

Подтвержденное биопсией клеточное и антителопосредованное отторжение были классифицированы в соответствии с классификацией Banff-2017.

Статистический анализ проводился с использованием пакета прикладных программ для расчетов IBM STATISTICS 20 (IBM SPSS Inc., США) программы StatTech v. 2.2.0 (разработчик ООО «Статтех», Россия).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Среди наблюдаемых реципиентов почки Стратегия 1 применялась в 60% ($n = 71$) случаев, а Стратегия 2 – в 40% ($n = 47$). При сравнительном анализе демографических данных реципиентов почки в зависимости от выбранной стратегии установлено, что в группе Стратегии 1 возраст детей достоверно ниже, чем в группе Стратегии 2; $p = 0,010$ (табл. 1).

Не было выявлено достоверных различий по полу и массе тела у реципиентов почки детского возраста, что говорит об однородности исследуемых групп.

Сравнительный анализ показал отсутствие различий между группами по варианту трансплантата, совместимости по гаплотипу, локусу DR и количеству несовпадений ($p \geq 0,05$), хотя доля родственных трансплантаций, совместимых по гаплотипу и локусу DR, выше в группе Стратегии 2.

Таблица 1

Сравнительный анализ демографических данных реципиентов почки
Comparative analysis of the demographic data of kidney recipients

Показатель	Стратегия 1 ($n = 71$)	Стратегия 2 ($n = 47$)	p
Пол:			
мальчики, n (%)	41 (57,7)	22 (46,8)	0,256
девочки, n (%)	30 (42,3)	25 (53,2)	
Возраст, лет	от 1 до 17 (10 ± 5)	от 2 до 17 ($11,6 \pm 5$)	0,010*
Масса тела, кг	от 8 до 57 ($28 \pm 14,7$)	от 7 до 68 ($30,9 \pm 14,9$)	0,420

* – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$).

* – differences in indicators are statistically significant ($p < 0.05$).

При применении Стратегии 1 и Стратегии 2 профилактики ЦМВ-инфекции у реципиентов почки детского возраста клинических проявлений ЦМВ-инфекции как в виде ЦМВ-синдрома (0%), так и в виде ЦМВ-заболевания (0%) зарегистрировано не было.

Активация ЦМВ-инфекции в виде бессимптомной виремии у детей-реципиентов через 3 месяца после трансплантации почки при Стратегии 1 была выявлена у 37 реципиентов. При Стратегии 2 у 18 реципиентов через 3 месяца была выявлена бессимптомная ЦМВ-виремия (табл. 2).

В группе Стратегии 1 медиана концентрации ДНК ЦМВ составила 1700 [600; 11 000] копий/мл, в группе Стратегии 2 медиана концентрации ДНК ЦМВ составила 800 [600; 1875] копий/мл. Сравнительный

анализ показал, что при Стратегии 1 медиана концентрации ДНК ЦМВ выше, чем при Стратегии 2 ($p = 0,037$) (рис. 1).

У большей части реципиентов почки эпизод активной ЦМВ-инфекции пришелся на ранний послеоперационный срок, т. е. развился в течение 14 дней после трансплантации почки. Сравнительный анализ показал отсутствие статистически значимых различий в частоте встречаемости ЦМВ-инфекции через 3 месяца после трансплантации почки ($p = 0,141$).

К моменту завершения исследования срока наблюдения 6 месяцев достигли 103 реципиента, что составило 87,3% от общего количества пациентов, включенных в исследование. Через 6 месяцев после трансплантации при Стратегии 1 у 26 (41,9%) из 62 реципиентов возникла бессимптомная ЦМВ-виремия. При Стратегии 2 – у 12 (29,3%) из 41 реципиента через 6 месяцев также была зафиксирована ЦМВ-виремия. В группе Стратегии 1 медиана концентрации ДНК ЦМВ составила 0 [0; 615] копий/мл, в группе Стратегии 2 медиана концентрации ДНК ЦМВ составила 0 [0; 508] копий/мл ($p = 0,178$). Проведен сравнительный анализ частоты активации ЦМВ-инфекции у реципиентов детского возраста через шесть месяцев после трансплантации почки в исследуемых группах. Хотя сравнительный анализ показал отсутствие статистически значимых различий между группами ($p = 0,191$), частота репликации ЦМВ в группе Стратегии 1 почти вдвое превышала таковую в группе Стратегии 2 (табл. 2).

К моменту завершения исследования срока наблюдения 12 месяцев достигли 78 реципиентов почки, что составило 66,1% от общего количества пациентов, включенных в исследование. Через 12 месяцев после трансплантации при Стратегии 1 у 14 (27,5%) из 51 реципиента возникла ЦМВ-инфекция. При Стратегии 2 – у 2 (7,4%) из 27 реципиентов через 12 месяцев также была зафиксирована ЦМВ-инфекция. В группе Стратегии 1 медиана концентрации ЦМВ составила 0 [0; 600] копий/мл, в группе Стратегии 2 медиана концентрации ЦМВ составила 0 [0; 0] копий/мл ($p = 0,028$). Проведен сравнительный анализ частоты активации ЦМВ-инфекции у реципиентов детского возраста через 12 месяцев после трансплантации почки в исследуемых группах.

Сравнительный анализ показал, что активация ЦМВ-инфекции у реципиентов детского возраста через 12 месяцев после трансплантации возникает чаще при использовании Стратегии 1 ($p = 0,037$) (рис. 2).

Выполнен анализ количества рецидивов ЦМВ-инфекции в зависимости от выбранной стратегии профилактики ЦМВ-инфекции у детей после трансплантации почки за весь период наблюдения (табл. 3).

Не удалось установить статистически значимых различий ($p = 0,281$) по количеству эпизодов реак-

Таблица 2

Активация цитомегаловирусной инфекции (ЦМВ-инфекции) у реципиентов детского возраста через 3, 6 месяцев после трансплантации почки
Activation of cytomegalovirus infection (CMV infection) in pediatric recipients 3, 6 months after kidney transplantation

Срок выявления, мес.	ЦМВ-инфекция, n (%)	Категория		p
		Стратегия 1	Стратегия 2	
3	отсутствие репликации	34 (54,0)	29 (46,0)	0,141
	выявление репликации	37 (67,3)	18 (32,7)	
6	отсутствие репликации	36 (55,4)	29 (44,6)	0,191
	выявление репликации	26 (68,4)	12 (31,6)	

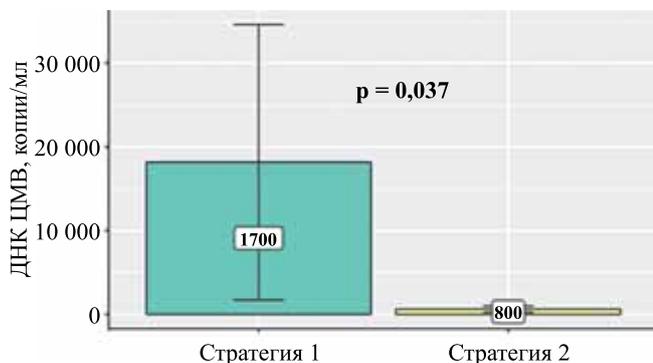


Рис. 1. Сравнительный анализ медианы концентраций ДНК цитомегаловируса (ЦМВ) у реципиентов почки детского возраста при применении Стратегии 1 и Стратегии 2 через 3 месяца после трансплантации

Fig. 1. Comparative analysis of the median DNA concentrations of cytomegalovirus (CMV) in pediatric kidney recipients using Strategy 1 and Strategy 2 3 months after transplantation

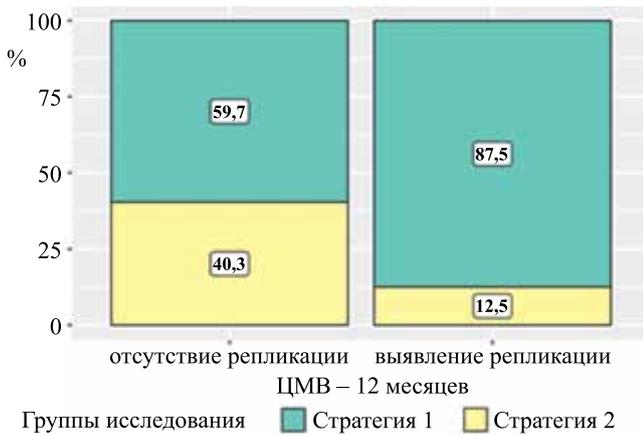


Рис. 2. Активация цитомегаловирусной инфекции (ЦМВ-инфекции) у реципиентов детского возраста через 12 месяцев после трансплантации почки

Fig. 2. Activation of cytomegalovirus infection (CMV infection) in pediatric recipients 12 months after kidney transplantation

Таблица 3

Анализ количества рецидивов цитомегаловирусной инфекции (ЦМВ-инфекции) в зависимости от выбранной стратегии

Analysis of the number of relapses of cytomegalovirus infection (CMV infection) depending on the chosen strategy

Категория	Количество рецидивов ЦМВ-инфекции, n						p
	0	1	2	3	4	6	
Стратегия 1	37	8	6	5	5	1	0,281
Стратегия 2	31	6	4	1	0	0	

тивации ЦМВ-инфекции между двумя стратегиями. Однако, как видно из табл. 3, у реципиентов, у которых применялась Стратегия 1, общее количество рецидивов было больше.

Оценка нежелательных побочных явлений

При анализе наличия цитопении (лейкопении, нейтропении, тромбоцитопении) через 3 и 6 месяцев между группами не удалось установить статистически значимых различий ($p = 0,396$, $p = 0,738$ соответственно). Через 12 месяцев после трансплантации цитопения не наблюдалась ни в одной из исследуемых групп. Уровень креатинина в сыворотке крови у реципиентов почки статистически не различался в различные сроки после трансплантации (3, 6, 12 месяцев) вне зависимости от стратегии профилактики ЦМВ-инфекции ($p = 0,542$, $p = 0,287$, $p = 0,535$ соответственно).

Оценка нежелательных иммунологических событий

У реципиентов отсутствовали случаи отторжения трансплантата, связанного с активацией ЦМВ-инфекции, при проведении профилактики.

На рис. 3 представлено сравнение выживаемости без нежелательных событий (летальность, отторжение, возврат на гемодиализ) у реципиентов почки в зависимости от стратегии профилактики цитомегаловирусной инфекции.

Сравнительный анализ одногодичной выживаемости без нежелательных событий (летальность, отторжение, возврат на гемодиализ) у реципиентов почки в зависимости от стратегии профилактики ЦМВ-инфекции не показал статистических различий ($p = 0,537$).

ОБСУЖДЕНИЕ

ЦМВ-инфекция остается одним из наиболее частых инфекционных осложнений вирусной этиологии у реципиентов солидных органов, влияющих на течение посттрансплантационного периода [9, 10, 14]. Доказано, что ЦМВ-инфекция у реципиентов почки детского возраста ассоциирована с косвенными эффектами. ЦМВ-инфекция может вызывать острое и/или хроническое повреждение, отторжение трансплантата, и как следствие, приводит к плохой его выживаемости, что относят к непрямым эффектам. Предотвращение ЦМВ-инфекции поможет улучшить долгосрочные результаты. Первой вехой в борьбе с ЦМВ-инфекцией стало появление противовирусных препаратов и использование профилактических стратегий. По настоящий день они являются крае-

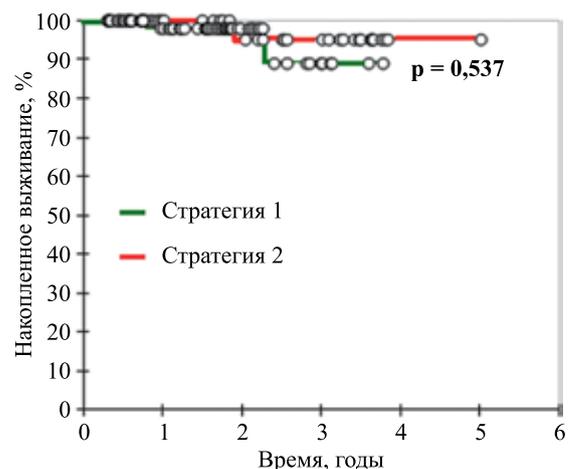


Рис. 3. Сравнение выживаемости без нежелательных событий (летальность, отторжение, возврат на гемодиализ) у реципиентов почки в зависимости от стратегии профилактики ЦМВ

Fig. 3. Comparison of survival without adverse events (mortality, rejection, return to hemodialysis) in kidney recipients, depending on the strategy for the prevention of CMV

угольными камнями профилактики ЦМВ-инфекции, однако их недостаточно для предотвращения репликации вируса [11].

За последние два десятилетия стало ясно, что как врожденный, так и специфический иммунитет имеют большое значение в контроле ЦМВ, что потребовало оптимизации протоколов иммуносупрессивной терапии. В настоящем исследовании проведен сравнительный ретроспективный анализ клинических результатов трансплантации почки у 118 реципиентов почки детского возраста с целью разработки индивидуальной стратегии профилактики ЦМВ. По результатам работы выявлено, что вирусная нагрузка отличалась в группах только через 12 месяцев после трансплантации, в другие сроки различий выявлено не было.

Сравнительный анализ показал, что активация ЦМВ-инфекции через год после трансплантации возникала чаще при использовании Стратегии 1, т. е., когда профилактика уже не проводилась. Риск рецидива был существенно ниже при Стратегии 2, что вполне логично на фоне редуцированной иммуносупрессии.

Однако при применении Стратегии 2 необходимо учитывать ограничительные критерии приемлемости снижения уровня иммуносупрессивной терапии, как в виде снижения концентрации ингибиторов кальциневрина, так и использования ингибиторов mTOR, допустимого у реципиентов с низким или умеренным иммунологическим риском, что ограничивает широкое использование этого подхода.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленный опыт профилактики ЦМВ-инфекции у реципиентов почки показал, что применяемые алгоритмы диагностики и профилактики ЦМВ-инфекции, а в случае необходимости алгоритмы лечения эпизодов активной ЦМВ-инфекции, демонстрируют хорошие клинические результаты не только в виде купирования рецидива ЦМВ-инфекции и профилактики ЦМВ-заболевания и ЦМВ-синдрома, но и в виде снижения вероятности развития косвенных эффектов ЦМВ, влияющих на функцию и выживание трансплантата, а также выживание реципиента.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Witzke O, Nitschke M, Bartels M et al. Valganciclovir Prophylaxis Versus Preemptive Therapy in Cytomegalovirus-Positive Renal Allograft Recipients Long-term Results After 7 Years of a Randomized Clinical Trial. *Transplantation*. 2018; 102 (5): 876–882.
2. Прокопенко ЕИ. Цитомегаловирусная инфекция после трансплантации почки: реальные достижения и перспективы изучения патогенеза, профилактики и лечения. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2019; 21 (3): 151–165. Prokopenko EI. Citomegalovirusnaya infekciya posle transplantacii pochki: real'nye dostizheniya i perspektivy izucheniya patogeneza, profilaktiki i lecheniya. *Vestnik transplantologii i iskusstvennyh organov*. 2019; 21 (3): 151–165.
3. Fisher CE, Knudsen JL, Lease ED et al. Risk factors and outcomes of ganciclovir resistant cytomegalovirus infection in solid organ transplant recipients. *Clin Infect Dis*. 2017; 65: 57–63.
4. Kalil AC, Freifeld AG, Lyden ER, Stoner JA. Valganciclovir for Cytomegalovirus Prevention in Solid Organ Transplant Patients: An Evidence-Based Reassessment of Safety and Efficacy. *Plos one*. 2009; 4 (5): e5512.
5. Pascual J, Berger SP, Witzke O et al. Everolimus with reduced calcineurin inhibitor exposure in renal transplantation. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2018; 29 (7): 1979–1991.
6. Razonable RR, Humar A. Cytomegalovirus in solid organ transplant recipients-Guidelines of the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clin Transplan*. 2019; 33 (9): e13512.
7. Maksimowicz-McKinnon K, Zhou J, Hudy J et al. Hudy Subclinical CMV viremia is associated with increased nosocomial infections and prolonged hospitalization in patients with systemic autoimmune diseases. *Journal of Clinical virology*. 2021; 140: 104849.
8. Chemaly RF, Chou S, Einsele H et al. Definitions of resistant and refractory cytomegalovirus infection and disease in transplant recipients for use in clinical trials. *Clin Infect Dis*. 2019; 68 (8): 1420–1426.
9. Burgan H, Gosteli G, Giovannini M et al. Very-late-onset cytomegalovirus disease: a case-report and review of the literature. *BMC Res Notes*. 2017; 10: 210.
10. Lopez-Oliva MO, Flores J, Madero R et al. Cytomegalovirus infection after kidney transplantation and long-term graft loss. *Nefrologia*. 2017; 37 (5): 515–525.
11. Khan SF, Yong MK, Slavin MA et al. Very late-onset cytomegalovirus disease with ganciclovir resistance >15 years following renal transplantation. *Transpl Infect Dis*. 2021; 23: e13441.
12. Reischig T, Kacer M, Hrubá P et al. The impact of viral load and time to onset of cytomegalovirus replication on long-term graft survival after kidney transplantation. *Antivir Ther*. 2017; 22 (6): 503–513.
13. Lollinga WT, Rurenga-Gard L, van Doesum W et al. High human cytomegalovirus DNAemia early post-transplantation associates with irreversible and progressive loss of renal function – a retrospective study. *Transpl Int*. 2017; 30: 817–826.
14. Mallat SG, Tanios BY, Itani HS et al. CMV and BKPyV infections in Renal Transplant recipients Receiving an mTOR Inhibitor-Based regimen: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized, Controlled Trials. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2017; 12 (8): 1321–1326.

*Статья поступила в редакцию 7.07.2021 г.
The article was submitted to the journal on 7.07.2021*

DOI: 10.15825/1995-1191-2021-4-19-25

РАК ЛЕГКОГО У РЕЦИПИЕНТОВ СОЛИДНЫХ ОРГАНОВ

А.В. Никулин, И.В. Пашков, Я.С. Якунин

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

Рак легкого остается ведущей причиной смерти в популяции среди всех злокачественных новообразований. Реципиенты солидных органов находятся в группе риска развития злокачественных новообразований, включая рак легкого, за счет длительного приема иммуносупрессивных препаратов. Развитие онкологических заболеваний, включая рак легкого, у этой категории больных отличается рядом особенностей. Кроме того, злокачественные новообразования у реципиентов солидных органов трудно поддаются лечению и имеют худший прогноз. Изучению вопросов, касающихся механизмов развития, методов скрининга и лечения рака легкого у реципиентов солидных органов, посвящен данный обзор.

Ключевые слова: реципиенты солидных органов, иммуносупрессивная терапия, злокачественные опухоли, рак легкого.

LUNG CANCER IN SOLID ORGAN TRANSPLANT RECIPIENTS

A.V. Nikulin, I.V. Pashkov, Ya.S. Yakunin

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

Lung cancer remains the leading cause of cancer mortality worldwide. Solid organ transplant recipients are at risk of developing malignant tumors, including lung cancer, due to long-term use of immunosuppressive drugs. Development of cancer, including lung cancer, in this patient cohort, has a number of peculiarities. Moreover, malignant tumors in these patients are difficult to treat and have a poorer prognosis. This review presents a study of the issues concerning the mechanisms of lung cancer development, screening methods and treatment in solid organ transplant recipients.

Keywords: solid organ transplant recipients, immunosuppressive therapy, malignant tumors, lung cancer.

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на достижения последних лет в области иммунологии, генетики, фармакологии и других наук, рак легкого остается ведущей причиной смерти среди всех злокачественных новообразований. В мире с ростом числа курильщиков растет и заболеваемость раком легкого [1].

По оценке международного агентства по изучению рака легкого, в 2020 году выявлено 2 206 771 новых случаев заболевания раком легкого, что составляет 11,4% от общего количества онкологических заболеваний. Смертность составила 1 796 144, что составляет 18% общей смертности от онкологических заболеваний в 2020 году. У мужчин по уровню смертности он занимает первое место (21,5% в структуре общей смертности), а у женщин – второе место после рака молочной железы (13,7%) [51].

Трансплантация солидных органов является единственным и до настоящего времени незаменимым методом лечения терминальных стадий заболеваний, когда другие средства лечения бессильны. В мире год от года растет количество трансплантаций солидных органов. 2020 год стал исключением из-за пандемии Covid-19. По данным международного общества донорства и трансплантации, в мире выполнено 113 363 трансплантации солидных органов. Реципиенты солидных органов находятся в группе риска развития злокачественных новообразований, включая рак легкого, за счет длительного приема иммуносупрессивных препаратов. Кроме того, злокачественные новообразования у реципиентов солидных органов трудно поддаются лечению и имеют худший прогноз [2–8, 52].

Для корреспонденции: Никулин Андрей Владимирович. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (495) 190-35-62. E-mail: nikulin5642@gmail.com

Corresponding author: Andrey Nikulin. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (495) 190-35-62. E-mail: nikulin5642@gmail.com

ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ

Общая заболеваемость злокачественными новообразованиями у реципиентов солидных органов зависит от страны проживания, особенностей питания, привычек, состояния окружающей среды и других факторов. Мировая статистика приводит разные данные о заболеваемости злокачественными новообразованиями у реципиентов солидных органов в зависимости от группы, возраста исследуемых и трансплантированного органа. Среднее значение заболеваемости составляет 2–6% [9, 10]. Наиболее часто встречаемыми злокачественными новообразованиями являются лимфопролиферативные заболевания и рак кожи. Риск развития рака легкого у реципиентов солидных органов составляет от 0,3 до 0,85%, что аналогично заболеваемости населения в целом [9, 10]. Отмечается увеличение заболеваемости раком легкого у реципиентов легких и сердца, в сравнении с реципиентами печени и почек (соотношение составило 5,5; 2,9; 2 и 1 соответственно). А у реципиентов комплекса «сердце–легкие» риск развития рака легкого в 9,3 раза выше по сравнению с общей популяцией. Авторы пришли к выводу, что это связано не только с иммуносупрессивной терапией, но также с возрастом и длительным стажем курения [9, 11]. По данным А.-М. Noone et al., среди 221 962 исследованных реципиентов солидных органов у 15 012 развились злокачественные новообразования (6,76%). Смертность от рака легкого составила 3,1%, от неходжкинской лимфомы – 1,9%, от колоректального рака – 0,7%, от рака почки – 0,5%.

Неходжкинская лимфома была самой частой причиной смерти у детей (4,1%), а рак легких – у реципиентов солидных органов в возрасте ≥ 50 лет (3,7–4,3%). Авторы пришли к выводу, что смертность от онкозаболеваний увеличивается с возрастом и временем после трансплантации. Таким образом, по мере увеличения продолжительности жизни реципиентов солидных органов смертность от рака различной локализации будет становиться все более актуальной проблемой [12]. В исследовании E. Yanik et al. среди 187 384 реципиентов солидных органов, из которых реципиенты почки составили 58%, печени – 22%, сердца – 10% и легких – 4%, было выявлено 9323 случая возникновения злокачественных новообразований (4,97%). Наиболее распространенным был рак легкого ($n = 1993$; 1,06%) [13]. D. Pérez-Callejo et al. проанализировали истории болезни 633 пациентов после трансплантации легких. Наиболее частыми причинами трансплантации были идиопатический фиброз легких (47,8%) и эмфизема легких (43,4%). Во время наблюдения было диагностировано 23 (3,63%) случая заболевания раком легкого. У 5 пациентов рак легкого был случайной находкой в трансплантированном легком реципиента. У 18 пациентов рак развился *de novo* у реципиентов

однолегочного трансплантата (в 12 случаях в нативном легком и в 6 случаях в донорском легком) [14].

ПАТОГЕНЕЗ И ФАКТОРЫ РИСКА

Существует несколько механизмов возникновения рака легкого у реципиентов солидных органов: *de novo* в нативном легком (в случае однолегочной трансплантации), в донорском легком или как прогрессирование ранее существовавшей в трансплантированном легком опухоли. Сообщения о выявлении рака легкого в трансплантированном легком реципиента не так редки, что наталкивает на мысль о более тщательном обследовании реципиентов солидных органов перед операцией. Например, Y. Jun Choi et al. из 247 реципиентов легких у 6 (2,4%) диагностировали рак легкого как случайную находку в трансплантированном легком [15]. Вероятность передачи опухоли с донорским легким крайне мала, однако такой механизм передачи существует, и необходимо в обязательном порядке проводить компьютерную томографию потенциальному донору солидных органов. Это в большей степени относится к трансплантации легких, однако в литературе описаны случаи передачи рака легкого, например, с трансплантированной печенью (в данном наблюдении в печени был выявлен метастаз рака легкого из невыявленного очага) [16].

Среди факторов риска развития рака легкого помимо курения, которое большинство авторов считает основным, также выделяют вирус Эпштейна–Барр и прогрессирование посттрансплантационных лимфолиферативных заболеваний [14]. Кроме того, на развитие рака легкого могут оказывать влияние неблагоприятные условия окружающей среды, такие как воздействие диоксида кремния и асбеста. Некоторые терминальные стадии заболеваний, по поводу которых осуществляется трансплантация легких, например хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) и фиброз легких, также предполагают повышенный риск развития рака легкого при однолегочной трансплантации в сравнении с двулегочной. Большинство авторов говорит о возрастании риска развития рака легкого почти вдвое после 60 лет [8, 14, 17–21].

ИММУНОСУПРЕССИВНАЯ ТЕРАПИЯ – СПЕЦИФИЧЕСКИЙ ФАКТОР РИСКА РАКА ЛЕГКОГО

Утрата иммунологического надзора в связи со снижением противоопухолевого иммунитета, в особенности у пациентов с легочным фиброзом, риски заболеваемости раком легкого у которых примерно в 7 раз выше в сравнении с популяцией, активирование проонкогенных вирусов, непосредственное канцерогенное действие иммуносупрессивных препаратов – специфические факторы риска развития рака легкого

у реципиентов солидных органов в сравнении с популяцией [4–6, 12, 22–27].

СКРИНИНГ

Возможность раннего выявления и своевременного лечения злокачественных новообразований у реципиентов солидных органов напрямую зависит от периодических скрининговых обследований [25, 28]. Хотя ранняя диагностика рака легкого может улучшить результаты лечения у этой категории больных, вызывает недоумение позиция некоторых авторов, высказывающих сомнения в целесообразности проведения скрининга у реципиентов солидных органов с опасными для жизни сопутствующими заболеваниями или с ожидаемой продолжительностью жизни менее 5–10 лет [29]. Современные англоязычные рекомендации по скринингу рака различных локализаций, включая рак легкого, для реципиентов солидных органов основаны на экстраполяции результатов скрининговых исследований в общей популяции, а также на понимании высокого риска развития рака легкого у этой категории больных [29]. У реципиентов легких с длительным стажем курения в анамнезе, несмотря на отказ от курения, тщательное наблюдение является обязательным условием ранней диагностики рака легкого [9].

Результаты скрининговой программы по выявлению рака легкого у населения в США показали, что использование низкодозовой мультиспиральной компьютерной томографии в сравнении с рентгенографией снижает смертность от рака легких на 20% [20, 21]. Использование системы оценки данных «Lung-RADS» (от англ. Lung Imaging Reporting and Data System) для интерпретации выявленных при скрининге изменений позволяет стандартизировать описание компьютерной томографии (КТ), а также выработать четкие рекомендации по определению тактики лечения (табл.) [30, 31]. Таким образом, использование такой системы оценки данных для диагностики рака легкого у реципиентов солидных органов представляется перспективным.

ПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ

Основополагающим методом профилактики развития рака легкого является «онкологическая настроженность» на всех этапах оказания медицинской помощи и динамического наблюдения. К методам профилактики помимо полного отказа от курения также относится и «разумная» минимизация иммуносупрессии [13, 25].

Лечение рака легкого у реципиентов солидных органов не отличается от такового в популяции. Стратегия лечения зависит от стадии, гистологического строения опухоли и наличия сопутствующих заболеваний у реципиента [25, 32]. Особенности этой категории больных является то, что химиотерапия в

рамках комплексного лечения часто не может быть проведена в полном объеме из-за сопутствующих заболеваний и опасности отторжения трансплантата, вызываемой снижением дозировок иммуносупрессивных препаратов [3]. В англоязычной литературе по настоящее время нет рекомендаций по изменению схемы иммуносупрессивной терапии у реципиентов солидных органов после диагностированного рака легкого, хотя при проведении химиотерапии обычно происходит снижение интенсивности иммуносупрессивной терапии [33, 34]. Иммунотерапия в настоящее время выходит на первое место в ряде случаев при различных типах опухолей (высокая экспрессия PD-L1 и мутационной нагрузки опухоли), однако вмешательство в иммунную систему может иметь катастрофические последствия у пациентов, находящихся на иммуносупрессивной терапии, т. к. остается неизученным вопрос одновременного приема иммуноонкологических и иммуносупрессивных препаратов [35]. Хирургическая операция является «золотым стандартом» при I и II стадиях немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ). Вместе с тем стереотаксическая абляционная лучевая терапия (СЛТ) (от англ. SABR – Stereotactic ablative radiotherapy) является методом выбора у неоперабельных из-за соматического статуса пациентов с НМРЛ I стадии [36–38]. Однако безопасность СЛТ не была оценена у реципиентов солидных органов, что является серьезным недостатком данного метода. По мнению G. Drevet et al., хирургический метод лечения более предпочтителен в лечении рака легких II и IIIA стадий в случае резектабельной опухоли и операбельности пациентов. Традиционная лучевая терапия и химиотерапия рекомендуются для лечения неоперабельного рака легких II стадии и местнораспространенного рака легких III стадии. У реципиентов солидных органов следует соблюдать особую осторожность при назначении лучевой или химиотерапии в связи с иммуносупрессивной терапией, сопутствующими заболеваниями, частым наличием почечной недостаточности [39].

Видеоторакоскопические (ВАТС) анатомические резекции все чаще применяются в мире для лечения различных заболеваний, включая первичный рак легких [40]. По мере накопления хирургами практического опыта и совершенствования хирургической техники расширяется спектр применения ВАТС-операций в различных сферах хирургии органов грудной полости [40]. Подавляющее большинство торакальных операций, ранее традиционно выполняемых из торакотомии, могут быть выполнены при помощи эндоскопического оборудования из небольших разрезов [41]. В специализированных торакальных отделениях количество ВАТС-лобэктомий зачастую превосходит количество выполняемых открытых лобэктомий [41]. Постепенный отказ от использова-

Таблица

**«Lung-RADS» – система оценки изменений в легких, выявленных на МСКТ.
Лечебная тактика и риски малигнизации [31]**

**Lung-RADS, a system for assessing changes in the lungs detected by MSCT.
Treatment tactics and risks of malignancy [31]**

Категория	Индекс	Находка	Тактика	Риск малигнизации	Распространенность в популяции
Неполное исследование	0	Нет данных для сравнения	Дополнительное МСКТ	–	1%
Нет узелков / узелки достоверно доброкачественные	1	Нет узелков ИЛИ узелок(и) со специфическими кальцинатами: полные, центральные, в виде попкорна, концентрические кольца и жиросодержащие узелки			
Доброкачественные (узелки с очень низкой вероятностью озлокачествления из-за размера или отсутствия роста)	2	Перифиссуральный узелок(и) <10 мм Солидный узелок: <6 мм новый <4 мм Частично солидный узелок(и): <6 мм «Матовое стекло» (GGN): <30 мм ИЛИ ≥30 мм без динамики или с медленным ростом Категория 3 или 4 – узелки без изменений в течение ≥3 месяцев	МСКТ через 12 месяцев	<1%	90%
	3	Солидный узелок: от ≥6 до <8 мм ИЛИ новые от 4 мм до <6 мм Частично солидный узелок(и): ≥6 мм с солидным компонентом <6 мм ИЛИ новый <6 мм «Матовое стекло» (GGN): ≥30 мм	МСКТ через 6 месяцев	1–2%	5%
Подозрительные изменения	4А	Солидный узелок: от ≥8 до <15 мм в исходном состоянии ИЛИ при росте <8 мм ИЛИ при росте от 6 до <8 мм Частично солидный узелок: ≥6 мм с солидным компонентом от ≥6 мм до <8 мм ИЛИ с новым или растущим солидным компонентом <4 мм Эндобронхиальный узелок	МСКТ через 3 месяца / ПЭТ при наличии солидного компонента ≥8 мм	5–15%	2%
Очень подозрительные изменения	4В	Солидный узелок: ≥15 мм ИЛИ новые или растущие солидные узелки, и ≥8 мм Частично солидный узелок: с солидным компонентом ≥8 мм ИЛИ новый или растущий с солидным компонентом ≥4 мм	МСКТ / ПЭТ и/или морфологическая верификация Для новых крупных узелков	>15%	2%
	4Х	Узелки категории 3 или 4 с дополнительными признаками, повышающими онконастороженность (появление спикул, удвоение в размерах матового стекла за год, увеличенные лимфатические узлы и т. д.)	КТ, через 1 мес. для исключения воспалительных изменений		
Другие клинически значимые результаты (не рак легких)	S	Может быть добавлен к любой категории	–	–	10%

ния торакотомии в пользу VATS привел к улучшению качества жизни пациентов при сохранении той же безопасности выполнения хирургических манипуляций [42]. И если на момент появления этой технологии еще были сомнения относительно радикальности выполняемых операций и долгосрочной выживаемости пациентов с раком легкого, то в настоящее время общепризнано, что торакоскопический доступ при лобэктомиях по поводу немелкоклеточного рака легкого не приводит к ухудшению отдаленных результатов выживаемости больных в сравнении с традиционной торакотомией [40]. Вместе с тем VATS-операции обладают рядом преимуществ, а именно меньшим количеством осложнений в раннем и позднем послеоперационном периоде и меньшими сроками пребывания больного в стационаре [40, 43]. Т. Demmy et al. подчеркивает, что у пожилых и ослабленных пациентов непосредственные и отдаленные результаты при применении VATS-операций лучше в сравнении с торакотомией [41]. По данным Р. Falcoz et al., смертность в раннем послеоперационном периоде в группе VATS-лобэктомий у пациентов с немелкоклеточным раком легкого в сравнении с открытыми лобэктомиями была в два раза ниже [40]. Преимущества VATS-операций особенно отчетливо проявляются у пожилых пациентов (старше 70 лет), и дефицитом массы тела, и прогнозируемыми низкими функциональными показателями в послеоперационном периоде (ОФВ1 < 40%) [40]. Сообщения об использовании VATS-операций у реципиентов солидных органов редки. М. Al-Ameri et al., сравнивая непосредственные и отдаленные результаты однопортового и многопортового доступов VATS у пациентов с различной патологией легких и средостения, приходят к выводу, что нет достоверных различий в количестве послеоперационных осложнений (6% в обеих группах), а также уровне смертности и общей выживаемости в течение года (0 и 97% при однопортовом доступе и 0,5 и 98% при многопортовом, $p = 0,71$). Кроме того, автор сообщает о более быстрой реабилитации и меньшем времени пребывания в стационаре при однопортовом доступе (76,2% против 62,1%, $p = 0,008$) [44]. Вместе с тем однопортовый доступ все еще не получил широкого распространения согласно анкетированию членов Европейского общества торакальных хирургов (англ. European Society of Thoracic Surgeons – ESTS) [45]. J. Seitlinger et al. отмечают, что процент конверсии, т. е. перехода из мини-доступа в обычную торакотомию, снижается по мере совершенствования хирургической техники и составляет менее 10% [46]. Вместе с тем пациенты, подвергшиеся конверсии, имеют более высокий риск развития осложнений в раннем и отдаленном послеоперационном периоде (40,9% против 16,8%) и смертности (6,8% против 0,2%) [46]. В то же время нельзя полностью отказаться от открытых операций,

т. к. при всех своих преимуществах VATS-операции неприменимы в ситуации, когда невозможно создать адекватное рабочее пространство для безопасных манипуляций внутри грудной полости во время операции (например, непереносимость однологочной вентиляции) [41]. Интересно исследование Н. Maeda et al., которые проанализировали 12 случаев VATS-операций у реципиентов почки [47]. Авторы сравнивали как лабораторные показатели, в частности уровень креатинина в сыворотке крови, так и оценивали скорость клубочковой фильтрации до и после операции и послеоперационные осложнения. Всего применялись: VATS-клиновидная резекция легких ($n = 4$), VATS-сегментэктомия ($n = 4$), VATS-лобэктомия ($n = 2$), VATS-удаление опухоли средостения ($n = 1$) и VATS-резекция опухоли грудной стенки ($n = 1$). Все пациенты получали два-три иммуносупрессивных препарата, периоперационный гемодиализ не проводился. Бронхолегочных осложнений в раннем послеоперационном периоде не было. Различий между дооперационным и послеоперационным уровнем креатинина сыворотки крови и расчетной скоростью клубочковой фильтрации не наблюдалось. Авторы делают вывод о безопасности таких операций у реципиентов, находящихся на иммуносупрессивной терапии [47].

ПРОГНОЗ

Течение злокачественных новообразований различных локализаций, в том числе и рака легкого, у реципиентов солидных органов более агрессивное, а прогноз и ожидаемая продолжительность жизни определяются стадией заболевания, наличием N2 статуса, драйверных мутаций, степенью патоморфоза, применяемой схемой лечения и так далее [20, 25, 48]. По данным G. Drevet et al., 5-летняя выживаемость резектабельным раком легкого после хирургического лечения составила 40,6%, что сопоставимо с выживаемостью в популяции (40,7 до 50%) [9]. L. Noga Chen et al. сообщают, что средняя выживаемость реципиентов легких после постановки диагноза «рак легкого» составила 32 месяца (IQR, 10–52 месяца), что значительно меньше в сравнении с общей популяцией [48]. S. Zhang et al. сообщают о 17,9% общей 5-летней выживаемости у реципиентов почки после постановки диагноза «рак легкого» [49]. К. Sigel et al., исследовав 597 случаев выявления рака легкого у реципиентов солидных органов, сделали вывод, что выживаемость реципиентов солидных органов, не включая реципиентов легкого, хуже в сравнении с пациентами с раком легкого в популяции [50]. Необходимо с осторожностью относиться к данным литературы, т. к. нужно учитывать все вышеперечисленные прогностические факторы, в первую очередь поражение регионарных лимфоузлов. На выживаемость также напрямую влияет адекватность прово-

димой лимфодиссекции во время операции. Также необходимо сказать, что в ряде случаев затруднительно сравнивать результаты различных авторов, т. к. в разные годы применялась разная классификация TNM для оценки распространенности опухолевого процесса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на противоречивые данные различных авторов, данные литературы свидетельствуют о повышенном риске развития рака легкого у реципиентов солидных органов, в особенности реципиентов легких и комплекса «сердце–легкие». Учитывая возрастающую роль злокачественных новообразований, включая рак легкого, в общей смертности реципиентов солидных органов, а также увеличение продолжительности жизни реципиентов солидных органов, разработка методов скрининга и профилактики рака легкого у реципиентов солидных органов является своевременной и актуальной задачей. По нашему мнению, нужно критически относиться к рекомендациям некоторых авторов о нецелесообразности проведения скрининга у реципиентов солидных органов с опасными для жизни сопутствующими заболеваниями и продолжительностью жизни менее 10 лет. Создание научно обоснованной скрининговой программы, направленной на раннее выявление рака легкого у реципиентов солидных органов (например системы оценки данных «Lung-RADS», отлично зарекомендовавшей себя в Соединенных Штатах), позволит начать лечение на ранних стадиях. Вопросы выбора оптимальной тактики лечения рака легкого у реципиентов солидных органов требуют дальнейшего изучения. По мере накопления данных можно будет сделать вывод о безопасности химиотерапии и иммунотерапии у этой категории больных. Хирургический метод лечения рака легкого у реципиентов солидных органов принципиально не отличается от такового в популяции, а VATC-операции не уступают по эффективности открытым операциям, обладая вместе с этим рядом преимуществ. Внедрение малоинвазивных методов хирургического лечения рака легкого у этой категории больных позволит сократить сроки пребывания больного в стационаре, а также значительно ускорить реабилитацию за счет меньшего болевого синдрома и меньшей операционной травмы.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Bade BC, Dela Cruz CS.* Lung Cancer 2020: Epidemiology, Etiology and Prevention. *Clin Chest Med Elsevier Inc.* 2020; 41 (1): 1–24. doi: 10.1016/j.ccm.2019.10.001.
2. *Wareham NE et al.* Risk of *de novo* or secondary cancer after solid organ or allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *J Cancer Res Clin Oncol Springer Berlin Heidelberg.* 2019; 145 (12): 3125–3135. doi: 10.1007/s00432-019-03039-2.
3. *Shtraichman O, Ahya VN.* Malignancy after lung transplantation. *Ann Transl Med.* 2020; 8 (6): 416–416. doi: 10.21037/atm.2020.02.126.
4. *Rousseau-Gazaniol C et al.* Lung cancer in renal transplant recipients: A case-control study. *Lung Cancer Elsevier Ireland Ltd.* 2017; 111: 96–100. doi: 10.1016/j.lungcan.2017.07.011.
5. *Acuna SA.* Etiology of increased cancer incidence after solid organ transplantation. *Transplant Rev Elsevier Inc.* 2018; 32 (4): 218–224. doi: 10.1016/j.trre.2018.07.001.
6. *Katabathina VS et al.* Malignancy after solid organ transplantation: Comprehensive imaging review. *Radiographics.* 2016; 36 (5): 1390–1407. doi: 10.1148/rg.2016150175.
7. *Yanik EL et al.* Cancer risk after pediatric solid organ transplantation. *Pediatrics.* 2017; 139 (5). doi: 10.1542/peds.2016-3893.
8. *Potaris K et al.* Lung cancer after heart transplantation: A 17-year experience. *Ann Thorac Surg.* 2005; 79 (3): 980–983. doi: 10.1016/j.athoracsur.2004.05.021.
9. *Drevet G et al.* Lung cancer surgical treatment after solid organ transplantation: A single center 30-year experience. *Lung Cancer Elsevier.* 2020; 139: 55–59. doi: 10.1016/j.lungcan.2019.10.023.
10. *Robbins HY, Arcasoy SM.* Malignancies Following Lung Transplantation. *Clin Chest Med.* 2011; 32 (2): 343–355. doi: 10.1016/j.ccm.2011.02.011.
11. *Olland ABM et al.* Primary lung cancer in lung transplant recipients. *Ann Thorac Surg Elsevier Inc.* 2014; 98 (1): 362–371. doi: 10.1016/j.athoracsur.2014.04.014.
12. *Noone AM et al.* Cancer-attributable mortality among solid organ transplant recipients in the United States: 1987 through 2014. *Cancer.* 2019; 125 (15): 2647–2655. doi: 10.1002/cncr.32136.
13. *Yanik EL et al.* Comparison of cancer diagnoses between the US solid organ transplant registry and linked central cancer registries. *Am J Transplant.* 2016; 16 (10): 2986–2993. doi: 10.1111/ajt.13818.
14. *Pérez-Callejo D et al.* Lung cancer in lung transplantation: Incidence and outcome. *Postgrad Med J.* 2018; 94 (1107): 15–19. doi: 10.1136/postgradmedj-2017-134868.
15. *Choi YJ et al.* Incidental lung cancer of explanted lungs from lung transplant recipients: Incidence, characteristics, and 5-year survival. *Yonsei Med J.* 2020; 61 (11): 958–964. doi: 10.3349/ymj.2020.61.11.958.
16. *Sonbol MB et al.* A Case of Donor-Transmitted Non-Small Cell Lung Cancer After Liver Transplantation: An Unwelcome Guest. *Oncologist.* 2019; 24 (6): 2018–2020. doi: 10.1634/theoncologist.2018-0517.
17. *Chatron E et al.* Lung cancer after lung transplantation: An analysis of 25 years of experience in a single institution. *Clin Transplant.* 2019; 33 (1): 0–2. doi: 10.1111/ctr.13446.
18. *Ekström M, Riise GC, Tanash HA.* Risk of cancer after lung transplantation for COPD. *Int J COPD.* 2017; 12: 2841–2847. doi: 10.2147/COPD.S147065.

19. Verleden GM, Fisher AJ. Lung transplantation and lung cancer: Is there a link? *Respiration*. 2011; 81 (6): 441–445. doi: 10.1159/000326934.
20. Triplette M et al. HHS Public Access. 2020; 19 (5): 1478–1490. doi: 10.1111/ajt.15181.
21. Gershman E et al. Characteristics of lung cancer in idiopathic pulmonary fibrosis with single lung transplant versus non-transplanted patients: A retrospective observational study. *BMJ Open Respir Res*. 2020; 7 (1): 1–6. doi: 10.1136/bmjresp-2020-000566.
22. Vajdic CM, Van Leeuwen MT. Cancer incidence and risk factors after solid organ transplantation. *Int J Cancer*. 2009; 125 (8): 1747–1754. doi: 10.1002/ijc.24439.
23. Asch WS, Perazella MA. Cancer and Mortality in Solid-Organ Transplantation: Preventable or Inevitable? *Am J Kidney Dis*. 2016; 68 (6): 839–842. doi: 10.1053/j.ajkd.2016.06.009.
24. Huo Z et al. Cancer Risks in Solid Organ Transplant Recipients: Results from a Comprehensive Analysis of 72 Cohort Studies. *Oncoimmunology*. Taylor & Francis. 2020; 9 (1). doi: 10.1080/2162402X.2020.1848068.
25. Brennan DC et al. Development of malignancy following solid organ transplantation. *UpToDate*. 2016; 10: 1–20.
26. Endén K et al. Cancer morbidity and mortality after pediatric solid organ transplantation – a nationwide register study. *Pediatric Nephrology*. 2020; 35 (9): 1719–1728. doi: 10.1007/s00467-020-04546-y.
27. Fogel AL, Miyar M, Teng JMC. Cutaneous Malignancies in Pediatric Solid Organ Transplant Recipients. *Pediatr Dermatol*. 2016; 33 (6): 585–593. doi: 10.1111/pde.12941.
28. Belli EV et al. Lung cancer following lung transplant: Single institution 10 year experience. *Lung Cancer*. Elsevier Ireland Ltd. 2013; 81 (3): 451–454. doi: 10.1016/j.lungcan.2013.05.018.
29. Acuna SA et al. Cancer Screening Recommendations for Solid Organ Transplant Recipients: A Systematic Review of Clinical Practice Guidelines. *Am J Transplant*. 2017; 17 (1): 103–114. doi: 10.1111/ajt.13978.
30. Godoy MCB et al. Understanding Lung-RADS 1.0: A Case-Based Review. *Semin Ultrasound, CTMRI Elsevier*. 2018; 39 (3): 260–272. doi: 10.1053/j.sult.2018.03.001.
31. American College of Radiology. Lung-RADS® Version 1.1 Assessment Categories. 2019; 3.
32. Robinson C, Chanchlani R, Kitchlu A. Malignancies after pediatric solid organ transplantation. *Pediatric Nephrology*. 2020. doi: 10.1007/s00467-020-04790-2.
33. Wang X, Dong M. Malignancy After Lung Transplantation: How to Manage Immunosuppression? *Transplant Proc Elsevier Inc*. 2020; 52 (1): 315–320. doi: 10.1016/j.transproceed.2019.09.012.
34. Engels EA. Cancer in Solid Organ Transplant Recipients: There Is Still Much to Learn and Do. *Am J Transplant*. 2017; 17 (8): 1967–1969. doi: 10.1111/ajt.14140.
35. Wong K et al. Safety and Efficacy of Immune Checkpoint Inhibitors in Patients With Metastatic Cancer Post Solid Organ Transplantation: A Case Report and Review of the Literature. *Transplant Proc Elsevier Inc*. 2019; 51 (9): 3053–3058. doi: 10.1016/j.transproceed.2019.08.002.
36. Acuna SA et al. Cancer recurrence after solid organ transplantation: A systematic review and meta-analysis. *Transplant Rev Elsevier Inc*. 2017; 31 (4): 240–248. doi: 10.1016/j.tre.2017.08.
37. Buxeda A et al. Gender differences in cancer risk after kidney transplantation. *Oncotarget*. 2019; 10 (33): 3114–3128. doi: 10.18632/oncotarget.26859.
38. Chen H et al. Stereotactic ablative radiotherapy for early-stage lung cancer following double lung transplantation. *Radiat Oncol Radiation Oncology*. 2018; 13 (1): 10–14. doi: 10.1186/s13014-018-1089-8.
39. Drevet G et al. Lung cancer surgical treatment after solid organ transplantation: a single center 30-year experience. *Lung Cancer*. 2020; 145: 222–224. doi: 10.1016/j.lungcan.2019.10.023.
40. Falcoz PE et al. Video-assisted thoracoscopic surgery versus open lobectomy for primary non-small-cell lung cancer: A propensity-matched analysis of outcome from the European Society of Thoracic Surgeon database. *Eur J Cardio-thoracic Surg*. 2016; 49 (2): 602–609. doi: 10.1093/ejcts/ezv154.
41. Demmy T, Dexter E. Overview of minimally invasive thoracic surgery. *UpToDate*. 2019; 1–84.
42. Cheng X et al. Minimally Invasive Thoracic Surgery 3.0. *Ann Surg*. 2018; 267 (1): 37–38. doi: 10.1097/SLA.00000000000002.
43. Xia ZN et al. Laparoscopic-Assisted Resection for Advanced Colorectal Cancer in Solid Organ Transplant Recipients. *J Invest Surg*. Taylor & Francis. 2018; 31 (6): 483–490. doi: 10.1080/08941939.2017.1359707.
44. Al-Ameri M et al. Uniportal versus multiportal video-assisted thoracic surgery for lung cancer. *J Thorac Dis*. 2019; 11 (12): 5152–5161. doi: 10.21037/jtd.2019.12.01.
45. Cao C et al. European questionnaire on the clinical use of video-assisted thoracoscopic surgery. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2018; 27 (3): 379–383. doi: 10.1093/icvts/ivy062.
46. Seitlinger J et al. Conversion from video-assisted thoracic surgery (VATS) to thoracotomy during major lung resection: how does it affect perioperative outcomes? *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2021; 32 (1): 55–63. doi: 10.1093/icvts/ivaa220.
47. Maeda H et al. Video-assisted thoracoscopic surgery after renal transplantation: A single-institution experience. *Asian J Endosc Surg*. 2016; 9 (1): 37–43. doi: 10.1111/ases.12248.
48. Chen LN et al. Characteristics and outcomes of lung cancer in solid organ transplant recipients. *Lung Cancer Elsevier*. 2020; 146: 297–302. doi: 10.1016/j.lungcan.2020.06.018.
49. Zhang SX, Liu Y. Primary lung cancer in Chinese renal transplant recipients: a single-center analysis. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2017; 37 (6): 715–720. doi: 10.3969/j.issn.1673-4254.2017.06.01.
50. Sigel K et al. Lung cancer prognosis in elderly solid organ transplant recipients. *Transplantation*. 2015; 99 (10): 2181–2189. doi: 10.1097/TP.0000000000000715.
51. <https://gco.iarc.fr> [Internet]. International Agency for Research on Cancer. Available from: <https://gco.iarc.fr>.
52. <http://www.transplant-observatory.org> [Internet]. Global Observatory on Donation and Transplantation. Available from: <http://www.transplant-observatory.org>.

Статья поступила в редакцию 19.08.2021 г.
The article was submitted to the journal on 19.08.2021

DOI: 10.15825/1995-1191-2021-4-26-31

THE INCIDENCE AND RISK FACTORS OF CHRONIC REJECTION IN ACUTELY REJECTED PEDIATRIC LIVER TRANSPLANTATION

S.M. Dehghani¹, I. Shahramian², M. Ayatollahi¹, F. Parooie², M. Salarzaei², M. Bahmanyar³, A. Sargazi², M. Delaramnasab²

¹ Shiraz Organ Transplantation Center, Nemazee Hospital, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

² Pediatric Gastroenterology and Hepatology Research Center, Zabol University of Medical Science, Zabol, Iran

³ Fasa University of Medical Science, Fasa, Iran

Background. Chronic graft rejection (CR) represents an increasing concern in pediatric liver transplantation (LT). Risk factors of CR in this population are uncertain. In present study, we aimed to ascertain if clinical parameters could predict the occurrence of CR in LT children. **Methods.** We retrospectively analyzed the results from 47 children who had experienced acute hepatic rejection in Namazee hospital, Shiraz, Iran during 2007–2017. **Results.** Out of 47 children, 22 (46.8%) and 25 (53.2%) were boys and girls respectively. Ascites, gastrointestinal bleeding, and spontaneous bacterial peritonitis were observed in 20 (44.4%), 14 (31.1%), and 4 (9.1%) respectively. Post-transplant vascular and biliary complications were observed in 3 (7%) and 4 (9.3%) cases respectively. The mean time from LT to normalization of liver enzymes was 14.2 ± 7.5 days. The mean of acute rejection episodes was 1.4 ± 0.6 (median = 1 (22, 46.8%), range of 1–3). Six (12.7%) patients experienced CR. The mean time from LT to CR was 75 ± 28.4 days. A significant association was found between CR and patients' condition (being inpatient or outpatient) before surgery ($P = 0.03$). No significant relationship was found between CR and post-transplant parameters except for biliary complications ($P = 0.01$). Both biliary complication (RR = 33.7, 95% CI: 2.2–511, $P = 0.01$) and inpatient status (RR = 10.9, 95% CI: 1.1–102.5, $P = 0.03$) significantly increased the risk of CR. **Conclusion.** Being hospitalized at the time of LT, and development of biliary complications might predict risk factors for development of CR in LT children.

Keyword: Liver transplantation, Graft rejection, Host vs Graft Reaction.

ЧАСТОТА ВОЗНИКНОВЕНИЯ И ФАКТОРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ОТОРЖЕНИЯ ПРИ ОСТРОМ ОТОРЖЕНИИ ТРАНСПЛАНТИРОВАННОЙ ПЕЧЕНИ У ДЕТЕЙ

С.М. Дехгани¹, И. Шахрамян², М. Аятоллахи¹, Ф. Пароо², М. Саларзаи², М. Бахманьяр³, А. Саргази², М. Деларамнасаб²

¹ Центр трансплантации органов Шираз, Больница Немази, Ширазский университет медицинских наук, Шираз, Иран

² Исследовательский центр детской гастроэнтерологии и гепатологии, Заболский университет медицинских наук, Забол, Иран

³ Университет медицинских наук Фаса, Фаса, Иран

Актуальность. Хроническое отторжение (ХО) трансплантата становится все более серьезной проблемой при трансплантации печени (ТП) у детей. Факторы риска ХО в этой популяции остаются неопределенными. В настоящем исследовании мы стремились выяснить, можно ли спрогнозировать возникновение ХО у детей с ТП по клиническим параметрам. **Методы.** Мы провели ретроспективный анализ 47 случаев острого отторжения трансплантата печени у детей, прооперированных в больнице Намази (г. Шираз, Иран) в период с 2007-го по 2017 год. **Результаты.** В исследование включили 47 детей: 22 (46,8%) мальчика и 25 (53,2%) девочек. Асцит, желудочно-кишечное кровотечение и спонтанный бактериальный перитонит

Corresponding author: Iraj Shahramian, Full Professor of Pediatric Gastroenterology and Hepatology, Zabol University of Medical Science, Zabol, Iran.

Tel/fax: +985432239031. E-mail: ir_buper@yahoo.com

наблюдались в 20 (44,4%), 14 (31,1%) и 4 (9,1%) случаях соответственно. Посттрансплантационные сосудистые и билиарные осложнения отмечались в 3 (7%) и 4 (9,3%) случаях соответственно. Показатели печеночных ферментов нормализовались в среднем через $14,2 \pm 7,5$ дня после ТП. Среднее количество эпизодов острого отторжения составило $1,4 \pm 0,6$ (медиана = 1 (22; 46,8%), диапазон 1–3). У 6 (12,7%) пациентов наблюдалось ХО. Среднее время от ТП до ХО составило $75 \pm 28,4$ дня. Мы выявили статистически значимую корреляцию между ХО и предоперационным периодом (нахождение в стационаре или амбулаторная подготовка, $p = 0,03$). ХО статистически значимо коррелировало с наличием билиарных осложнений ($p = 0,01$), другие послеоперационные факторы статистически значимо на него не влияли. Билиарные осложнения (ОР = 33,7, 95% ДИ 2,2–511, $p = 0,01$) и предоперационный статус пациента (ОР = 10,9, 95% ДИ 1,1–102,5, $p = 0,03$) значительно повышали риск ХО. **Заключение.** Госпитализация при подготовке к трансплантации и раннее выявление билиарных осложнений могут предотвратить развитие ХО трансплантата у детей после ТП.

Ключевые слова: трансплантация печени, отторжение трансплантата, реакция ТПХ.

INTRODUCTION

In the courtesy of substantial improvements in pre- and post-transplant care, patients who are organ transplanted now encounter lower rate of early complications after surgery. However, patients are still at risk of long-term complications and in particular, chronic graft rejection (CR). Accordingly, CR is the most debating and concerning survival-limiting complication in liver transplanted patients and is encountered in 2–20% of the patients [1, 2]. CR is generally defined by foamy changes in sinusoidal and vascular beds as well as the loss of >50% of portal bile ducts [3, 4]. The most identifiable feature in biopsy specimens, however, is the loss of bile ducts as foamy changes which are usually restricted to large arteries. Nevertheless, the loss of bile ducts is considered as a late feature of CR [3]. Immunosuppressive therapies have had the least impacts in progression of tissue degeneration in advanced CR. The majority of patients affected with advanced CR are required to be re-transplanted [5]. In accordance, CR is the main reason for graft failure in pediatric population [6]. After nearly five decades experience on pediatric LT, survival rate for patients hits 90% in 1-year post transplant [7]. This survival rate could particularly be attributed to improvements in preoperative managements, optimizing donor selection strategies, and developing proficient surgical methods. The majority of these advancements, however, contribute to lower acute and short-term complications while long-term complications, and in particular, CR, is still relatively common encountered feature. Compared to adult LT (2–5%), CR is encountered in higher ratios (8–12%) in pediatric patients [6]. Parameters associated CR are not well known in pediatric LT. Based on this, studying risk factors related to incidence of CR is of crucial importance to early identify CR in pediatric LT.

METHODS

This was a retrospective study performed in Organ transplant center of Nemazi Hospital, Shiraz, Iran. Data on CR was gathered from 47 pediatric patients who had experienced acute rejections. A comprehensive view on

these patients has been reported earlier by ours. These patients had biopsy diagnosed acute rejection. Chronic rejection was diagnosed in these patients based on the loss of >50% of portal bile ducts. Statistical analysis was performed in SPSS 19 software using appropriate descriptive and analytical tests.

RESULTS

From 47 children, 22 (46.8%) and 25 (53.2) were boys and girls respectively. Family history of liver disease was noted in 9 (19.1%) of the patients. None of the patients had renal insufficiency, cyanosis or hepatopulmonary syndromes pre-transplant. However, ascites, gastrointestinal bleeding, and spontaneous bacterial periodontitis (SBP) were observed in 20 (44.4%), 14 (31.1%), and 4 (9.1%) of patients respectively.

Only 6 (13%) of the patients had been hospitalized at the time of transplantation. Cadaveric transplants were done in 33 (71.7%), while the grafts came from either fathers or mothers in 4 (6.5%) and 10 (21.7%) cases respectively. The means for the numbers of transfused FFP, whole blood, and packed cell units before LT were 1 ± 1.7 , 0.4 ± 1.4 , 0.6 ± 1.5 respectively. basic clinical features of the patients have been noted in table 1.

One (2.2%) patient developed diabetes, and 1 (2.2%) developed renal insufficiency after transplantation. Serological tests for cytomegalovirus (CMV) was positive for 1 (2.2%) case after transplantation. Bayloma was noted in 6 (14%) of the patients after the surgery. Post-transplant vascular and biliary complications were observed in 3 (7%) and 4 (9.3%) of the cases respectively. No cases developed post-transplant lymphoproliferative disorder (PTLD) following LT.

The mean time from LT to normalization of liver enzymes was 14.2 ± 7.5 days. The mean of acute rejection episodes was 1.4 ± 0.6 (median = 1 (22, 46.8%), range of 1–3). Six (12.7%) patients experienced chronic rejections. The mean time from transplantation to CR was 75 ± 28.4 days. Table 2 represents features of the six patients who developed CR.

No association was identified between CR and sex, blood group, child class, pre-transplant complications

(SBP, GI bleeding, ascites, hepatopulmonary syndrome, cyanosis, renal insufficiency), and graft origin (cadaveric, parental). However, fisher exact test revealed a significant association between CR condition (being inpatient of outpatient) of the patients before surgery ($P = 0.03$). Beside biliary complications ($P = 0.01$, table 3), no significant relationship was found between CR and post-transplant parameters (diabetes, renal insufficiency, CMV infection, and vascular complications). In regression analysis, both biliary complication and inpatient status increased the risk of CR significantly (table 4).

DISCUSSION

Graft failure due to CR is a growing concern in pediatric LT. Mechanisms behind CR are of great interest for researchers in order to make progress on patient and

graft outcome. In respective to the adults, LT in children offers a superior prognosis. This is governed by a variety of factors such as graft quality and viability (source, harvesting, preserving and transporting) as well as efficiency of surgical techniques and inter-individual patients' related factors.

In our study, 6 (12.7%) patients encountered CR. The mean time from LT to CR was 75 ± 28.4 ranging from 35–102 days. It has been noted that graft failure is mostly encountered within three months after LT, while 85% of rejections occurred within six months [8]. In a study in Brazil on 537 LT children, 29 (5.4%) developed CR [6]. In another report in 22 pediatric LT, 2 (9%) encountered CR [9]. In a study by Dattani et al., 2% of 46 LT children developed CR [10]. CR development is a multifactorial phenomenon. This could be provoked in grafts from unrelated donors as CR was reported in 14.7% of patients transplanted with unrelated while in 7% of related allografts [11]. Overall, CR is a relatively common feature in pediatric LT, however, its risk factors and underlying pathological and immunological mechanisms need to be more elucidated.

In our patients, neither of recipients' age, weight, PELD/PELD or child scores, and nor acute rejection episodes, hospitalization period, time laps for normalization of liver enzymes, and receiving blood components or bleeding during surgery were associated with occurrence of CR. Nevertheless, status of the patients at the time of LT (i.e. inpatient or outpatient), the ICU stay duration, and post-transplant biliary complications were significantly associated with CR. Among risk factors of CR in LT are recurrent acute rejections [3, 6, 12], viral infections [13–16], low-dose immunosuppression therapy, anti-viral therapy [2], underlying liver disease [17, 18], human leukocyte antigen (HLA) mismatch [18–20], ABO-incompatible graft [21, 22], donor-specific antibodies (DSA) against HLA or other immune determinants (i.e. complement system) [23–25], and post-transplant complications (i.e. vasculopathies and sinusoidal fibrosis [16]. In another study, however, none of 36 patients who

Table 1

Basic clinical features in 47 liver transplanted children

Parameter		Amount
Blood groups	A+	17 (36.2)
	B+	8 (17)
	B-	2 (4.3)
	O+	17 (36.2)
	O-	2 (4.3)
	AB+	1 (2.1)
Child class	A	12 (22.2)
	B	24 (58.3)
	C	11 (19.4)
Age at transplant (years)		9.6 ± 9.5
Weight at transplant (Kg)		23.7 ± 13.4
PELD/MELD score		18.7 ± 10.5
Child Score		7.6 ± 2.3
Hospitalization episodes		2.5 ± 2
Bleeding volume (ml)		327.6 ± 420.3
Surgery time (hours)		192.8 ± 109.6
ICU stay after transplantation (days)		10.7 ± 5.1
Hospital stay after transplantation (days)		14.2 ± 5.9

Table 2

Features of six children who developed chronic graft rejection after liver transplantation

Features	P 1	P 2	P 3	P 4	P 5	P 6
Gender	M	F	M	M	M	F
Age at transplant (years)	6	3	2.5	10	11	2
PELD/MELD score	24	16	28	40	14	18
Child Score	6	11	8	12	6	7
Time to liver enzyme normalization (days)	17	8	28	17	10	12
Acute rejection episodes	1	1	1	2	2	2
Time to chronic rejection (days)	102	94	89	43	87	35
Status before transplant	inpatient	inpatient	outpatient	inpatient	outpatient	outpatient
Type of transplant	Mother	Mother	Cadaver	Cadaver	Cadaver	Cadaver
Biliary complications	Yes	No	No	No	No	Yes

Note. P – patient; M – male; F – female.

received long-term low dose immunosuppressive therapy developed CR [26]. In fact, tacrolimus based immunosuppressive treatment has been reported as an effective factor for preventing CR [4, 27], however, other studies suggested that immunosuppression regimes could not be definitive determinants in prevention of CR [6, 26]. DSAs which have been mainly against HLA II and C3d component of complement system are seen in increasing frequencies with the time after transplantation (8% within 5 years while 50% in >15 years of LT) [23]. Nevertheless, DSAs may not be specific for detection of CR as they have also been described in as high as 56% of patients without any evidences of CR [25]. Allografts In patients positive for CMV infection have shown more pronounced fibrotic and vasculopathy, as well as necrotic changes [13]. This has been attributed to higher expression of vascular growth factors (such as platelet derived growth factor and fibroblast growth factor; i.e. PDGF and FGF) [13]. On the other hand, chronic stimulation of inflammatory cytokines has been suggested as a possible contributor to the aggravation of hepatic inflammation

and CR [13]. Some other risk factors have also been described for CR. Of these are recipient general health and absence of autoimmune disorders, as well as recipient age and gender [12, 22]. These implications are mainly acknowledged from adult studies, and on the other hand, these risk factors have been inconsistent among different populations.

In the study of Tannuri et al., CR was not associated with neither of the age or gender of recipients, nor with graft origin, unerlying liver disease, acute rejection episodes, viral infections (CMV and EBV), immunosuppressive treatment, and post transplant complications (i.e. PTLD, vascular, and biliary complications) [6]. Instead, ductopenia was noted as the sole predictor of CR in the recent reprot [6]. Here we found that billiary complications afetr LT significantly increased the risk of CR (Adjusted relative risk = 33.7, 95% CI: 2.2–511). Biliary complication is a respectively common sequala after LT [28, 29]. Some factors that may contribute to the development of biliary defects have been noted as high serum bilirubin, advanced donor age, MELD score, acute

Table 3

Univariate analysis for association of clinical characteristics pre and post liver transplantation with occurrence of chronic graft rejection

Parameters		Chronic rejection		p
		Yes (n = 6)	No (n = 41)	
Biliary	Yes	2	3	0.01*
	No	4	38	
Status	Inpatient	2	3	0.03*
	Outpatient	4	37	
Age at trans		15.5 ± 2.7	8.7 ± 4.3	0.11
Weight at trans		27 ± 18.1	23.1 ± 12.6	0.74
PELD/MELD score		22.7 ± 11.7	18.1 ± 10.5	0.40
Child score		8 ± 2.7	7.5 ± 2.3	0.61
FFP units		1.2 ± 1.4	1 ± 1.8	0.38
Whole blood units		0.25 ± 0.5	0.52 ± 1.5	0.89
Hospitalization before		1.5 ± 0.5	2.7 ± 2.1	0.16
Bleeding volume at surgery		568 ± 567.5	296 ± 396.1	0.18
ICU stays after transplant		5.5 ± 3.9	11.5 ± 4.8	0.007**
Surgery time		230 ± 62.4	189.7 ± 112.8	0.84
Hospital stay after transplant		13 ± 6	14.5 ± 5.9	0.93
Days to normalization of liver enzymes		14.8 ± 6.6	14.1 ± 7.8	0.56
Acute rejection episodes		1.4 ± 0.5	1.4 ± 0.6	0.84

Note. * – Fisher exact test; ** – Mann Whitney U test.

Table 4

Logistic regression analysis for selected variables and risk of chronic rejection in pediatric liver transplantation

Parameters		RR	95%CI	p	Adjusted RR	95%CI	p
Status	Outpatient	Ref			Ref		
	Inpatient	9	1.3–60.4	0.02	10.9	1.1–102.5	0.03
Biliary complications	No	Ref					
	Yes	26.2	2.1–316	0.01	33.7	2.2–511	0.01

rejections and biliary structural defects following LT [29]. Furthermore, patients with primary biliary cirrhosis had higher risk for occurrence of biliary complications after LT [29]. Recently by proposing a chronic antibody-mediated rejection (cAMR) score based on a variety of serological, histological and clinical parameters, it was possible to predict a risk-stratification for graft failure following 10 years of LT [16]. Overall, many inter and intra individual, as well as procedural factors are important in development of CR in LT.

In addition to clinical parameters, lights have also been shed on the molecular and cellular mechanisms involved in hepatic CR. In study of Wei et al. in animal model of CR, it was found that the expression of at least sixty two proteins were modulated in the face of CR development [30]. Among these, CLU (clusterin), a widely expressed secretory glycoprotein with proposed roles in protein hemostasis, graft survival, apoptosis, immune tolerance and tumorigenesis was suggested as a reliable early indicator of CR [30–32]. Two other possible early indicators of CR proposed by Wei et al. included keratin type I cytoskeletal 19 (Krt19) and lipocalin 2, a neutrophilic gelatinase with respective roles in regulating bile duct biogenesis and immune system [30]. In addition, Th2 lymphocytes seems to contribute in hepatic CR by production of IL-10 and promoting humoral and inflammatory responses [33]. Through balancing Th1/Th2 responses, invariant natural killer T cells (iNKT) may execute a substantial role in inducing immune tolerance toward liver allografts [34]. New evidences have suggested a role for hepatic mast cells in augmenting immune tolerance and graft preservation [35]. From other early molecular indicators of CR has been proposed increased expression of apoptotic receptor (i.e. FasL) on Kupfer cells and antigen presenting cells (APCs) within hepatic allografts [36]. Decreased expression of serine/threonine kinase; STK17A, with suggested roles in biliary biogenesis in liver allograft may also be an early predictor of hepatic CR [37]. More studies are necessary to unravel molecular adaptors responsible for CR in LT.

CONCLUSION

The only rescuing option in patients afflicted with CR may be re-transplantation. Considering this, and also potential reversibility of CR in early phases, accurate and timely diagnosis of CR in initial stages is of paramount importance. This necessitates identifying and monitoring at risk patients for CR. Our findings suggest that being hospitalized at the time of LT, and development of biliary complications might predict such high risk conditions.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Pfitzmann R, Nüssler NC, Hippler-Benscheidt M, Neuhaus R, Neuhaus P. Long-term results after liver transplantation. *Transplant International*. 2008; 21 (3): 234–246.
2. Ueda Y, Kaido T, Ito T, Ogawa K, Yoshizawa A, Fujimoto Y et al. Chronic rejection associated with antiviral therapy for recurrent hepatitis C after living-donor liver transplantation. *Transplantation*. 2014; 97 (3): 344–350.
3. Neil DA, Hubscher SG. Histologic and biochemical changes during the evolution of chronic rejection of liver allografts. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2002; 35 (3): 639–651.
4. Jain A, Mazariegos G, Pokharna R, Parizhskaya M, Kashyap R, Kosmach-Park B et al. The absence of chronic rejection in pediatric primary liver transplant patients who are maintained on tacrolimus-based immunosuppression: a long-term analysis. *Transplantation*. 2003; 75 (7): 1020–1025.
5. O’Leary J, Kaneku H, Susskind B, Jennings L, Neri M, Davis G et al. High mean fluorescence intensity donor-specific anti-HLA antibodies associated with chronic rejection postliver transplant. *American Journal of Transplantation*. 2011; 11 (9): 1868–1876.
6. Tannuri AC, Lima F, Mello ES, Tanigawa RY, Tannuri U. Prognostic factors for the evolution and reversibility of chronic rejection in pediatric liver transplantation. *Clinics (Sao Paulo, Brazil)*. 2016; 71 (4): 216–220.
7. McLin VA, Allen U, Boyer O, Bucuvalas J, Colledan M, Cuturi MC et al. Early and Late Factors Impacting Patient and Graft Outcome in Pediatric Liver Transplantation: Summary of an ESPGHAN Monothematic Conference. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2017; 65 (3): e53–e59.
8. Neil D, Adams D, Gunson B, Hubscher S. Is chronic rejection of liver transplants different to graft arteriosclerosis (chronic rejection) of kidney and heart transplants. *Transplantation proceedings*. 1997; 29: 2533–2534.
9. Akdur A, Kirnap M, Ayvazoglu Soy EH, Ozcay F, Moray G, Arslan G et al. Unusual Indications for a Liver Transplant: A Single-Center Experience. *Experimental and clinical transplantation: official journal of the Middle East Society for Organ Transplantation*. 2017; 15 (Suppl 1): 128–132.
10. Dattani N, Baker A, Quaglia A, Melendez HV, Rela M, Heaton N. Clinical and histological outcomes following living-related liver transplantation in children. *Clinics and research in hepatology and gastroenterology*. 2014; 38 (2): 164–171.
11. Ali MA, Elshobari MM, Salah T, Kandeel AR, Sultan AM, Elghawalby AN et al. Impact of donor-recipient genetic relationship on outcome of living donor liver transplantation. *Liver Transpl*. 2017; 23 (1): 43–49.
12. Neuberger J. Incidence, timing, and risk factors for acute and chronic rejection. *Liver transplantation and surgery: official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 1999; 5 (4 Suppl 1): S30–S36.
13. Gao LH, Zeng LX, Chen HM, Wan RH. Cytomegalovirus infection accelerates the process of chronic rejection in

- rat liver transplantation. *Transplantation proceedings*. 2013; 45 (6): 2536–2538.
14. Guardia-Silva AC, Stucchi RS, Sampaio AM, Milan A, Costa SC, Boin IF. Detection of cytomegalovirus and human herpesvirus-6 DNA in liver biopsy specimens and their correlation with rejection after liver transplantation. *Transplantation proceedings*. 2012; 44 (8): 2441–2444.
 15. Gao LH, Zheng SS. Cytomegalovirus and chronic allograft rejection in liver transplantation. *World journal of gastroenterology*. 2004; 10 (13): 1857–1861.
 16. O'Leary JG, Cai J, Freeman R, Banuelos N, Hart B, Johnson M et al. Proposed Diagnostic Criteria for Chronic Antibody-Mediated Rejection in Liver Allografts. *American journal of transplantation: official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2016; 16 (2): 603–614.
 17. Ruth ND, Kelly D, Sharif K, Morland B, Lloyd C, McKiernan PJ. Rejection is less common in children undergoing liver transplantation for hepatoblastoma. *Pediatric transplantation*. 2014; 18 (1): 52–57.
 18. Harimoto N, Ikegami T, Nakagawara H, Yamashita YI, Yoshizumi T, Uchiyama H et al. Chronic immune-mediated reaction syndrome as the cause of late graft mortality in living-donor liver transplantation for primary biliary cirrhosis. *Transplantation proceedings*. 2014; 46 (5): 1438–1443.
 19. Uchiyama H, Kayashima H, Matono R, Shirabe K, Yoshizumi T, Ikegami T et al. Relevance of HLA compatibility in living donor liver transplantation: the double-edged sword associated with the patient outcome. *Clinical transplantation*. 2012; 26 (5): E522–E529.
 20. Muro M, Lopez-Alvarez MR, Campillo JA, Marin L, Moya-Quiles MR, Bolarin JM et al. Influence of human leukocyte antigen mismatching on rejection development and allograft survival in liver transplantation: is the relevance of HLA-A locus matching being underestimated? *Transplant immunology*. 2012; 26 (2–3): 88–93.
 21. Lee EC, Kim SH, Park SJ. Outcomes after liver transplantation in accordance with ABO compatibility: A systematic review and meta-analysis. *World journal of gastroenterology*. 2017; 23 (35): 6516–6533.
 22. Gupta P, Hart J, Cronin D, Kelly S, Millis JM, Brady L. Risk factors for chronic rejection after pediatric liver transplantation. *Transplantation*. 2001; 72 (6): 1098–1102.
 23. Couchonnal E, Rivet C, Ducreux S, Dumortier J, Bosch A, Boillot O et al. Deleterious impact of C3d-binding donor-specific anti-HLA antibodies after pediatric liver transplantation. *Transplant immunology*. 2017; 45: 8–14.
 24. Muro M, Moya-Quiles MR, Mrowiec A. Humoral Response in Liver Allograft Transplantation: A Review of the Role of Anti-Human Leukocyte Antigen (HLA) Antibodies. *Current protein & peptide science*. 2016; 17 (8): 776–784.
 25. Kaneku H, O'Leary JG, Taniguchi M, Susskind BM, Terasaki PI, Klintmalm GB. Donor-specific human leukocyte antigen antibodies of the immunoglobulin G3 subclass are associated with chronic rejection and graft loss after liver transplantation. *Liver transplantation: official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2012; 18 (8): 984–992.
 26. Barbier L, Garcia S, Cros J, Borentain P, Botta-Fridlund D, Paradis V et al. Assessment of chronic rejection in liver graft recipients receiving immunosuppression with low-dose calcineurin inhibitors. *Journal of hepatology*. 2013; 59 (6): 1223–1230.
 27. Jain A, Mazariegos G, Pokharna R, Parizhskaya M, Kashyap R, Kosmach-Park B et al. The absence of chronic rejection in pediatric primary liver transplant patients who are maintained on tacrolimus-based immunosuppression: a long-term analysis. *Transplantation*. 2003; 75 (7): 1020–1025.
 28. Santos O, Londono M, Marin J, Munoz O, Mena A, Guzman C et al. An experience of liver transplantation in Latin America: a medical center in Colombia. *Colombia medica (Cali, Colombia)*. 2015; 46 (1): 8–13.
 29. Mocchegiani F, Vincenzi P, Lanari J, Montalti R, Nicolini D, Svegliati Baroni G et al. Immunological risk factors in biliary strictures after liver transplantation. *Annals of transplantation*. 2015; 20: 218–224.
 30. Wei W, Huang XH, Liang D, Zeng YY, Ma C, Wu YB et al. A proteomic analysis of transplanted liver in a rat model of chronic rejection. *Clinics and research in hepatology and gastroenterology*. 2015; 39 (3): 340–350.
 31. Chiang K, Goto S, Chen C, Lin C, Lin Y, Pan T et al. Clusterin may be involved in rat liver allograft tolerance. *Transplant immunology*. 2000; 8 (2): 95–99.
 32. Li S, Guan Q, Chen Z, Gleave ME, Nguan CY, Du C. Reduction of cold ischemia–reperfusion injury by graft-expressing clusterin in heart transplantation. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2011; 30 (7): 819–826.
 33. Wan R, Tang L, Shan R, Zeng L, Chen H, Gao L. Humoral immunity-mediated chronic rejection in liver transplantation is associated with predominant IL-10 expression. *Frontiers in bioscience (Elite edition)*. 2012; 4: 2121–2130.
 34. Liu Y, Luan X, Li J, He Y, Li M. The role of invariant NKT cells in liver transplant tolerance in rats. *Transplantation proceedings*. 2012; 44 (4): 1041–1044.
 35. Nakano T, Lai CY, Goto S, Hsu LW, Kawamoto S, Ono K et al. Immunological and regenerative aspects of hepatic mast cells in liver allograft rejection and tolerance. *PLoS one*. 2012; 7 (5): e37202.
 36. Miyagawa-Hayashino A, Tsuruyama T, Egawa H, Haga H, Sakashita H, Okuno T et al. FasL expression in hepatic antigen-presenting cells and phagocytosis of apoptotic T cells by FasL+ Kupffer cells are indicators of rejection activity in human liver allografts. *The American journal of pathology*. 2007; 171 (5): 1499–1508.
 37. Ozeki M, Salah A, Aini W, Tamaki K, Haga H, Miyagawa-Hayashino A. Abnormal Localization of STK17A in Bile Canaliculi in Liver Allografts: An Early Sign of Chronic Rejection. *PLoS one*. 2015; 10 (8): e0136381.

Статья поступила в редакцию 13.02.2021 г.

The article was submitted to the journal on 13.02.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2021-4-32-41

ИЗМЕНЕНИЕ СКОРОСТИ КЛУБОЧКОВОЙ ФИЛЬТРАЦИИ У РЕЦИПИЕНТОВ ПЕЧЕНИ ПОСЛЕ СНИЖЕНИЯ ЭКСПОЗИЦИИ ИНГИБИТОРОВ КАЛЬЦИНЕВРИНА С ОДНОВРЕМЕННЫМ НАЗНАЧЕНИЕМ ЭВЕРОЛИМУСА НА ПРОТЯЖЕНИИ ПЕРВОГО ГОДА ПОСЛЕ КОНВЕРСИИ ИММУНОСУПРЕССИИ

В.Е. Сюткин, А.А. Салиенко, С.В. Журавель, М.С. Новрузбеков

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

Цель. Сравнение изменений расчетной скорости клубочковой фильтрации (рСКФ) у реципиентов печени с исходно нормальной и нарушенной рСКФ на протяжении первого года после конверсии иммуносупрессивной терапии. **Материалы и методы.** В исследование включены 215 реципиентов после трансплантации печени (ТП) от посмертного донора с февраля 2009 г. по февраль 2020 г., получавших на протяжении различного времени эверолимус со снижением дозы или полной отменой ИК (конверсия иммуносупрессии – КИС). СКФ рассчитывалась по формуле MDRD-4 непосредственно перед КИС, через 3, 6, и 12 месяцев после ТП. Допустимым временным отклонением от соответствующей точки считался 1 месяц. **Результаты.** На момент КИС у 32 (15%) из 215 реципиентов наблюдалась нормальная функция почек. У 60% реципиентов с нормальной рСКФ к концу первого года после КИС наблюдалось увеличение степени ХБП; снижение рСКФ особенно выражено у реципиентов старшего возраста. В группе с исходной рСКФ 60–89 мл/мин/1,73 м² в 62% случаев в течение 12 месяцев наблюдалась нормализация рСКФ; в 28% случаев изменения функции почек не наблюдалось. В подгруппе с выраженным снижением рСКФ на момент КИС увеличение рСКФ наблюдалось уже через 1 месяц после КИС, а максимума – через 3–6 месяцев. Средние значения увеличения рСКФ по отношению к исходному уровню к 3-му месяцу после КИС были выше при КИС, проведенной в первые 2 месяца после ТП ($19,7 \pm 15,7$ мл/мин/1,73 м²), чем при КИС, проведенной в отдаленные сроки после ТП ($10,1 \pm 8,7$ мл/мин/1,73 м², $p < 0,05$). **Заключение.** Изменения рСКФ у реципиентов печени, которые получают ЭВР в сочетании со сниженной дозой ИК, зависят от исходного уровня рСКФ и носят разнонаправленный характер. Проведение КИС в ранние сроки после ТП приводило к более выраженному улучшению рСКФ. Максимальные изменения рСКФ наблюдались к 3–6 месяцам после КИС.

Ключевые слова: трансплантация печени, иммуносупрессивная терапия, нефротоксичность ингибиторов кальциневрина, эверолимус.

Для корреспонденции: Салиенко Анастасия Александровна. Адрес: 129090, Москва, Большая Сухаревская площадь, д. 3. Тел. (926) 689-15-45. E-mail: SalienkoAA@sklif.mos.ru

Corresponding author: Anastasiia Salienko. Address: 3, Bolshaya Sukharevskaya Ploshchad, Moscow, 129090, Russian Federation. Phone: (926) 689-15-45. E-mail: SalienkoAA@sklif.mos.ru

CHANGES IN GLOMERULAR FILTRATION RATE IN LIVER RECIPIENTS AFTER REDUCED EXPOSURE TO CALCINEURIN INHIBITORS WITH CONCOMITANT EVEROLIMUS ADMINISTRATION WITHIN THE FIRST YEAR AFTER IMMUNOSUPPRESSION CONVERSION

V.E. Syutkin, A.A. Salienko, S.V. Zhuravel, M.S. Novruzbekov

Sklifosovsky Research Institute of Emergency Care, Moscow, Russian Federation

Objective: to compare changes in estimated glomerular filtration rate (eGFR) in liver recipients with initially normal and impaired eGFR within the first year after immunosuppression conversion. **Materials and methods.** Enrolled in the study were 215 recipients of deceased-donor livers from February 2009 to February 2020, who received everolimus with dose reduction or complete withdrawal of calcineurin inhibitors (immunosuppression conversion, ISxC) for varying periods of time. GFR was measured using the MDRD-4 formula immediately before ISxC, then 3, 6, and 12 months after orthotopic liver transplantation (LTx). One month was considered an acceptable temporary deviation from the corresponding point. **Results.** At the time of ISxC, 32 (15%) of 215 recipients had normal renal function. Chronic kidney disease (CKD) increased in 60% of the recipients with normal eGFR by the end of the first year following ISxC; the fall in eGFR was particularly pronounced in older recipients. In the group with a baseline eGFR of 60–89 mL/min/1.73 m², eGFR normalized in 62% of cases within 12 months; 28% of cases had no changes in renal function. In the subgroup with a pronounced decrease in eGFR at the time of ISxC, increased eGFR was observed as early as 1 month after ISxC, and the maximum was recorded after 3–6 months. The mean eGFR relative to baseline by month 3 after eGFR were higher for ISxC that was done in the first 2 months after LTx (19.7 ± 15.7 ml/minute/1.73 m²) than for ISxC done in the long-term period after LTx (10.1 ± 8.7 ml/minute/1.73 m², $p < 0.05$). **Conclusion.** Changes in eGFR in liver recipients receiving EVR plus low-dose calcineurin inhibitor (CNI) depend on baseline eGFR and are multidirectional. The use of ISxC in the early post-LTx period led to a more pronounced improvement in eGFR. Maximal changes in eGFR were observed by 3–6 months after ISxC.

Keywords: liver transplantation, immunosuppressive therapy, calcineurin inhibitor nephrotoxicity, everolimus.

Хроническая болезнь почек (ХБП) является частым осложнением после трансплантации печени (ТП). Терминальная ХБП (pСКФ ≤ 29 мл/мин/1,73 м² по формуле MDRD) наблюдается у 8% через 1 год и у 18% через 5 лет после ТП [1]. Наиболее существенной причиной ухудшения функции почек у реципиентов печени является применение в качестве основного компонента поддерживающей иммуносупрессивной терапии (ИС) препаратов – ингибиторов кальциневрина (ИК) – циклоспорина и такролимуса. Нефротоксичность ИК хорошо изучена и подробно описана [2, 3]. Соответственно, минимизация экспозиции (площади под кривой «концентрация–время») ИК является необходимой для замедления прогрессирования ХБП и сохранения функции почек у реципиентов печени.

Возможным путем снижения экспозиции ИК без одновременного увеличения риска развития отторжения является восполнение ИС действия за счет назначения препаратов с другим механизмом действия. Одним из таких препаратов является ингибитор пролиферативного сигнала – эверолимус (ЭВР). Эффективность и безопасность режима ИС,

основанного на комбинации ЭВР с одновременной минимизацией экспозиции такролимуса в отношении прогрессирования ХБП у реципиентов печени, были продемонстрированы в клинических испытаниях CRAD2304 и CRAD2307 [4, 5]. В обоих исследованиях реципиенты имели относительно высокую СКФ (80 и 90 мл/мин/1,73 м²) на момент рандомизации. Эффективность восстановления СКФ после конверсии ИС (ЭВР в сочетании со сниженной дозой ИК (КИС) у реципиентов печени с исходно сниженной СКФ изучена недостаточно.

Цель: сравнить изменения СКФ у реципиентов печени с исходно нормальной и нарушенной СКФ на протяжении первого года после КИС.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведен ретроспективный анализ изменения pСКФ у 215 реципиентов, перенесших ТП от посмертного донора с февраля 2009 г. по февраль 2020 г. и получивших в рамках рутинной клинической практики одну или более доз эверолимуса. На момент проведения анализа 169 пациентов живы и продолжают наблюдаться в Центре транс-

плантации печени (ЦТП), 27 умерли, и 19 выбыли из-под наблюдения врачей ЦТП в различные сроки. Из 169 реципиентов, которые на момент анализа живы и продолжают наблюдаться в ЦТП, эверолимус отменен в 51 случае, продолжают получать терапию 118 реципиентов.

До КИС 102 реципиента получали ИК в качестве основного компонента поддерживающей ИС, в 113 случаях ЭВР был назначен одновременно с ИК в первые две недели после ТП. Циклоспорин (начальная доза 5–6 мг/кг в сутки) получали 34 (15,8%) реципиента. Целевые концентрации циклоспорина в крови, определяемые за 30 минут до приема препарата (C₀) в первые месяцы после ТП – 150–250 нг/мл, в дальнейшем – 100–150 нг/мл. Такролимус (начальная суточная доза 0,05–0,075 мг/кг) получал 181 (84,1%) реципиент. Целевые концентрации такролимуса в крови, определяемые за 30 минут до приема препарата (C₀): 1–3-й месяц – 8–10 нг/мл; в дальнейшем – 6–8 нг/мл.

Препараты МФК назначались 131 пациенту, из них 93 пациента получали микофеноловую кислоту; 38 пациентов получали микофенолата мофетил. Препараты МФК отменены всем, кроме одного реципиента, в различные сроки послеоперационного периода. В послеоперационном периоде 171 реципиенту глюкокортикостероиды не назначались. Четырнадцать реципиентам преднизолон был отменен в первые 3–4 месяца после ТП. Девятнадцати реципиентам – в отдаленные сроки. Одиннадцать реципиентов продолжили прием низких (5 мг/сут) доз преднизолона.

Показаниями к назначению ЭВР являлись: почечная недостаточность у 85 реципиентов (39,5%), наличие гепатоцеллюлярного рака (ГЦР) как одного из показаний к ТП – у 79 реципиентов (36,7%). Двадцати трем реципиентам (11%) ЭВР был назначен в связи с почечной недостаточностью и наличием ГЦР до ТП; 7 (3%) реципиентам – в связи с прогрессированием ГЦР в послеоперационном периоде. В 4 (2%) случаях ЭВР назначен в связи с неврологическими осложнениями на фоне приема ИК. Восемь (3,7%)

реципиентов получали ЭВР в рамках клинического исследования CRAD2304 [5]. Другими показаниями к назначению эверолимуса являлись опухоли (не ГЦР, n = 5), лимфома (n = 2), ретрансплантация печени (n = 2).

После КИС эверолимус назначался в дозе 1–2 мг в сутки (0,01–0,04 мг/кг) в два приема. Целевая концентрация ЭВР в крови за 30 минут до приема препарата (C₀) составляла 3–5 нг/мл. Снижение дозы ИК производилось одновременно с назначением ЭВР, целевыми концентрациями такролимуса в схеме двухкомпонентной терапии были 3–5 нг/мл, целевая концентрация циклоспорина 50–75 нг/мл. В 16 случаях ИК был отменен полностью.

Изученная популяция включала 150 мужчин и 65 женщин в возрасте 53 (50,3; 53,1) года (M (95% ДИ), со средней массой тела 76 (74,3; 79) кг. Операция была выполнена по поводу терминальной стадии цирроза в исходе хронических диффузных заболеваний печени 199 (92,5%) пациентам, из них 102 (51,3%) – в комбинации с ГЦР; 12 (5,5%) пациентам с первичными опухолями печени без цирроза; 4 (1,9%) – в связи с другими причинами. Семи реципиентам проведена одновременная аллотрансплантация печени и почки.

Скорость клубочковой фильтрации (pСКФ) рассчитывалась по формуле MDRD-4 непосредственно перед конверсией иммуносупрессии, через 3, 6, и 12 месяцев после ТП [6]. Допустимым временным отклонением от соответствующей точки считался 1 месяц.

Статистическая обработка цифровых величин производилась с использованием программы Statistica 7,0. Статистическая значимость различий между сравниваемыми параметрами устанавливалась на основе критерия Вилкоксона для парных сравнений зависимых переменных, Холмогорова–Смирнова для сравнения независимых переменных. Различия между сравниваемыми параметрами считали статистически значимыми при условии вероятности ошибки менее 0,05 (p < 0,05).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Зависимость изменения функции почек в течение первого года наблюдения после конверсии ИС от исходного уровня pСКФ

У большинства реципиентов на момент конверсии ИС pСКФ была ниже нормальных значений, только у 32 (15%) из 215 реципиентов наблюдалась нормальная функция почек.

Из табл. 2 видно, что после КИС доля реципиентов с тяжелым нарушением функции почек (pСКФ <30 мл/мин/1,73 м²) постепенно уменьшалась, доля реципиентов с умеренно-тяжелым нарушением функции почек (pСКФ 30–44 мл/мин/1,73 м²) сохранялась

Таблица 1

Степень нарушения функции почек на момент конверсии иммуносупрессии

Degree of renal dysfunction at the time of immunosuppression conversion

Диапазон pСКФ (мл/мин/1,73 м ²)	n	pСКФ (MDRD4), M (ДИ)
>90	32	109,2 (103,1; 115,4)
60–89	52	73,0 (70,7; 75,3)
45–59	35	52,6 (51,1; 54,2)
30–44	45	36,6 (35,4; 37,8)
15–29	44	23,2 (21,9; 24,5)
<15	7	10,9 (8,2; 13,7)

прежней (около 20% от общего числа реципиентов), тогда как доля реципиентов с легким и умеренно-легким нарушением функции почек (рСКФ 45–89 мл/мин/1,73 м²) увеличивалась. Несмотря на КИС, доля реципиентов с нормальной рСКФ уменьшалась на протяжении первого года после ТП.

Для выявления влияния исходного нарушения функции почек на динамику рСКФ после КИС мы провели анализ структуры изменений степени ХБП в зависимости от исходного уровня рСКФ.

Нормальные уровни рСКФ через 12 месяцев наблюдения сохранялись только у 40% реципиентов печени с исходно нормальной рСКФ (>90 мл/мин/1,73 м²). У остальных наблюдалось ухудшение рСКФ, но в подавляющем большинстве случаев (50%) оно не носило выраженного характера (рСКФ оставалась более 60 мл/мин/1,73 м²).

Конверсия ИС в группе больных с незначительным исходным снижением рСКФ (60–89 мл/мин/1,73 м²) у 62% реципиентов в течение 12 месяцев приводила к нормализации рСКФ. У 28% таких реципиентов при наблюдении в течение первого года с момента конверсии ИС изменения функции почек не наблюдалось. И только у 10% реципиентов через

12 месяцев после КИС рСКФ уменьшилась до уровня, соответствующего 3-й стадии ХБП.

У половины (45–50%) реципиентов печени, которым КИС была проведена на фоне умеренного нарушения функции почек (рСКФ соответствовала с 3А и 3В стадиями ХБП), в первые 12 месяцев наблюдения рСКФ оставалась на прежнем уровне. У 42% реципиентов с исходной рСКФ 45–59 мл/мин/1,73 м² и у 55% – с исходной рСКФ 30–44 мл/мин/1,73 м² наблюдалось улучшение функции почек через год после КИС, вплоть до полной ее нормализации у 5–17% реципиентов.

В подгруппе реципиентов, которым КИС была проведена при исходно тяжелом нарушении функции почек (рСКФ 15–29 мл/мин/1,73 м²), уже через месяц после КИС у 70% наблюдалось увеличение рСКФ, причем у 12% – до уровня выше 60 мл/мин/1,73 м², а через 12 месяцев рСКФ, соответствующая 4-й стадии ХБП, сохранялась только у 25% реципиентов.

У всех 7 реципиентов с исходной рСКФ менее 15 мл/мин после конверсии ИС уже через 1 месяц наблюдения рСКФ увеличилась, причем у 4 из них – до уровня более 30 мл/минуту. Результаты нашего анализа графически представлены на рис. 1 и 2.

Таблица 2

Доля реципиентов с различной стадией ХБП в зависимости от рСКФ на момент КИС в течение первого года после ТП, %

Proportion of recipients with different CKD stages depending on eGFR at the time of ISxС within the first year after LTx

Диапазон рСКФ (мл/мин/1,73 м ²)	КИС	1 мес.	3 мес.	6 мес.	12 мес.
>90	14,9	14,6	10,5	10,1	8,1
60–89	24,2	28,1	39,0	42,4	34,3
45–59	16,3	26,5	27,9	27,3	27,3
30–44	20,9	21,6	20,3	18,7	23,2
15–29	20,5	9,2	2,3	1,4	7,1
<15	3,3	0	0	0	0
Число реципиентов с известной рСКФ	215	185	172	139	99

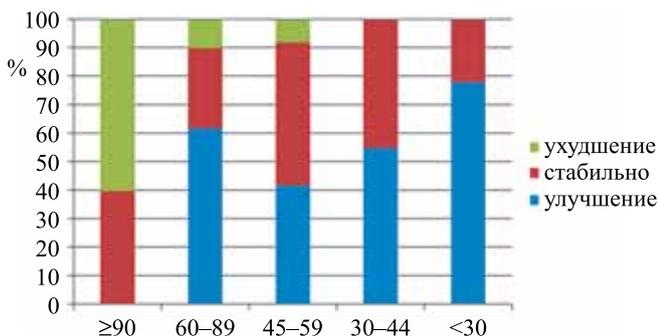


Рис. 1. Изменение функции почек через 12 месяцев после КИС

Fig. 1. Changes in renal function 12 months after ISxС

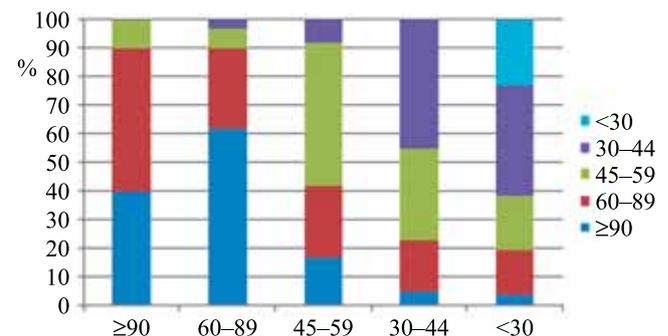


Рис. 2. Изменение рСКФ через 12 месяцев после КИС

Fig. 2. Changes in eGFR (by CKD stages) 12 months after ISxС

Динамика медианы рСКФ в зависимости от исходной рСКФ в первые 12 месяцев наблюдения представлена на рис. 3, 4 и в табл. 3.

Таким образом, динамика показателя рСКФ зависела от наличия и степени выраженности почечной

недостаточности на момент КИС. Анализ представленных результатов изменений рСКФ в течение первого года после конверсии ИС позволяет выделить три подгруппы реципиентов. В подгруппе реципиентов с исходно нормальными показателями рСКФ у

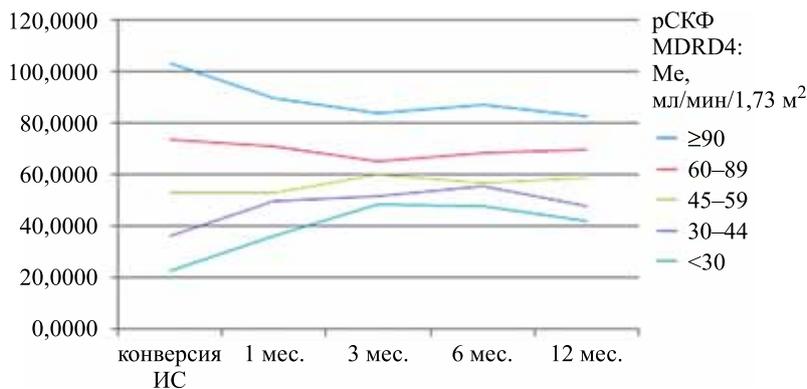


Рис. 3. Изменение медианы рСКФ в первые 12 месяцев наблюдения после конверсии ИС (Me, мл/мин/1,73 м²) в зависимости от исходной рСКФ (по стадиям ХБП)

Fig. 3. Changes in median eGFR in the first 12 months of follow-up after ISxС (Me, mL/min/1.73 m²) depending on baseline eGFR (by CKD stages)

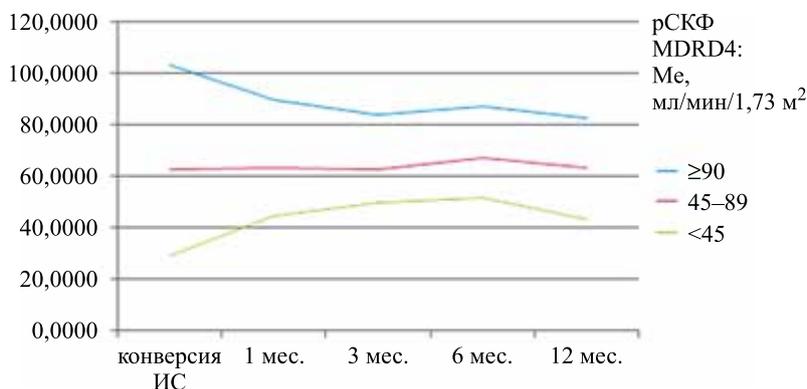


Рис. 4. Изменение медианы рСКФ в первые 12 месяцев наблюдения после конверсии ИС (Me, мл/мин/1,73 м²) в зависимости от исходной рСКФ

Fig. 4. Changes in median eGFR in the first 12 months of follow-up after ISxС (Me, mL/min/1.73 m²) depending on baseline eGFR

Таблица 3

Изменение медианы рСКФ в первые 12 месяцев наблюдения после конверсии ИС (Me (Q25; Q75), мл/мин/1,73 м²)

Change in median eGFR in the first 12 months of follow-up after ISxС (Me (Q25; Q75), mL/min/1.73 m²)

Группа по исходной рСКФ	Исходная рСКФ	1 мес.	3 мес.	6 мес.	12 мес.
>90	103,1 (97,1; 125,5)	89,5 (73,1; 100,4) [‡]	84,1 (71,6; 94,4) [‡]	87,0 (70,5; 95,1) [‡]	82,7 (72,2; 95,5) [‡]
60–89	73,3 (65,0; 79,2)	71,2 (57,1; 84,2)	64,9 (56,9; 82,0)	68,3 (58,1; 81,5)	69,4 (54,7; 78,6)
<60	34,4 (24,5; 46,3)	46,2 (34,7; 56,9) [†]	52,2 (41,7; 62,3) [†]	52,5 (42,5; 64,9) [†]	48,6 (39,1; 59,7) [†]

По сравнению с исходной рСКФ: [‡] – p < 0,01, [†] – p < 0,001.

Compared to baseline eGFR: [‡] – p < 0.01, [†] – p < 0.001.

60% реципиентов печени наблюдалась тенденция к ухудшению функции почек, несмотря на конверсию ИС. У оставшихся 40% реципиентов конверсия ИС позволила предотвратить снижение рСКФ на протяжении года наблюдения. В целом по подгруппе медиана рСКФ через 12 месяцев после конверсии ИС составила 82,7 мл/мин/1,73 м², ее снижение составило 19,8% от исходного уровня.

Другую подгруппу составляют реципиенты с незначительной и умеренной степенью снижения рСКФ на момент КИС (рСКФ 45–89 мл/мин/1,73 м²). На протяжении первого года наблюдения рСКФ оставалась без изменений у 28–50% реципиентов из этой подгруппы. У реципиентов с незначительным исходным снижением рСКФ (60–89 мл/мин/1,73 м²) в 62% случаев через 12 месяцев наблюдалась нормализация рСКФ. В подгруппе реципиентов с более выраженной степенью исходного снижения рСКФ (45–59 мл/мин/1,73 м²) через год после конверсии ИС ухудшение степени ХБП наблюдалось только в 8% случаев, а улучшение – в 42% случаев. В среднем показатели рСКФ в этой подгруппе реципиентов на протяжении первого года после КИС оставались стабильными, без отчетливой тенденции к улучшению или ухудшению функции почек (рис. 3, 4).

У реципиентов со значительно сниженной функцией почек (рСКФ <45 мл/мин/1,73 м²), образовавших третью подгруппу, после КИС наблюдалось отчетливое улучшение функции почек, причем увеличение рСКФ было тем более значимо, чем более сильные нарушения функции почек имелись исходно. При исходной рСКФ 30–49 мл/мин/1,73 м² у 55% реципиентов отмечалось улучшение стадии ХБП через год наблюдения, в 45% случаев стадия ХБП оставалась прежней. Ухудшения степени ХБП через 12 месяцев наблюдения в данной подгруппе реципиентов не отмечено.

Следует отметить, что увеличение рСКФ наблюдалось быстро, достигая уровня статистической значимости уже через 1 месяц после конверсии ИС, а максимума – через 3–6 месяцев. При этом увеличение медианы рСКФ к 3-му месяцу наблюдения у реципиентов с исходной рСКФ 45–59 мл/мин/1,73 м²

составило 13,9%, у реципиентов с исходной рСКФ 30–44 мл/мин/1,73 м² – 43,2%, а у реципиентов с исходной рСКФ <30 мл/мин/1,73 м² – 115% (!).

Зависимость изменения рСКФ от сроков конверсии ИС

Мы сравнили изменения рСКФ в первые 12 месяцев наблюдения после конверсии ИС у реципиентов с исходно значительно сниженной функцией почек (рСКФ <60 мл/мин/1,73 м²) в зависимости от сроков проведения конверсии ИС.

Большинству реципиентов с исходно значительно сниженной рСКФ (<60 мл/мин/1,73 м²) конверсия ИС была проведена в первые 12 месяцев после ТП. Средняя исходная рСКФ была ниже в этой подгруппе реципиентов, чем в подгруппе реципиентов, которым конверсия ИС была проведена в более отдаленные сроки (табл. 4). Средние значения рСКФ при оценке через 1 месяц, через 3 месяца, через 6 месяцев и через 12 месяцев после КИС между подгруппами реципиентов с ранней и поздней конверсией ИС были сопоставимы.

Однако в месяцы после КИС, в которые наблюдалось максимальное увеличение рСКФ (3-й и 6-й месяцы, см. рис. 3), средние значения увеличения рСКФ по отношению к исходному уровню выше при ранней КИС, чем при КИС, проведенной в отдаленные сроки после ТП (табл. 5).

Влияние на изменения рСКФ пола, возраста реципиентов, ингибитора кальциневрина

На момент конверсии ИС средние показатели рСКФ были сопоставимы у мужчин и женщин как во всей популяции реципиентов (56,7 ± 30,6 и 49,7 ± 29,0 мл/мин/1,73 м² соответственно), так и в подгруппе реципиентов со значительно сниженной рСКФ (34,5 ± 12,6 и 33,7 ± 15,5 мл/мин/1,73 м²). Исходные показатели рСКФ также не зависели от варианта ИК, который получали реципиенты до конверсии ИС. В подгруппе реципиентов, получавших такролимус, рСКФ была 55,0 ± 30,3 мл/мин/1,73 м², а в подгруп-

Таблица 4

Средние значения рСКФ в зависимости от сроков конверсии ИС
Mean eGFR depending on ISxC timing

Мес. после конверсии ИС	Ранняя конверсия (<12 мес. после ОТП)		Поздняя конверсия (>12 мес. после ОТП)		p
	n	M (SD), мл/мин/1,73 м ²	n	M (SD), мл/мин/1,73 м ²	
Исходная рСКФ	114	34,0 (13,5)	17	41,4 (11,1)	0,03
1 мес.	101	49,0 (19,3)	10	44,7 (12,8)	>0,05
3 мес.	87	55,0 (18,1)	13	50,9 (11,2)	>0,05
6 мес.	67	54,8 (16,7)	12	52,6 (13,3)	>0,05
12 мес.	50	50,3 (17,5)	10	53,7 (20,4)	>0,05

пе реципиентов, получавших циклоспорин – $55,0 \pm 30,9$ мл/мин/1,73 м². Сопоставимые результаты как исходной рСКФ, так и ее динамики в процессе наблюдения после конверсии ИС были получены и при анализе в зависимости от возраста реципиентов. Медиана возраста реципиентов составила 53 года. В табл. 6 представлена динамика рСКФ в зависимости от возраста реципиентов. Поскольку динамика рСКФ у реципиентов с исходно нормальной и значительно сниженной рСКФ носила разнонаправленный характер, мы посчитали корректным ее раздельное представление.

Мы видим, что средние показатели исходных рСКФ у реципиентов моложе и старше 53 лет были очень близки. После конверсии ИС показатели рСКФ у реципиентов более старшего возраста снижались более выражено, чем у более молодых реципиентов с исходной рСКФ ≥ 60 мл/мин/1,73 м². Различия между подгруппами достигли статистической значимости к 3-му месяцу после конверсии ИС. В то же время в подгруппе реципиентов с исходной рСКФ < 60 мл/мин/1,73 м² также видна тенденция к более значительному улучшению показателей рСКФ в подгруппе более молодых реципиентов, но статистически значимых показателей различия между

подгруппами не достигают во всех точках оценки. Максимальные различия между подгруппами более молодых и старших реципиентов также выявляются к 3-му месяцу с момента конверсии ИС.

ОБСУЖДЕНИЕ

В Московском центре трансплантации печени ЭВР в качестве одного из компонентов поддерживающей ИС применяется с 2009 г. в рамках протокола CRAD2304 и с 2010 г. – в рамках рутинной клинической практики. Опыт применения ЭВР у реципиентов печени в нашем Центре является наибольшим в России. В наших первых публикациях была показана возможность улучшения функции почек у реципиентов печени, получавших ЭВР на фоне минимизации экспозиции ИК [7, 8]. В этих работах было проанализировано 10–24 реципиента. В настоящей публикации ретроспективно проанализировано 215 реципиентов печени, получавших ЭВР в качестве одного из компонентов поддерживающей ИС. На момент написания статьи более 20 реципиентов непрерывно получали ЭВР более 5 лет (максимально – 11 лет), однако, учитывая формат статьи, мы решили ограничиться анализом изменений СКФ в первый год после конверсии ИС.

Таблица 5

Средние значения прироста рСКФ по отношению к исходному уровню в зависимости от сроков конверсии ИС

Mean increase in eGFR from baseline depending on ISxC timing

Прирост к месяцу после конверсии ИС	Ранняя конверсия (<2 мес. после ТП)		Средняя конверсия (2–12 мес. после ТП)		Поздняя конверсия (>12 мес. после ТП)		p (между ранней и поздней КИС)
	n	M (SD), мл/мин/1,73 м ²	n	M (SD), мл/мин/1,73 м ²	n	M (SD), мл/мин/1,73 м ²	
К 1 мес.	82	15,9 (20,2)	19	11,9 (10,3) [†]	10	7,3 (8,0)	>0,1
К 3 мес.	71	22,3 (20,6)	16	19,7 (15,7) [†]	13	10,1 (8,7)	0,039
К 6 мес.	53	23,5 (20,0)	14	13,0 (11,5) [†]	12	10,4 (8,1)	0,03
К 12 мес.	39	19,0 (18,6)	11	12,1 (18,6) [†]	10	12,8 (15,0)	>0,1

[†] – различия между группами не значимы (p > 0,01).

[†] – differences between groups are insignificant (p > 0.01).

Таблица 6

Средние значения рСКФ на момент конверсии ИС и прироста рСКФ по отношению к исходному уровню в зависимости от возраста реципиентов

Mean eGFR at the time of ISxC and increase in eGFR from baseline, depending on recipient age

рСКФ, M (SD), мл/мин/1,73 м ²	Исходная рСКФ ≥ 60 мл/мин/1,73 м ²			Исходная рСКФ < 60 мл/мин/1,73 м ²		
	Возраст		p	Возраст		p
	≤ 53 лет	> 53 лет		≤ 53 лет	> 53 лет	
Исходная рСКФ	88,7 (23,9)	84,3 (18,4)	>0,1	36,3 (13,6)	33,8 (13,2)	>0,1
Прирост к 1 мес.	-1,8 (24,6)	-14,3 (20,6)	>0,05	15,2 (17,7)	13,6 (18,8)	>0,1
Прирост к 3 мес.	-6,0 (22,2)	-15,1 (18,7)	<0,05	24,3 (22,5)	16,2 (13,8)	>0,05
Прирост к 6 мес.	-6,1 (22,5)	-12,9 (16,6)	>0,05	22,9 (21,6)	16,7 (14,0)	>0,1
Прирост к 12 мес.	-12,4 (17,8)	-11,0 (20,9)	>0,1	17,6 (19,1)	15,9 (14,8)	>0,05

Прямые методы измерения СКФ в повседневной клинической практике трудно применимы. Для оценки СКФ у пациентов с ХБП было разработано несколько формул, таких как формула Кокрофта–Голта [9] и формулы, полученные по результатам исследования «Изменения диеты при болезни почек» (MDRD) [6, 10]. Применимость расчета СКФ по формулам Кокрофта–Голта и MDRD была подтверждена на большой когорте реципиентов печени, причем формула MDRD (в том числе включающая только 4 переменные) оказалась более точной, чем формула Кокрофта–Голта [11].

Наиболее частыми показаниями к включению ЭВР в режим поддерживающей ИС у реципиентов печени являются нарушение функции почек и профилактика рецидива ГЦР (либо попытка улучшить течение рецидива ГЦР после ТП). Соответственно, часть реципиентов на момент КИС имеет нормальную рСКФ. В рамках рутинной клинической практики нами было отмечено, что изменения рСКФ у реципиентов с исходно нормальной и нарушенной функцией почек после КИС носят разнонаправленный характер, поэтому объединение этих реципиентов в одну группу для анализа приводит к нивелированию изменений рСКФ. Проведенный нами анализ не только подтвердил эту гипотезу, но и позволил выявить ряд закономерностей.

К настоящему времени в мире накоплен значительный опыт применения ЭВР у реципиентов печени, опубликовано большое число работ, ретроспективно оценивающих результаты рутинной клинической практики. Для обсуждения наших результатов мы выбрали несколько публикаций, с наименьшей, по нашему мнению, возможностью систематических ошибок. Одной из таких работ является статья Lee et al. (2020), которые проанализировали объединенный пул реципиентов печени ($n = 772$), включенных в клинические испытания CRAD2304 и CRAD2307 [12]. Авторы приводят результаты анализа на 24-й месяц после рандомизации. Наш анализ ограничивается 12 месяцами. Кроме того, Lee et al. объединяют в одну подгруппу реципиентов с исходной рСКФ >90 и $60\text{--}89$ мл/мин/1,73 м², расценивая показатели рСКФ >60 мл/мин/1,73 м² как нормальные. В нашем исследовании изменения рСКФ в этих подгруппах отличались в первые 12 месяцев после КИС.

Нами показано, что у реципиентов с исходно нормальной функцией почек через год после КИС наступает снижение рСКФ, как и в общей популяции реципиентов печени, получающих стандартные дозы ИК. По сообщению Lee et al., из 229 реципиентов с исходной рСКФ ≥ 60 мл/мин/1,73 м², получавших ЭВР на фоне сниженной экспозиции такролимуса, через 24 месяца после рандомизации рСКФ ≥ 60 мл/мин/1,73 м² сохранялась у 189 (82,5%) реципиентов. Эти результаты хорошо коррелируют с нашими.

Через 12 мес. после КИС рСКФ ≥ 60 мл/мин/1,73 м² сохранялась у 90% наших реципиентов с исходными значениями рСКФ, соответствующими ХБП 1/2.

Согласно Lee et al., снижение рСКФ наблюдалось как в группе реципиентов, получавших стандартные дозы такролимуса, так и в группе реципиентов после КИС. Однако в подгруппе реципиентов с исходно нормальной и незначительно нарушенной рСКФ (≥ 60 мл/мин/1,73 м²), получавших ЭВР, снижение средней рСКФ к 24-му месяцу после рандомизации было менее выраженным по сравнению с аналогичной подгруппой реципиентов, получавших стандартные дозы такролимуса ($-12,82$ и $-17,67$ мл/мин/1,73 м², $p = 0,009$). Снижение рСКФ у наших реципиентов с исходно нормальной рСКФ через 12 мес. после КИС составило $-20,4$ мл/мин/1,73 м² (табл. 3), однако при объединении с реципиентами с исходной рСКФ в диапазоне $60\text{--}89$ мл/мин/1,73 м² разница между медианами оказалась $-8,6$ мл/мин/1,73 м², что сопоставимо с результатами, сообщенными Lee et al. ($-12,82$ мл/мин/1,73 м²) [12].

В отличие от Lee et al., выделявшими и анализировавшими подгруппу реципиентов с СКФ ≥ 60 мл/мин/1,73 м², мы анализировали подгруппы реципиентов с рСКФ >90 мл/мин/1,73 м² и $60\text{--}89$ мл/мин/1,73 м² по отдельности. Мы обнаружили, что после КИС характер изменений функции почек в этих подгруппах реципиентов различен. В подгруппе реципиентов с исходной ХБП-2 рСКФ практически не менялась на протяжении 12 месяцев после КИС. Похожие изменения рСКФ наблюдались нами в подгруппе из 35 реципиентов с исходной рСКФ $45\text{--}59$ мл/мин/1,73 м² (рис. 3, 4). У 42% реципиентов с исходной ХБП-3А наблюдалось улучшение функции почек через год после КИС, вплоть до полной ее нормализации у 17% реципиентов. Lee et al. также сообщают об увеличении рСКФ до уровня, превышающего 60 мл/мин/1,73 м², у 25 (51%) из 49 проанализированных реципиентов, получавших ЭВР, у которых исходная СКФ соответствовала ХБП-3А, что хорошо коррелирует с нашими результатами.

Наиболее существенное улучшение медианы рСКФ наблюдалось нами у больных со значительно нарушенной функцией почек (ХБП-3–5), причем чем ниже были показатели рСКФ на момент КИС, тем выше был прирост медианы рСКФ к 12-му месяцу наблюдения. При выделении этой подгруппы мы испытали некоторые сложности с определением порога отсечения (60 или 45 мл/мин/1,73 м²), при котором положительная динамика рСКФ становится отчетливо выраженной (ср. табл. 3 – порог отсечения 60 мл/мин/1,73 м²; и рис. 4 – порог отсечения 45 мл/мин/1,73 м²). В подгруппе реципиентов с исходной рСКФ $45\text{--}59$ мл/мин/1,73 м² наблюдалась тенденция к увеличению медианы рСКФ, изменения достигли уровня статистической значимости к 3-му месяцу

после КИС (52,7 и 60,0 мл/мин/1,73 м² соответственно, $p < 0,01$), но через 12 месяцев наблюдения медиана рСКФ вновь несколько снижалась (58,8 мл/мин/1,73 м², $p > 0,05$).

Мы не выявили влияния пола и характера ИК на изменения рСКФ в нашей популяции реципиентов. Lee et al. включили в анализ значительно большее число характеристик (орган от живого и посмертного донора, причину ТП, расу, наличие сахарного диабета, пол и возраст донора), однако, как и в нашем случае, статистически значимо влияли на увеличение рСКФ только два фактора: исходная рСКФ и возраст реципиента.

Нарушение функции почек развивается у реципиентов печеночного трансплантата в различные сроки. По результатам исследования TRY, уже через месяц после трансплантации печени расчетная скорость клубочковой фильтрации оставалась в пределах нормальных значений только у 29,3% реципиентов с исходной рСКФ более 90 мл/мин/1,73 м² [13]. При более длительном наблюдении доля таких реципиентов продолжала снижаться, составляя к году – 14,3%, а к 5 годам после ТП – только 10,5% от реципиентов с исходно нормальной рСКФ.

Мы показали, что проведение конверсии ИС в ранние сроки после ТП приводило к более выраженному улучшению рСКФ. Причем различия в увеличении рСКФ между подгруппами реципиентов, которым конверсия ИС была проведена в первые 2 месяца после ТП, и после 12 месяцев после ТП были особенно выражены к 3–6 месяцам с момента конверсии ИС. Bilbao et al. (2015) также сообщают, что у реципиентов с нарушенной функцией почек, которые начали прием эверолимуса в отдаленные сроки (после первого года после ТП), улучшение СКФ не происходит, или, улучшившись к 3–6 месяцам, СКФ вновь ухудшалась к 12 месяцам после КИС. При проведении КИС в первые 12 месяцев после ТП улучшение СКФ было более значительным [14]. Мы, как и группа исследователей, не смогли выявить различий между особенно ранней КИС (первые 3 месяца после ТП) по сравнению с проведением КИС в более отдаленные сроки (в течение следующих 9 месяцев), но отметили максимальные значения рСКФ через 3–6 месяцев с момента КИС [15]. Нам не удалось найти возможного объяснения такой динамики показателей рСКФ после КИС, но о ней сообщают и другие исследователи. В регистрационном клиническом испытании 2304 различия в СКФ между группами выявлялись очень быстро, уже через месяц после рандомизации, при этом полное разграничение между группами достигалось к 4-му месяцу терапии. К этому же времени относятся максимальные значения рСКФ в группе КИС [5].

ВЫВОДЫ

1. Изменения рСКФ у реципиентов печени, которые получают ЭВР в сочетании со сниженной дозой ИК, зависят от исходного уровня рСКФ и носят разнонаправленный характер.
2. У 60% реципиентов с исходно нормальной рСКФ к концу первого года после конверсии ИС наблюдается ухудшение степени ХБП; снижение рСКФ особенно выражено у реципиентов старшего возраста.
3. Медиана рСКФ в подгруппе реципиентов с исходной ХБП 2 и 3А степени, существенно не изменяется к концу первого года после конверсии ИС. Ухудшение степени ХБП наблюдается не более чем у 10% реципиентов, а улучшение – в 40–62% случаев.
4. В подгруппе реципиентов с выраженным снижением рСКФ на момент конверсии ИС через 12 месяцев наблюдалось быстрое (в течение месяца) улучшение функции почек; увеличение медианы рСКФ было тем более значимо, чем тяжелее функция почек была нарушена исходно.
5. Проведение конверсии ИС в ранние сроки после ТП приводило к более выраженному улучшению рСКФ. Максимальные изменения рСКФ наблюдались к 3–6 месяцам после конверсии ИС.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Ojo AO et al. Chronic renal failure after transplantation of a nonrenal organ. *The New England journal of medicine*. 2003; 349 (10): 931–940.
2. Gijzen VM et al. Tacrolimus-induced nephrotoxicity and genetic variability: a review. *Ann Transplant*. 2012; 17 (2): 111–121.
3. Ader JL, Rostaing L. Cyclosporin nephrotoxicity: pathophysiology and comparison with FK-506. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 1998; 7 (5): 539–545.
4. Jeng LB et al. Efficacy and safety of everolimus with reduced tacrolimus in living-donor liver transplant recipients: 12-month results of a randomized multicenter study. *Am J Transplant*. 2018; 18 (6): 1435–1446.
5. Saliba F et al. Renal function at two years in liver transplant patients receiving everolimus: results of a randomized, multicenter study. *Am J Transplant*. 2013; 13 (7): 1734–1745.
6. Levey AS et al. Using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate. *Ann Intern Med*. 2006; 145 (4): 247–254.
7. Хубуття МШ и др. Длительное применение эверолимуса в качестве одного из компонентов иммуносупрессивной терапии у реципиентов печени. *Трансплантология*. 2013 (2): 23–27. *Khubutiya MSh i dr. Dlitel'noe primeneniye everolimusa v kachestve odnogo*

DOI: 10.15825/1995-1191-2021-4-42-46

PATTERN OF MENSTRUAL CYCLE AFTER KIDNEY TRANSPLANT IN REPRODUCTIVE WOMEN

M.T. Khan¹, R. Hamid¹, Sh. Rashid², E. Jahan², N. Lal¹, R. Ishtiaq¹

¹ Renal Transplant Unit, National Institute of Solid Organ and Tissue Transplantation, Dow University Hospital, Karachi, Pakistan

² Karachi Medical and Dental College, Karachi, Pakistan

Background. In reproductive women, transplant disturbs the menstrual cycle pattern. The two major conditions usually encountered are amenorrhea and menorrhagia. **The objective** of the study was to assess the pattern of menstrual cycle after kidney transplant in reproductive women. **Materials and methods.** This cross-sectional study was carried out in a public sector hospital of Karachi, Pakistan. A total 69 patients of reproductive age were included who underwent living kidney donor transplant for more than a year ago. Women having genital tract infection, using hormonal treatment, organic cause of genital tract, clotting disorder and severe cardiac and/or peripheral vascular disease were excluded. Frequency and percentages were calculated for demographic characteristics. Correlation and association analysis was calculated for type of menstruation with menstrual cycle pattern. A P-value less than 0.05 was considered statistically significant. **Results.** Majority of female included in the study aged between 35–39 years (36, 52.2%). The most frequent menstrual disturbance observed was heavy menstrual bleeding (22, 31.9%) and amenorrhea (21, 30.4%). Only 2.9% cases showed normal menstrual pattern. The cross tabulation indicated that 26.1% patients had amenorrhea, 24.6% had oligomenorrhea and 31.9% had menorrhagia. The Durbin–Watson value of 0.656 indicated a strong positive relationship between menstruation cycle pattern (dependent variable) and type of menstruation, marital status, donor’s age, children and living location of the patients (independent variables). **Conclusion.** From the result of the present study, it is concluded that the reproductive age women have shown a disturbed pattern of menstrual cycle after kidney transplant. The major observation was that such patients reported amenorrhea, menorrhagia, oligomenorrhea and hypomenorrhea.

Keywords: Reproductive Women, Amenorrhea, Oligomenorrhea, Menorrhagia, Renal Transplant.

ОСОБЕННОСТИ МЕНСТРУАЛЬНОГО ЦИКЛА ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА

M.T. Хан¹, Р.Б. Хамид¹, Ш. Рашид², Э. Джахан², Н. Лал¹, Р. Иштиак¹

¹ Отделение почечной трансплантации, Национальный институт трансплантации солидных органов и тканей, Университетская больница Дау, Карачи, Пакистан

² Медицинский и стоматологический колледж Карачи, Карачи, Пакистан

Актуальность. У женщин репродуктивного возраста трансплантация нарушает характер менструального цикла. Обычно встречаются два основных состояния – аменорея и гиперменорея. **Цель** исследования – оценить характер менструального цикла после трансплантации почки у женщин репродуктивного возраста. **Материалы и методы.** Настоящее одномоментное исследование проводилось в государственной больнице в г. Карачи, Пакистан. Всего в исследование было включено 69 пациенток репродуктивного возраста, перенесших трансплантацию почки от живого донора более года назад. Исключались женщины с инфекцией половых путей, принимающие гормональные препараты, имеющие органические причины заболевания половых путей, нарушения свертываемости крови и тяжелые заболевания сердца и/или периферических сосудов. Для исследуемых параметров рассчитывали частоту и процентное соотношение. Проводили анализ корреляции и ассоциации типа менструации с длительностью менструального цикла. Значение $p < 0,05$ считалось статистически значимым. **Результаты.** Возраст большинства женщин, включенных

Corresponding author: Muhammad Tassaduq Khan. Renal Transplant Unit, National Institute of Solid Organ and Tissue Transplantation, Dow University Hospital, Karachi, Pakistan.
Cell: +92 335 2797755. E-mail: muhammad.tassaduq@duhs.edu.pk

в исследование, составлял 35–39 лет (36; 52,2%). Наиболее частыми нарушениями менструального цикла были обильные менструальные кровотечения (22; 31,9%) и аменорея (21; 30,4%). Менструации были нормальными только в 2,9% случаев. Кросс-табуляция показала, что у 26,1% развивалась аменорея, у 24,6% – олигоменорея и у 31,9% – гиперменорея. Значение коэффициента Дурбина–Уотсона (0,656) указывает на сильную положительную связь между характером менструального цикла (зависимая переменная) и типом менструации, семейным положением, возрастом донора, наличием детей и местом проживания пациенток (независимые переменные). **Выводы.** По результатам настоящего исследования можно сделать вывод, что у женщин репродуктивного возраста после трансплантации почки нарушался менструальный цикл. Основное нарушение заключалось в том, что у таких пациенток отмечались аменорея, гиперменорея, олигоменорея и гипоменорея.

Ключевые слова: женщины репродуктивного возраста, аменорея, олигоменорея, гиперменорея, трансплантация почки.

INTRODUCTION

Chronic kidney disease (CKD) is a major global health problem in about 11–17% [1]. Globally, about 37% of the CKD patients get kidney transplantation [2]. In CKD, other organ functions are also highly affected. In females, irregular pattern of menstruation has been reported in 66% to 80% of the women, leading to either amenorrhea, polymenorrhea, oligomenorrhea or heavy menstrual bleeding [3–6]. In the end stage renal disease (ESRD), the pulsatile secretion of gonadotropin releasing hormone (GnRH) is affected, eventually results in loss of release of luteinizing hormone (LH) and causing anovulation [7–9]. After kidney transplant, immunosuppressive therapy resumes ovarian function in approximately 73.9% in about one year time [10, 11]. There is little information in the literature about changing menstrual patterns after kidney transplantation. The aim of this study was to observe the post-transplant menstrual pattern in women in our local population.

MATERIALS AND METHODS

This cross-sectional study was carried out in a public sector hospital of Karachi, Pakistan during January 2018 to April 2021. Ethical considerations were followed according to Helsinki Declaration. Patients were enrolled using convenient sampling after their written informed consent. They were properly briefed about the study and were assured that their identity will remain confidential to all other than the researchers themselves. A total 69 patients of reproductive age were included who underwent living kidney donor transplant for more than a year ago. Women having genital tract infection, using hormonal treatment, organic cause of genital tract, clotting disorder and severe cardiac and/or peripheral vascular disease were excluded. A standardized proforma for data collection was developed. Data including age, marital status, number of children, living location of the patients and types of menstruation and menstruation cycle pattern were recorded via face to face interview by a research personnel. Types of menstruation was set as independent variables, while menstruation cycle pattern was defined

as dependent variable. Menstrual pattern were classified into polymenorrhea <21 days, normal (22–35 days) and oligomenorrhea >35 days. Data was entered and analyzed using Statistical Package for Social Sciences (SPSS) version 20. Frequency and percentages were calculated for demographic characteristics. Correlation and association analysis was calculated for type of menstruation with menstrual cycle pattern. A *P*-value less than 0.05 was considered statistically significant.

RESULT

The demographic characteristics of study participants are shown in Table 1. Majority of female included in the study aged between 35–39 years (36, 52.2%). The menstrual cycle pattern is shown in Table 2. The most frequent menstrual disturbance observed was heavy menstrual bleeding (22, 31.9%) and amenorrhea (21, 30.4%). Only 2.9% cases showed normal menstrual pattern. The cross tabulation indicated that 26.1% patients had amenorrhea, 24.6% had oligomenorrhea and 31.9% had menorrhagia. The Durbin–Watson value of 0.656 indicated a strong positive relationship between menstruation cycle pattern (dependent variable) and type of menstruation, marital status, donor's age, children and living location of the patients (independent variables).

DISCUSSION

Kidney transplant is the best kidney replacement treatment for ESRD and poor quality of life. Usually, kidney transplant is recommended when the glomerular filtration rate (GFR) is less than 15 ml/min/1.73 cm². Furthermore, in other words, the kidney transplant is needed when kidney's functional ability is lost about 90%. At this stage, the body's response to medicines is nearly 10% along with further emergence of other diseases. The liver and the reproductive organ are significantly damaged by kidney failure due to high imbalance of electrolytes, fluid retention, occasional urinary output and edema. Edema occurs due to high sodium in circulation with high fluid retention, less vessel filtration leading to development of pressure on heart and brain as well [12].

The peered articles documented that in kidney transplant recipients' anovulation can be completely reversed through a series of medications and the patients can conceive and give birth in a healthy and normal manner. Moreover, start of menstruation cycle is considered as one of the major advantages of kidney transplant women of reproductive age. Patients with stable creatinine level are even more likely to attain normal menstruation cycle within six months [6].

Table 1

Demographic Characteristics of Study Subjects

S. No	Variables	Frequency (n)	Percentage (%)
1.	Age (Years)		
	20–24	01	1.4
	25–29	05	7.2
	30–34	24	34.8
	35–39	36	52.2
	40 years and above	03	4.3
2.	Marital Status		
	Unmarried	02	2.9
	Married	57	82.6
	Separated / Divorced	10	14.5
3.	Parity		
	Nulliparous	09	13.0
	1–2	39	56.5
	3–4	18	26.1
	>4	03	4.3
4.	Residence		
	Karachi	27	39.1
	Sindh	21	30.4
	Punjab	07	10.1
	KPK	12	17.4
	Baluchistan	02	2.9
5.	Duration of Menses		
	>21 days	03	4.3
	21–45 days	48	69.6
	<45 days	18	26.1
6.	Menstrual Pattern		
	Normal	02	2.9
	Amenorrhoea	21	30.4
	Oligomenorrhoea	17	24.6
	Hypomenorrhoea	07	10.1
	Menorrhagia	22	31.9

On the other hand, high creatinine level takes time, either a year or two to restore normal ovulation. Furthermore, in women of reproductive age, the kidney disease primarily cause abnormal ovarian function. The level of irregularity of normal hypothalamus pituitary gonadal axis is dependent on the magnitude of kidney disorder [13].

In normal health condition, the LH and follicle stimulating hormone (FSH) are metabolized by liver and kidneys. But, in case of renal disease, primarily at last stage, these hormones get raised in the bloodstream. The kidney transplantation improves metabolism of LH and FSH. Furthermore, at post kidney transplantation, usually Rapamycin inhibitors are given that assist in normalizing these reproductive hormones to restore the ovulation cycle [14].

The most frequent menstrual disturbance observed in present study was oligomenorrhoea and amenorrhoea. It could be due to hormonal imbalance in pre-kidney transplant phase in reproductive women. This elevated hormone prolactin occurs due to incrimination of urine wastes in blood. The kidney transplantation improves the GFR, restoring prolactin metabolism and safely eliminating the end product through urine. It has also been found that prolactin secretion is highly sensitive and is largely affected by the daily life stresses. Besides, the restoration of prolactin and testosterone level also gets normal in post-transplant phase [15].

Though menstruation is a part of normal reproductive cycle of female, it plays a significant role in women's health and easily disturbed by disease processes. It can affect both physical and psychological health. Menstrual pattern variation is frequently observed among female with CKD and after kidney transplant. The pattern of menstrual periods after kidney transplant is irregular and women experience bleeding mostly after 16 days with more than 20 ml of bleeding. Due to decreased progesterone level with high level of FSH, LH and estrogen, this condition is usually experienced by women mostly after 16 days. Our study results correlates with this finding. The hormonal irregularities shortens the luteal phase. The cycle is continued for more than 7 days. The overall prevalence of menstrual disturbances in reproductive women in CKD is reportedly 64.2% [16]. In our study, overall menstrual disturbances was found to be 69.6%.

Table 2

Association between Menstrual Pattern and Type of Menstruation (P-value <0.0001)

S. No	Menstrual Pattern	Amenorrhoea	Hypomenorrhoea	Normal	Oligomenorrhoea	Menorrhagia
1.	Normal (21–35 days)	3 (4.3%)	0	0	0	0
2.	Short cycle (>21 days)	18 (26.1%)	7 (10.1%)	2 (2.9%)	17 (24.6%)	4 (5.8%)
3.	Longer (<35 days)	0	0	0	0	18 (26.1%)
Total		21 (30.4%)	7 (10.1%)	2 (2.9%)	17 (24.6%)	22 (31.9%)

Our findings are different from others. One study showed no difference between bleeding pattern before and after transplantation [17]. Another case-control study showed regular menstrual cycle in 72.7%. This result did not correlate with our findings and this might be due to data collection which was done after 1–5 years post-transplantation. Thus, the duration was long as compared to our study [18].

Usually, after six months of kidney transplantation, the normal ovarian cycle restoration occurs. The hormonal therapy reduces the thickness of endometrium with ameliorating the FSH, LH, estrogen and progesterone. The inhibin hormone causes to stop the cycle with 7 days of bleeding of less than 10 ml. Furthermore, it also improves the ovulatory phase that assists in normal formation of endometrium [19]. The cycle is repeated after 24 to 31 days with normal releasing and inhibin pattern. The 5 days of menstruation is with 5 ml to 8 ml blood [20]. The result on cycle length shows 69.6% of the females reported menstrual cycle shorter than 21 days and 26.1% had menstrual cycle longer than 35 days. Earlier studies did show variable results regarding cycle length. The result of the present study showed a significant association between menstrual pattern and type of menstruation (P -value <0.0001).

The findings of our study showed higher incidence of menstrual pattern disturbance. However, our study findings are limited by studying of only clinical symptoms and their relations. Further exploratory research in this regard is needed.

CONCLUSION

From the result of the present study, it is concluded that the reproductive age women have shown a disturbed pattern of menstrual cycle after kidney transplant. The major observation was that such patients reported amenorrhea, menorrhagia, oligomenorrhea and hypomenorrhea. Adopting healthy life style is of utmost importance and can significantly reduce the number of affected individuals and burden of this underestimated disease.

We thank to all patients participating in the study, without whom this study would not have been possible.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Sarada SG, Ramalakshmi S. Menstrual disorders in chronic kidney disease: causes and management. *Int J of Clinic Obstet and Gynaecol.* 2020; 4 (2): 353–358.
2. Nastasi AJ, McAdams-DeMarco MA, Schrack J, Ying H, Olorundare I, Warsame F et al. Pre-kidney transplant lower extremity impairment and post-kidney transplant mortality. *American Journal of Transplantation.* 2018 Jan; 18 (1): 189–196. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/ajt.14430>.
3. Lin C-T, Liu X-N, Xu H-L, Sui H-Y. Menstrual Disturbances in Premenopausal Women with End-Stage Renal Disease: A Cross-Sectional Study. *Med Princ Pract.* 2016; 25: 260–265. doi: 10.1159/000444879.
4. Fayed A, Soliman A, Naguib M, Soliman M, Salaheldin M. Ovarian reserve in an Egyptian cohort with end-stage kidney disease on hemodialysis and after successful kidney transplantation: a prospective study. *International urology and nephrology.* 2019 Apr; 51 (4): 737–743. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11255-019-02089-2>.
5. Sikora-Grabka E, Adamczak M, Kuczera P, Wiecek A. Serum sex hormones concentrations in young women in the early period after successful kidney transplantation. *Endokrynologia Polska.* 2018; 69 (2): 150–155. https://journals.viamedica.pl/endokrynologia_polska/article/view/51921.
6. Schmidt E, Pachtman SL, Diedrich JT. Contraception in Chronic Kidney Disease and Renal Transplantation. In *Obstetric and Gynecologic Nephrology 2020* (pp. 225–243). Springer, Cham. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-25324-0_16.
7. Sarkar M, Bramham K, Moritz MJ, Coscia L. Reproductive health in women following abdominal organ transplant. *American Journal of Transplantation.* 2018 May; 18 (5): 1068–1076. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/ajt.14697>.
8. Wiles KS, Nelson-Piercy C, Bramham K. Reproductive health and pregnancy in women with chronic kidney disease. *Nature Reviews Nephrology.* 2018 Mar; 14 (3): 165. <https://www.nature.com/articles/nrneph.2017.187.pdf?origin=ppub>.
9. Serret-Montaya J, Zurita-Cruz JN, Villasís-Keever MA, Aguilar-Kitsu A, del Carmen Zepeda-Martinez C, Cruz-Anleu I et al. Hyperprolactinemia as a prognostic factor for menstrual disorders in female adolescents with advanced chronic kidney disease. *Pediatric Nephrology.* 2020 Jun; 35 (6): 1041–1049. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00467-020-04494-7>.
10. Ashuntantang GE, Garovic VD, Heilberg IP, Lightstone L. Kidneys and women's health: key challenges and considerations. *Nature reviews Nephrology.* 2018 Mar; 14 (3): 203. <https://www.nature.com/articles/nrneph.2017.188.pdf?origin=ppub>.
11. Chandra A, Midtvedt K, Åsberg A, Eide IA. Immunosuppression and reproductive health after kidney transplantation. *Transplantation.* 2019 Nov 1; 103 (11): e325–e333. https://journals.lww.com/transplantjournal/FullText/2019/11000/Immunosuppression_and_Reproductive_Health_After.9.aspx.
12. Piotti G, Gandolfini I, Palmisano A, Maggiore U. Metabolic risk profile in kidney transplant candidates and recipients. *Nephrology Dialysis Transplantation.* 2019 Mar 1; 34 (3): 388–400. <https://academic.oup.com/ndt/article-abstract/34/3/388/5003174>.

13. Bonthuis M, Groothoff JW, Ariceta G, Baiko S, Battellino N, Bjerre A et al. Growth patterns after kidney transplantation in European children over the past 25 years: an ESPN/ERA-EDTA registry study. *Transplantation*. 2020 Jan 1; 104 (1): 137–144. https://journals.lww.com/transplantjournal/fulltext/2020/01000/Growth_Patterns_After_Kidney_Transplantation_in.27.aspx.
14. Schmitz R, Fitch ZW, Xu H, Ghali A, Mehta AK, Gulasch A, Kirk AD. Kidney transplantation using alemtuzumab, belatacept, and sirolimus: Five-year follow-up. *American Journal of Transplantation*. 2020 Dec; 20 (12): 3609–3619. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/ajt.16121>.
15. Lin C-T, Liu X-N, Xu H-L, Sui H-Y. Menstrual Disturbances in Premenopausal Women with End-Stage Renal Disease: A Cross-Sectional Study. *Med Princ Pract*. 2016; 25: 260–265. doi: 10.1159/000444879.
16. Kudrytskaya A, Doronina O, Kalachik O. Aspects of reproductive state in women after kidney transplantation. In 22nd European Congress of Endocrinology. 2020 Aug 21 (Vol. 70). BioScientifica. <https://www.endocrine-abstracts.org/ea/0070/ea0070ep403>.
17. Karyalcin R, Genc V, Oztuna D, Huseynova N, Ercoz S. Gynecologic symptoms and sexual function in female kidney allograft recipients. *Transplant proc*. 2010 Sep; 42 (7): 2551–2555.
18. Pietrzak B, Wielogos M, Kamniski P, Jabiry-Zieirwicz Z, Bobrowska K. Menstrual cycle and sex hormone profile in kidney transplanted women. *NeuroEndocrinol Lett*. 2006 Feb-Apr; 27 (1–2).
19. Laguerre M, Bouvier N, Guleryuz K, Doerfler A, Parienti JJ, Ait Said K, Tillou X. Sexual Dysfunction Improvement after Kidney Transplantation: A Prospective Study in Men and Women. *International Journal of Sexual Health*. 2020 Nov 13: 18 <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/19317611.2020.1842575>.
20. Serret-Montaya J, Zurita-Cruz JN, Villasís-Keever MA, Aguilar-Kitsu A, del Carmen Zepeda-Martinez C, Cruz-Anleu I et al. Hyperprolactinemia as a prognostic factor for menstrual disorders in female adolescents with advanced chronic kidney disease. *Pediatric Nephrology*. 2020 Jun; 35 (6): 1041–1049. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00467-020-04494-7>.

Статья поступила в редакцию 7.08.2021 г.
The article was submitted to the journal on 7.08.2021

DOI: 10.15825/1995-1191-2021-4-47-61

АНТИТЕЛОПОСРЕДОВАННОЕ ОТТОРЖЕНИЕ ТРАНСПЛАНТАТА СЕРДЦА

*В.С. Кван¹, Н.Н. Колоскова¹, Ю.А. Качанова¹, Н.Н. Сайфуллина¹, А.Ю. Гончарова¹,
Л.Б. Круглый¹, А.О. Шевченко¹⁻³*

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

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

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

Роль антителоопосредованного отторжения в прогнозе выживаемости реципиентов сердца изучается в клинической трансплантологии более 20 лет. Данный патологический процесс выступает значимым фактором риска развития сердечной недостаточности и васкулопатии трансплантата. Антителоопосредованное отторжение является результатом активации гуморального иммунного звена и выработки донор-специфических антител, которые вызывают повреждение миокарда за счет системы комплемента. Наличие донор-специфических антител связано с более низкой выживаемостью аллотрансплантата. Лечение антителоопосредованного отторжения должно проводиться с учетом степени отторжения и наличия или отсутствия дисфункции трансплантата. Основным принципом лечения заключается в ингибировании системы гуморального иммунитета на разных уровнях. В настоящее время в мировой клинической практике достигнуты значительные успехи в изучении данного вопроса, однако требуются дальнейшие исследования для определения и разработки оптимальных схем лечения пациентов с гуморальным отторжением трансплантата сердца.

Ключевые слова: антителоопосредованное (гуморальное) отторжение, дисфункция трансплантата сердца, донор-специфические антитела, трансплантация сердца.

ANTIBODY-MEDIATED REJECTION IN HEART TRANSPLANTATION

*V.S. Kvan¹, N.N. Koloskova¹, Yu.A. Kachanova¹, N.N. Sayfullina¹, A.Yu. Goncharova¹,
L.B. Krugly¹, A.O. Shevchenko¹⁻³*

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

² Sechenov University, Moscow, Russian Federation

³ Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

The role of antibody-mediated rejection in predicting survival among heart recipients has been studied in clinical transplantology for over 20 years. This condition is a significant risk factor for heart failure and graft vasculopathy. Antibody-mediated rejection results from activation of the humoral immune system and production of donor-specific antibodies that cause myocardial injury through the complement system. The presence of donor-specific antibodies is associated with lower allograft survival. Treatment of antibody-mediated rejection should take into account the rejection category and the presence or absence of graft dysfunction. The main principle of treatment is to suppress humoral immunity at different levels. World clinical practice has made significant inroads into the study of this issue. However, further research is required to identify and develop optimal treatment regimens for patients with humoral rejection in cardiac transplantation.

Keywords: antibody-mediated (humoral) rejection, graft dysfunction, donor-specific antibodies, heart transplantation.

Для корреспонденции: Кван Вера Сергеевна. Адрес: 123182, ул. Щукинская, д. 1.
Тел. (966) 326-28-24. E-mail: vergy2008@mail.ru

Corresponding author: Vera Kvan. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation.
Phone: (966) 326-28-24. E-mail: vergy2008@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Потребовалось около 25 лет для признания антителоопосредованного отторжения (гуморальное отторжение; AMR) самостоятельным заболеванием, разработки критериев диагностики и схем лечения [1]. Первые сообщения о новом типе отторжения трансплантата сердца при отсутствии лимфоцитарной инфильтрации в биоптатах появились еще в конце 1980-х годов [2], и только в 2003 году в Национальном институте здравоохранения была проведена первая конференция, посвященная этому вопросу [3]. Со временем роль отложения компонентов комплемента в тканях и иммунного повреждения трансплантата сердца все больше возрастала [4].

В 2010 году международным консенсусом ISHLT (Международное общество трансплантации сердца и легких) с участием 67 трансплантологических центров были определены критерии предварительного патологического диагноза AMR и введено понятие бессимптомного гуморального отторжения, наличие которого оказывало влияние на выживаемость пациента и аллографта, были даны рекомендации относительно частоты выполнения эндомикардиальных биопсий, лечения и определены задачи для будущих клинических испытаний [5]. В 2013 году под руководством директора отделения тяжелых сердечных заболеваний Медицинского центра Cedars Sinai, Лос-Анджелес, J.A. Kobashigawa были стандартизированы патологические критерии антителоопосредованного отторжения трансплантата сердца [1], согласно которым AMR начал считаться патологоанатомическим диагнозом независимо от наличия или отсутствия дисфункции трансплантата. Также в документе были обозначены сроки рутинного мониторинга донор-специфических антител.

Для диагностики гуморального отторжения стали требоваться проведение эндомикардиальной биопсии (ЭМБ) с гистологическим исследованием биоптатов, иммунопероксидазный тест и реакция иммунофлюоресценции на компонент комплемента C4d, выполняемые через 2 недели, 1, 3, 6 и 12 месяцев после трансплантации. Наличие отложений комплемента позволяло заподозрить диагноз AMR. Проводился мониторинг циркулирующих донор-специфических антител с помощью твердофазного метода также через 2 недели, 1, 3, 6 и 12 месяцев после трансплантации [1].

Цркулирующие антитела не всегда можно выявить у пациентов с клиническими и патологическими признаками AMR, однако их можно обнаружить у пациентов с бессимптомным течением [6]. Для постановки диагноза антителоопосредованного отторжения требуется наличие клинических проявлений дисфункции трансплантата, морфологических изменений при ЭМБ в виде повреждения микросо-

удов, обусловленного преимущественно отложением компонента комплемента C4d, а также наличие циркулирующих донор-специфических антител. Несмотря на прогностическую важность каждого из этих трех критериев [7], обнаружение хотя бы двух из них требует начала специфического лечения [8].

К первоначальным методам лечения антителоопосредованного отторжения относились пульс-терапия глюкокортикостероидами, плазмаферез и инфузия внутривенных иммуноглобулинов (ВВИГ). Позднее эти методы были дополнены введением ритуксимаба, бортезомиба и антител к компонентам комплемента [3]. Использование базисной иммуносупрессивной терапии такролимусом и микрофенолата мофетиллом оказалось наиболее эффективным для профилактики AMR при наименьшем количестве побочных эффектов [9].

Классификация AMR

Согласно актуальным диагностическим критериям, диагноз AMR устанавливается по данным эндомикардиальной биопсии и классифицируется на степени антителоопосредованного отторжения (pAMR) 0–3 в зависимости от наличия специфических гистологических и иммунопатологических изменений, которые либо присутствуют изолированно – pAMR-1 (предполагаемое гуморальное отторжение), либо в сочетании – pAMR-2 (подтвержденное гуморальное отторжение), и pAMR-3 (тяжелое гуморальное отторжение) [8]. Классификация представлена в табл. 1.

Распространенность

Вследствие большого числа постоянно меняющихся диагностических критериев AMR (в которые были включены как гистопатологические изменения при ЭМБ, так и наличие/отсутствие клинических проявлений), а также различной частоты проводимых скрининговых исследований, распространенность антителоопосредованного отторжения, выявленного при биопсии, значительно варьировала в разных источниках (начиная с 1986 года) – от 3 до 85% [10].

По данным Kfoury et al., распространенность гуморального отторжения к 100-дневному периоду после трансплантации сердца (ТС) составила 85% при использовании в качестве диагностических критериев гистологических изменений и данных реакции иммунофлюоресценции, полученных при выполнении рутинной эндомикардиальной биопсии у 870 реципиентов сердца [11].

В исследование Michaels et al., направленное на изучение гуморального отторжения трансплантата сердца, было включено 600 пациентов. За период наблюдения с июля 1997-го по январь 2001 г. у 56 реципиентов было выявлено антителоопосредованное

отторжение трансплантата сердца по результатам 116 биопсий.

Из этой группы пациентов у 44 (от 4 до 74 лет, 77 ЭМБ) было выявлено изолированное антителоопосредованное отторжение, у 12 пациентов оно сочеталось с клеточным отторжением. Диагноз AMR устанавливался по иммунофлюоресцентным (наличие иммуноглобулина, отложение компонентов комплемента C1q и C3 в капиллярах, или по наличию CD58⁺ клеток при иммунопероксидазном анализе), а также гистологическим критериям (отек интерстиция, микротромбозы). Следует отметить, что несмотря на то, что в исследуемой когорте женщины составляли только 26% от всех пациентов, среди пациентов с гу-

моральным отторжением их доля составила 52% (23 из 44). Кроме того, у женщин отмечалась более высокая распространенность дисфункции трансплантата сердца (65%) [12].

Crespo-Leiro et al. [13], сообщили о распространенности AMR <3% при использовании критериев дисфункции трансплантата и отложения компонента комплемента C4d в капиллярах. При использовании критериев ISHLT 2004 и 2006 гг., включающих, в том числе, дисфункцию трансплантата, серологические признаки наличия донор-специфических антител (ДСА) и признаки отложения компонентов комплемента в капиллярах при ЭМБ, частота AMR составила 3 и 5% соответственно [14].

Таблица 1

Классификация AMR по ISHLT (2011 г.)
ISHLT AMR grading scale (2011)

Степень	Патологические признаки
рAMR 0 AMR отсутствует	Отсутствуют гистологические и иммунологические признаки AMR, донор-специфические антитела не выявляются
рAMR 1 (H+) Гистопатологические признаки AMR	Только гистологические изменения, донор-специфические антитела отсутствуют
рAMR 1 (I+) Иммуногистохимические признаки AMR	Определяется высокий уровень ДСА в сыворотке крови, а также продукты активации компонентов комплемента, фибрин и продукты его деградации
рAMR 2 Подтвержденное AMR	Как гистологические, так и иммунопатологические признаки AMR
рAMR 3 Тяжелое AMR	Интерстициальные кровоизлияния, отек и фрагментация капилляров, некротизирующий васкулит, мононуклеарная инфильтрация миокарда, пикноз ядер и кариорексис. Быстро нарастает сердечная недостаточность и отмечается высокий риск потери трансплантата

Примечание. AMR – антителоопосредованное отторжение; рAMR – степень антителоопосредованного отторжения; ДСА – донор-специфические антитела.

Note. AMR – antibody-mediated rejection; рAMR – pathological antibody-mediated rejection category; ДСА – donor-specific antibody.

Таблица 2

Факторы риска антителоопосредованного отторжения [10, 12, 15]
AMR risk factors [10, 12, 15]

1. Женский пол
2. Наличие донор-специфических антител
3. Повышенный индекс панель-реактивных антител (ПРА)
4. Наличие цитомегаловирусной инфекции по данным серологического исследования
5. Механическая поддержка кровообращения в анамнезе
6. Использование муромонаба-CD3 в качестве индукционной терапии и развитие антител против мышечных моноклональных антител
7. Ретрансплантация сердца
8. Количество беременностей в анамнезе
9. Положительный кросс-матч тест

Факторы риска развития гуморального отторжения

Факторы риска развития антителоопосредованного отторжения представлены в табл. 2.

Следует отметить, что у женщин AMR встречается значительно чаще, чем у мужчин, и его распространенность достигает 50% от общего числа реципиентов сердца, несмотря на то что трансплантация сердца женщинам проводится значительно реже, чем мужчинам.

На настоящий момент выявлена прочная корреляция между наличием циркулирующих антител к лейкоцитарным антигенам человека (анти-HLA) и гистологическими признаками антителоопосредованного отторжения [16, 17].

Патогенез антителоопосредованного отторжения трансплантата

Развитие антителоопосредованного отторжения обусловлено возникновением иммунного ответа реципиента, заключающегося в выработке донор-специфических антител, направленных против лейкоцитарных антигенов человека и других не-HLA антигенов, которые могут экспрессироваться на эндотелии сосудов аллографта [18].

Патологический процесс, инициируемый реакцией антиген–антитело, локализуется преимущественно на эндотелии сосудов аллографта, при этом в одних случаях возможно развитие устойчивости трансплантата к антителоопосредованной реакции, а в других возникает ишемическое повреждение, которое сопровождается диффузным поражением миокарда, дисфункцией трансплантата с развитием сердечной недостаточности, а также болезнью коронарных артерий пересаженного сердца (БКАПС) [4].

ДСА-индуцированное повреждение может протекать без участия системы комплемента. Наиболее мощными активаторами комплемента являются IgG подкласса 3, однако возможно также участие IgG 4, которые часто связываются с IgG 2 в «некомплементирующий комплекс» [19].

Следует отметить, что против HLA эпитопов обычно возникает поликлональная иммунная реакция, в которой участвуют несколько подклассов IgG, что приводит к различным механизмам повреждения аллографта. Таким образом, считавшаяся ранее обязательной связь между AMR и системой комплемента в настоящее время становится предметом дискуссий, так как развитие AMR возможно даже при отсутствии отложения компонентов комплемента в капиллярах [18].

Прогноз

Гуморальное отторжение может приводить к дисфункции трансплантата и повышению смертности реципиентов сердца, а также к повышению частоты развития БКАПС [20].

Clerkin et al. в Колумбийском университете, США провели одноцентровое ретроспективное исследование, в которое были включены 689 пациентов с гуморальным отторжением, выявленным в разные сроки после трансплантации сердца. Более чем у трети пациентов было диагностировано AMR в поздние сроки после операции (в среднем 1084 дня), у остальных реципиентов средний срок возникновения AMR составил 23 дня. Было выявлено, что раннее отторжение коррелирует с более низкой частотой развития дисфункции трансплантата (25,6%) и дальнейший прогноз выживаемости у данной группы пациентов не отличается от реципиентов без гуморального отторжения трансплантата. Напротив,

более чем у половины пациентов с поздним AMR (56%) возникла дисфункция трансплантата. Кроме того, позднее AMR коррелировало с более высокой частотой развития БКАПС (50% в течение 1 года) и более высокой смертностью. Авторы предполагают, что к развитию БКАПС приводит опосредованное антителами повреждение эндотелия и развитие микрососудистого воспаления [21].

В исследовании Michaels et al. гемодинамические нарушения были выявлены у 47% реципиентов. Через год после трансплантации у пациентов с AMR наблюдалась более высокая распространенность БКАПС, чем в контрольной группе (15% против 5%, $p = 0,09$). Через 5 лет у 86% пациентов с AMR была выявлена БКАПС, по сравнению с 22% в контрольной группе) [12, 20].

Выявление антителоопосредованного отторжения аллографта в течение 1 года после трансплантации, поздняя диагностика хронического AMR в сочетании с дисфункцией трансплантата связаны с 50–60% смертностью [22].

ДОНОР-СПЕЦИФИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА

Исследование, проведенное Manfredini et al., показало, что выявление донор-специфических антител служит точным прогностическим маркером антителоопосредованного отторжения, но тем не менее может не иметь клинического значения. Для стратификации риска осложнений AMR и выработки стратегии лечения требуется определение подклассов донор-специфических антител и активности связывания комплемента [18].

Наличие у пациента донор-специфических антител до операции трансплантации сердца – известный фактор риска плохой выживаемости аллографта и реципиента, особенно в первый год после операции [23].

Доказано, что наличие антител к лейкоцитарным антигенам человека в крови реципиентов сердца («гуморальная сенсibilизация») сопровождается повышением частоты острого отторжения трансплантата и более низкой выживаемостью пациентов [24].

Развитие болезни коронарных артерий пересаженного сердца является основной причиной дисфункции трансплантата в долгосрочном периоде (через 5–7 лет) после операции. БКАПС имеет многофакторную природу, с участием как иммунных, так и неиммунных механизмов. При трансплантации сердца часто отмечается несовпадение по HLA-антигенам, из чего следует, что продукция ДСА после трансплантации может вносить вклад в прогрессирование данного заболевания [23].

Выявление возникших *de novo* донор-специфических антител (dnДСА) в мировой клинической практике проводится с помощью твердофазного метода на платформе Luminex®. Для выявления пациентов с

повышенным риском антителоопосредованного отторжения трансплантата используется неинвазивный биомаркер. Универсальность проведения твердофазного метода на платформе Lumindex® заключается не только в стратификации риска и прогнозировании отторжения аллогraftа перед трансплантацией, но и в возможности выполнения скрининговых исследований с целью контроля эффективности проводимой терапии в периоперационном периоде [25].

В настоящее время важную роль в обследовании реципиентов сердца играет выявление HLA-антигенов А, В и DR и измерение степени сенсибилизации к ним. Кроме того, общепринятым считается исследование крови потенциальных реципиентов сердца на наличие циркулирующих антител против HLA-антигенов с целью определения индекса панель-реактивных антител (ПРА). Результат ПРА-теста обычно представляется в процентах панельной реактивности (то есть отношения числа лунок с положительной реактивностью к общему числу лунок $\times 100$). При значительном повышении значения ПРА требуется направленное исследование крови реципиента против лимфоцитов потенциального донора – реакция перекрестного совпадения (кросс-матч).

Показания к лечению сенсибилизированных пациентов перед трансплантацией сердца значительно варьируют. Betkowski et al. из Медицинского центра Университета Сент-Луиса, Миссури, опросили руководителей 65 центров, занимающихся трансплантацией органов в США на предмет применения в этих центрах протоколов исследования ПРА и лечения сенсибилизированных пациентов. Подобное лечение проводилось в 39 из 65 опрошенных центров. Программы лечения включали внутривенную инфузию иммуноглобулинов (21 из 39; 53,8%), плазмаферез (17 из 39; 43,6%), назначение циклофосфамида (11 из 29; 28,2%), микофенолата мофетила (9 из 39; 23,1%) и азатиоприна (1 из 39; 2,6%).

В части протоколов лечение проводилось до трансплантации независимо от индекса ПРА (9 из 39; 23,1%) или непосредственно перед операцией (6 из 39; 15,4%), а в 4 центрах использовался индивидуальный подход к ведению реципиентов (4 из 39; 10,2%). В пяти программах терапия проводилась только сенсибилизированным пациентам, находящимся на механической поддержке кровообращения (МПК).

Аналогично в другом одноцентровом исследовании было предположено, что у реципиентов сердца с предсуществующими Т- и В-лимфоцитарными ПРА = 10%, несмотря на отрицательную реакцию перекрестного совпадения (кросс-матч) к моменту трансплантации, встречаются более ранние и более тяжелые эпизоды отторжения со значительно более низкой выживаемостью [26].

Ретроспективный анализ данных 19 443 реципиентов сердца из регистра UNOS между октябрём 1987 г. и декабрём 1996 г. показал, что повышенное значение ПРА (20%) коррелирует со значительно более высоким риском летального исхода. Риск прогрессивно увеличивается параллельно с индексом ПРА и выше у пациентов, находившихся на механической поддержке кровообращения [24].

Реакцию кросс-матч у реципиентов сердца обычно проводят при наличии повышенного значения предтрансплантационных ПРА. Гуморальная сенсибилизация может возникать вследствие предшествующих гемотрансфузий, беременностей, а также использования механической поддержки кровообращения в качестве «моста» к трансплантации.

В ретроспективном когортном исследовании, проведенном Nwakanma et al., в период с 1 января 2000-го по 31 декабря 2004 г. у первичных реципиентов сердца (все пациенты, которым была выполнена ретрансплантация сердца, были исключены) анализировалась связь между индексом ПРА после трансплантации и три конечные точки: выживаемость пациента, выживаемость аллогraftа, а также развитие отторжения в течение 1 года после трансплантации.

Исследование панель-реактивных антител перед трансплантацией сердца суммарно было проведено у 8160 первичных реципиентов сердца. Все пациенты были разделены на 4 группы: значение ПРА 0% у 6481 (79,4%) пациентов (группа 1), 1–10% у 930 (11,4%, группа 2), 11–25% у 309 (3,8% пациентов, группа 3) и >25% у 440 (5,4% пациентов, группа 4).

Группы пациентов с повышенным значением ПРА отличались более молодым возрастом, большей долей женщин, меньшим индексом массы тела. Также в эти группы входило большее количество пациентов с гемотрансфузионным анамнезом до трансплантации, или имеющих врожденный порок сердца, или длительно находящихся в листе ожидания.

У пациентов с ПРА >25% отмечалось статистически значимое повышение риска отторжения в течение 1 года.

В исследовании Loh et al., включавшем 125 реципиентов сердца, было выявлено, что повышенный индекс ПРА (>25%) ко времени трансплантации может быть фактором риска низкой долговременной выживаемости [27].

Lavee et al., провели когортное исследование 463 реципиентов сердца и обнаружили, что индекс ПРА >10% служит фактором риска отторжения и связанных с ним осложнений, а отрицательный лимфоцитотоксический кросс-матч тест у пациентов с повышенным значением ПРА не снижает риска смерти от острого и хронического отторжения. Помимо этого, была выявлена положительная линейная взаимосвязь между ПРА и продолжительностью эпи-

зодов острого отторжения в первые 3 месяца после трансплантации [28].

Эти данные были подтверждены Kobashigawa et al., которые также выявили, что у пациентов с индексом ПРА >11% к моменту трансплантации отмечались более тяжелые эпизоды отторжения со значительно более низкой выживаемостью пациентов после трансплантации, несмотря на отрицательную реакцию перекрестного совпадения [26]. Кроме того, доля сенсibilизированных пациентов возрастала с повышением частоты применения МПК в качестве «моста» к трансплантации [29].

У сенсibilизированных пациентов с ПРА >25% отмечалось статистически значимое повышение риска отторжения по сравнению с пациентами с ПРА 0%.

Пациенты с ПРА >0% имели более неблагоприятный посттрансплантационный прогноз по сравнению с пациентами без ПРА, в связи с чем требуется их тщательное обследование перед трансплантацией. У пациентов с ПРА >25% риск отторжения особенно высокий, в связи с чем им рекомендовано выполнять реакцию перекрестного совпадения [30].

Анти-HLA к лимфоцитам донора выявляются у 3–11% пациентов во время трансплантации сердца, при этом ДСА, образующиеся *de novo* (преимущественно анти-HLA класса II), развиваются после трансплантации у 10–30% пациентов. Несмотря на то что изолированное выявление ДСА у реципиентов сердца не считается гистологическим критерием диагноза гуморального отторжения, циркулирующие ДСА обнаруживаются почти во всех случаях AMR. Способы лечения пациентов с наличием ДСА до и после трансплантации сердца варьируют, однако в большинстве центров в этом случае проводится плазмаферез или иммуноадсорбция с внутривенной инфузией ритуксимаба и/или иммуноглобулина.

В последние годы отмечается существенное снижение частоты раннего развития отторжения аллографта после ортотопической трансплантации сердца (ТС). В настоящее время только 12% реципиентов сердца требуется лечение отторжения в течение первого года после трансплантации. Целью лечения все чаще становится профилактика антителоопосредованного отторжения – основного фактора риска летального исхода, приводящего к 35–40% смертности в течение 5 лет после трансплантации сердца [31]. Хроническое AMR, часто сочетающееся с быстро прогрессирующей БКАПС, играет важную роль в развитии дисфункции трансплантата [32]. Появляется все больше данных, указывающих на участие донор-специфических антител в ускорении развития БКАПС [7].

ДСА и выживаемость после трансплантации сердца

Получены убедительные доказательства значительного повышения риска потери трансплантата и смертности у реципиентов сердца при наличии ДСА [33]. В исследовании с участием 213 взрослых пациентов (средний период наблюдения 7 лет) общая выживаемость ДСА-положительных пациентов через 5, 10 и 15 лет составила 89,3, 80,3 и 53,6% соответственно, по сравнению с 98,4% через 5 лет и 97,3% через 10 и 15 лет в контрольной группе пациентов без ДСА (во время плановых контрольных визитов обследовали только пациентов, выживших в течение длительного времени) [34]. В этом исследовании не проводилось различий между уровнем предтрансплантационных ДСА и ДСА *de novo*, однако существует очевидное различие в выживаемости у пациентов с ранее существующими или dnДСА.

Reinsmoen et al. оценили исходы у 295 взрослых реципиентов сердца, у 14 из которых ДСА имелись к моменту трансплантации и сохранялись после операции, а у 32 развились ДСА *de novo* [33]. Через 2 года после трансплантации в группе с персистирующими ранее существовавшими ДСА отмечалась 100% выживаемость трансплантата по сравнению с 73% выживаемостью в группе dnДСА.

Clerkin et al. получили сходные результаты при исследовании когорты из 221 последовательно включенного пациента со средним периодом наблюдения 3,5 года [6]. Пациенты, умершие в течение первых 30 дней, не включались в исследование. Наибольшая выживаемость была отмечена у пациентов с ранее существовавшими ДСА и была выше, чем у пациентов без ДСА. У 69 пациентов с dnДСА, напротив, наблюдалась значительно более низкая выживаемость, чем у пациентов без ДСА ($p = 0,027$) (рис. 1).

De novo ДСА

Smith et al. провели анализ 243 взрослых реципиентов сердца с периодом наблюдения 13 лет и выявили значительное влияние dnДСА на риск нежелательных событий: отношение рисков (ОР) смертности составило 3,067 для dnДСА ($n = 57$) по сравнению с пациентами без антител к HLA ($n = 116$). По данным многофакторного анализа, dnДСА повышают риск смертности больше, чем любой другой фактор, как у взрослых реципиентов, так и у детей (табл. 3) [23]. В исследовании Tran et al. пятилетняя выживаемость трансплантата составила 21% при наличии dnДСА по сравнению с 72% у пациентов без ДСА в когорте из 105 педиатрических реципиентов сердца ($p < 0,001\%$) [7].

Имеются ограниченные данные о влиянии сроков развития dnДСА у пациентов с трансплантированным сердцем. Но et al. исследовали антитела к HLA

у 799 реципиентов сердца на основании анализа плановых биопсий, выполненных в течение 15 лет после трансплантации сердца [35]. Не проводилось различий между ДСА и не-ДСА анти-HLA, однако прослеживалась четкая разница в долгосрочной выживаемости пациентов, у которых появились ДСА до 1 года после трансплантации (n = 221) по сравнению с ДСА, возникшими в более позднем периоде (n = 118). Выживаемость составила 52% и 40% соответственно, по сравнению с 70% у пациентов, не имеющих антител (p < 0,05 и p < 0,001 соответственно).

ДСА и васкулопатия трансплантата сердца

Антителоопосредованное отторжение часто встречается у пациентов с БКАПС. Позднее начало или бессимптомное течение гуморального отторжения сопровождается более высоким риском развития БКАПС [36]. Существует вероятность, что ДСА, встречающиеся при гуморальном отторжении, участвуют в развитии васкулопатии трансплантата, более того, изолированно выявленные ДСА могут вызывать прямое повреждение эндотелиальных клеток путем активации и фиксации C4d-компонента комплемента или воздействия на естественные киллеры (НК-клетки) и макрофаги, потенциально способствуя развитию ускоренного прогрессирования атеросклероза [37].

В ретроспективном анализе 213 пациентов Kaszmarek et al., доказали, что БКАПС значительно чаще встречается при длительном наблюдении у пациентов с существовавшими ранее или развившимися *de novo* ДСА. Значительные отличия с пациентами без ДСА появились приблизительно через шесть лет после трансплантации сердца, что отражает прогрессирующую природу данного заболевания [34]. Промежуток времени между развитием ДСА и дисфункцией трансплантата вследствие васкулопатии может составлять многие месяцы или даже годы из-за медленного прогрессирования стенотического поражения артериального русла [38].

Наличие ДСА у сенсibilизированных пациентов

У сенсibilизированных пациентов, ожидающих трансплантацию сердца, отмечается высокая смертность в листе ожидания в связи со сложностью подбора трансплантата, подходящего по реакции перекрестного совпадения. В связи с этим следует применять стратегии лечения пациентов с наличием анти-HLA. Результаты некоторых исследований указывают на сопоставимые показатели выживаемости как сенсibilизированных взрослых, так и детей с положительной реакцией перекрестного совпадения по сравнению с пациентами с отрицательными

результатами теста [39, 40]. Проводилось изучение различных схем лечения, включающих плазмаферез с ритуксимабом или без него, терапию внутривенным иммуноглобулином [41], моноклональными антителами CD52 (алемтузумаб), ингибиторами протеосом

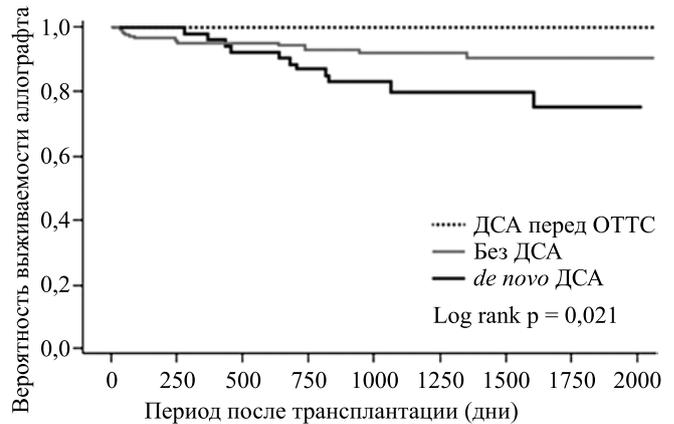


Рис. 1. Выживаемость аллографта без нежелательных событий у реципиентов сердца, включенных в исследование. ДСА – донор-специфические антитела; ОТТС – ортотопическая трансплантация сердца

Fig. 1. Allograft survival without adverse events in heart recipients included in the study. ДСА – donor-specific antibody; ОТТС – orthotopic heart transplantation

Таблица 3

Многофакторный анализ связи между персистирующими *de novo* ДСА (n = 48) и риском смертности у 243 взрослых реципиентов сердца в одноцентровом исследовании. Анти-HLA измерялись ежегодно (максимальный период наблюдения составил 13 лет) [31]

Multivariate analysis of the association between persistent *de novo* DSA (n = 48) and mortality risk in 243 adult heart recipients in a single-center study. Anti-HLA were measured annually (maximum follow-up was 13 years) [31]

Показатель	Отношение рисков	95% ДИ	p
Персистирующие ДСА <i>de novo</i>	4,33	1,92; 9,76	<0,001
Мисс-матч по HLA-DR	2,33	1,08; 5,05	0,032
Возраст донора	1,03	1,00; 1,08	0,26
Гемодинамические нарушения	0,36	1,00; 5,58	0,050
Лечение отторжения к 1 году после ОТТС	0,42	1,83; 0,95	0,038

Примечание. HLA – лейкоцитарные антигены человека; ДСА – донор-специфические антитела; ОТТС – ортотопическая трансплантация сердца.

Note. HLA – human leukocyte antigens; ДСА – donor-specific antibody; ОТТС – orthotopic heart transplantation.

(бортезомиб) или ингибиторами комплемента (экулизумаб) [42]. Тем не менее выбор оптимального предтрансплантационного лечения, направленного на улучшение иммунологического соответствия, остается предметом дискуссий из-за низкокачественных исследований, включающих небольшие когорты пациентов с коротким периодом наблюдения [42].

Остается неясным, когда следует начинать лечение по поводу анти-HLA. Время трансплантации невозможно предсказать, поэтому откладывание лечения до появления донорского сердца потребовало бы очень короткого протокола. С другой стороны, превентивное вмешательство во время нахождения в листе ожидания подвергает пациентов повышенному риску развития инфекции, а также создает возможность для повторного появления анти-HLA до трансплантации.

Как и следовало ожидать, такие сенсibiliзирующие факторы, как ретрансплантация, беременность, гемотрансфузия или острое отторжение (показатель высокого иммунологического ответа), также связаны с развитием высокого уровня dnДСА. Godown et al. непосредственно исследовали факторы риска появления dnДСА в когорте педиатрических реципиентов сердца ($n = 121$), у 40 из которых ДСА появились при среднем периоде наблюдения 4,1 года. При многофакторном анализе четкую корреляцию с развитием ДСА показали только механическая поддержка кровообращения при трансплантации, негроидная раса и смерть донора от огнестрельных ранений [43].

Rafiei et al. провели ретроспективное исследование 196 несенсибилизированных пациентов, в котором оценивали влияние иммуносупрессии на продукцию антител после трансплантации сердца. На фоне индукционной терапии кроличьим анти-тимоцитарным глобулином (кАТГ) доля пациентов, у которых не развились антитела *de novo* через год после операции, была значительно выше (суммарная доза 4,5–7,5 мг/кг) по сравнению с пациентами без кАТГ (89% против 71%, $p = 0,043$) [44]. Предполагается, что механизм действия кАТГ заключается в ингибировании ранее существовавших Т-клеток памяти, реагирующих на донорские антигены, и возможно, апоптозе плазмочитов, продуцирующих ДСА [45].

Тактика лечения реципиентов с наличием ДСА в мировой практике

Barten et al. собрали актуальную информацию о диагностике и стратегиях ведения реципиентов с наличием ДСА в 15 центрах в Германии, Австрии и Швейцарии (включая один специализированный педиатрический центр) (табл. 4). В период с 2006-го по 2016 год в этих центрах было выполнено 3456 трансплантаций сердца. Рутинный мониторинг ДСА после

ТС выполнялся в 80% центров. Первое исследование уровня ДСА проводилось в интервале от 0 до 90 дней после операции, с последующим мониторингом на 3, 6 и 12-й месяц. После 1-го года после трансплантации скрининг уровня анти-HLA проводили реже (каждые 3–12 месяцев). Во всех центрах исследовали уровень ДСА в случае первичной или идиопатической дисфункции трансплантата сердца, в большинстве центров наличие ДСА оценивали при развитии острого отторжения или васкулопатии аллографта. Твердофазный метод на аппарате Luminex[®] использовался повсеместно, реже применялись мониторинг С1q, комплемент-зависимая цитотоксичность и проточная цитометрия. Две трети центров учитывали пороговые значения средней интенсивности иммунофлюоресценции (1000–3000) dnДСА против HLA-антигенов классов I или II при принятии решения о начале лечения [22].

ТАКТИКА ЛЕЧЕНИЯ

На сегодняшний день отсутствует единый стандарт лечения гуморального отторжения трансплантата сердца. Тактика лечения в различных странах значительно варьирует, что обусловлено отсутствием оптимальных протоколов скринингового обследования и лечения [22].

Базовый протокол иммуносупрессии включает различные комбинации следующих препаратов: ингибиторы кальциневрина (циклоспорин или такролимус), антиметаболиты (препараты микофеноловой кислоты, азатиоприн), ингибиторы пролиферативного сигнала (сиролимус или эверолимус) и кортикостероиды (преднизолон, метилпреднизолон) [46].

В США Kobashigawa et al. провели рандомизированное исследование, где оценивали эффективность трех различных схем иммуносупрессивной терапии: 1) циклоспорин, микофенолата мофетил и кортикостероиды; 2) такролимус, микофенолата мофетил и кортикостероиды; 3) такролимус, сиролимус и кортикостероиды. В исследовании приняли участие 334 пациента старше 18 лет. Конечной точкой было либо клеточное отторжение 2R, либо гуморальное отторжение трансплантата с нарушением гемодинамики. Период наблюдения составил один год. Результаты исследования показали значительное снижение частоты развития отторжения при приеме как такролимуса/сиролимуса (35,1%), так и такролимуса / микофенолата мофетила (42,1%) по сравнению с циклоспирином / микофенолата мофетилом (59,6%) [5].

Однако исследование, проведенное Nguyen et al., показало другие результаты. Согласно публикации 2020 года, снизить риск антителоопосредованного отторжения могут адекватно подобранные индукционная и иммуносупрессивная терапия. Стабильных пациентов с высоким риском AMR можно перевести

Диагностика и лечение при выявлении ДСА: ключевые критерии по данным исследования из 15 центров трансплантации сердца в Германии, Австрии и Швейцарии в 2017 году. Данные по каждому разделу не полностью сходятся в зависимости от центра

Diagnosis and treatment in DSA detection: key criteria according to a 2017 study from 15 heart transplant centers in Germany, Austria, and Switzerland. Data for each section do not fully converge depending on center

Число трансплантаций сердца	3456 во всех 15 центрах за период с 2006-го по 2016 г. Взрослые и дети Среднее число операций в год: 21
Предтрансплантационное лечение HLA-антител	Плазмаферез (до- и периперационный) – 100% Иммуноадсорбция – 53% Лечение иммуноглобулином (до- и периперационно) – 100% Ритуксимаб – 73% Бортезомиб – 33% кАТГ (периперационно) – 67% (8/10 – тимоглобулин, 2/10 – неовил)
Базисная иммуносупрессия у сенсibilизированных пациентов	Такролимус – 87% Циклоспорин – 40% Микофеноловая кислота – 100% Эверолимус – 13% ГКС – 100%
Стандартный мониторинг ДСА после трансплантации	Проводился в 80% центров 6/12 начинали в 1-й месяц, 4/12 – на 3-й месяц, 1 – в день 0, 1 – в день включения в лист ожидания. После 3-го месяца, мониторинг каждые 3–6 месяцев до 1 года во всех 12 центрах, где проводился рутинный мониторинг. 7/12 центров продолжали скрининг хотя бы 1 раз в год после 12 месяцев
Мониторинг уровня ДСА после трансплантации сердца при клинических проявлениях	В центрах проводилось исследование ДСА при следующих событиях: острое отторжение – 93% васкулопатия трансплантата – 67% первичная дисфункция трансплантата – 100% идиопатическая дисфункция трансплантата – 100%
Методы выявления ДСА	Luminex – 100% C1q – перед трансплантацией – 33%, после – 20% Комплемент-зависимая цитотоксичность – 53% до и 73% после трансплантации Поточная цитометрия – 20%
Порог средней интенсивности иммунофлюоресценции, при котором рассматривалось лечение по поводу ДСА	Лечение проводилось в 40% Среди 4 центров пороговые значения составляли: HLA ДСА I: 1000–1500 в 3/4 центров, 3000 в 1/4 центре HLA ДСА II: 1000–1500 в 3/4 центров, 3000 в 1/4 центре
Критерии начала лечения по поводу dnДСА	Только dnДСА – 60% dnДСА + эхокардиографические признаки дисфункции трансплантата – 100% dnДСА + AMR – 100% dnДСА + дисфункция аллографта – 73%
Лечение ДСА	Иммуноглобулины – 79% Ритуксимаб – 79% Иммуноадсорбция – 50% кАТГ – 50% (4/7 тимоглобулин, 3/7 неовил) Плазмаферез 43% Экстракорпоральный фотофорез – 29% Базиликсимаб – 14% Бортезомиб – 7%
Изменения иммуносупрессивной терапии при выявлении dnДСА	Проводилось – 64% 7 центров предоставили информацию: повышение дозы такролимуса – 2/7 замена циклоспорина на такролимус – 1/7 замена микофенолата мофетила на эверолимус – 3/7 кАТГ – 1/7 (тимоглобулин)

Примечание. HLA – лейкоцитарные антигены человека; dnДСА – донор-специфические антитела *de novo*; ГКС – глюкокортикостероиды; ДСА – донор-специфические антитела; кАТГ – кроличий анти тимоцитарный глобулин.

Note. HLA – human leukocyte antigens; dnДСА – *de novo* donor-specific antibodies; ГКС – glucocorticoids; ДСА – donor-specific antibody; кАТГ – rabbit anti-thymocyte globulin.

на ингибиторы пролиферативного сигнала (сиролимус, эверолимус), что позволит снизить частоту развития отторжения трансплантата [47].

Принципы лечения гуморального отторжения включают удаление циркулирующих антител, снижение выработки дополнительных аллоантител и подавление Т-клеточного и В-клеточного ответов. Рекомендации ISHLT по лечению антителоопосредованного отторжения основаны на проводимых консенсусах и имеют уровень доказательности С [20].

Методы лечения гуморального отторжения основаны на следующих принципах:

- подавление Т-клеточного ответа;
- устранение циркулирующих антител;
- ингибирование остаточных антител;
- подавление или истощение В-клеток;
- подавление или истощение плазматических клеток;
- ингибирование комплемента.

На рис. 2 показано использование конкретных методов лечения для различных клинических сценариев с учетом степени гуморального отторжения, наличия или отсутствия ДСА и дисфункции трансплантата. Алгоритм разработан Chin et al. на основании онлайн-опроса 184 членов ISHLT, участие в котором преимущественно принимали представители трансплантационных центров из Северной Америки и Европы [8].

Рекомендации ISHLT по лечению антителоопосредованного отторжения трансплантата сердца рекомендуют использовать внутривенную инфузию высоких доз глюкокортикостероидов и цитолитические препараты. Для выведения или инактивации аутоантител применяются плазмаферез или инфузия внутривенного иммуноглобулина. При гемодинами-

ческих нарушениях с целью поддержания функции трансплантата могут потребоваться инотропные и вазопрессорные препараты. Системная антикоагулянтная терапия позволяет снизить риск внутрисосудистого тромбоза. Контрольную эндомиокардиальную биопсию следует выполнить через несколько недель после начала лечения и проводить в динамике до полного регресса иммунопатологических признаков. При рефрактерном гуморальном отторжении доказана эффективность моноклональных антител против общего В-клеточного маркера (ритуксимаб). При неэффективности проводимого лечения следует рассмотреть вопрос о возможности выполнения ретрансплантации сердца [48].

Одним из видов лечения гуморального отторжения является использование терапевтического плазмафереза. Цель данного метода – механическое удаление циркулирующих антител [49]. С помощью мембранной фильтрации или центрифугирования происходит экстракорпоральное отделение плазмы из клеточных компонентов крови. Восполнение удаленного объема жидкости проводится с помощью замещающих растворов.

Исследований, изучающих терапевтический плазмаферез (ТП) в качестве монотерапии антителоопосредованного отторжения трансплантата, не проводилось.

Применение глюкокортикостероидов широко используется в качестве базовой терапии не только для лечения клеточного отторжения, но и при гуморальном отторжении трансплантата сердца [49].

Стероиды обладают мощным иммуносупрессивным и противовоспалительным действием, которое влияет на количество, распределение и функцию всех типов лейкоцитов и эндотелиальных клеток [50].

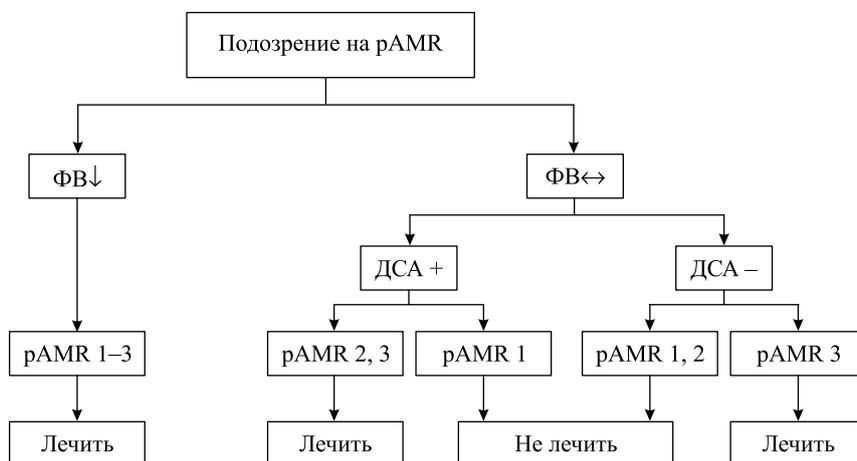


Рис. 2. Методы лечения для различных клинических сценариев с учетом степени гуморального отторжения. pAMR – степень антителоопосредованного отторжения; ДСА – донор-специфические антитела; ФВ – фракция выброса

Fig. 2. Treatment modalities for different clinical scenarios, taking into account the humoral rejection category. pAMR – pathological antibody-mediated rejection category; ДСА – donor-specific antibody; ФВ – ejection fraction

Использование глюкокортикостероидов включено в схему терапии во всех клинических исследованиях, описывающих различные методы лечения гуморального отторжения.

Помимо этого, широко используются антилимфоцитарные глобулины, которые представляют собой антитела, направленные против Т-клеточных лимфоцитов или тимоцитов. Существуют два типа антител: моноклональные (муромонаб-CD3, ритуксимаб) и поликлональные (самые известные из них: кроличий и лошадиный антилимфоцитарные глобулины). Антилимфоцитарные глобулины используются для лечения гуморального отторжения, однако исследований по поводу их роли в лечении антителоопосредованного отторжения не проводилось [51].

Ритуксимаб представляет собой химерное моноклональное антитело мыши и человека, полученное методом генной инженерии. Действие его направлено против общего В-клеточного маркера CD20. Для лечения гуморального отторжения или в качестве десенсибилизирующей терапии ритуксимаб обычно используется в сочетании с другими методами лечения, что затрудняет оценку его эффективности в качестве самостоятельного препарата. Имеются многочисленные данные об успешном использовании ритуксимаба с целью лечения рефрактерного антителоопосредованного отторжения (при неэффективности комбинированной терапии цитолитическими антителами, кортикостероидами, плазмаферезом и циклофосфамидом) [52]. При использовании ритуксимаба отмечалось снижение индекса ПРА у сенсibilизированных пациентов, которые были рефрактерны к терапии с использованием ВВИГ, плазмафереза и микофенолата мофетила [53].

Большинство из вышеперечисленных методов лечения обычно используются в комбинации, либо одновременно, либо последовательно [49].

Несмотря на то что плазмаферез, ВВИГ, ритуксимаб и высокие дозы циклофосфамида успешно снижают уровень циркулирующих антител у сенсibilизированных пациентов до трансплантации сердца, существует большое количество пациентов, не восприимчивых к этим методам лечения. Patel et al. из Лос-Анджелеса провели пилотное исследование, целью которого стало определение эффективности десенсибилизации с использованием бортезомиба у пациентов, резистентных к ВВИГ, ритуксимабу и плазмаферезу. Бортезомиб представляет собой ингибитор протеасомы 26S, который оказывает проапоптотическое действие на плазматические клетки и снижает выработку антител. В исследование было включено 7 пациентов, ожидающих трансплантацию сердца, у которых значение ПРА составило 50%. Средний исходный индекс ПРА составил 62%, которое снизилось после лечения до среднего уровня 35%. Исследование показало, что бортезомиб сни-

жает значение ПРА у пациентов, не восприимчивых к десенсибилизации с помощью ВВИГ, ритуксимаба и плазмафереза [5].

Долгое время обсуждалась необходимость лечения бессимптомного течения антителоопосредованного отторжения [48].

Целесообразность лечения более легких форм гуморального отторжения, таких как rAMR1 (включая rAMR1-H и rAMR1-I) и rAMR2 (с клиническими признаками или без них), подвергается сомнению, так как эффективность проводимой терапии субклинического антителоопосредованного отторжения трансплантата не установлена.

Решение о лечении rAMR 0–2 основывается на клинических признаках отторжения, таких как появление симптомов сердечной недостаточности, наличие дисфункции трансплантата и иммунологические данные (увеличение существующих или *de novo* ДСА).

В случаях бессимптомного течения гуморального отторжения, возможно, целесообразна оптимизация базовой иммуносупрессивной терапии [20].

Однако в связи с повышенными рисками возникновения васкулопатии трансплантата и летального исхода при бессимптомном отторжении, может быть, следует проводить лечение при выявлении всех случаев гуморального отторжения [48].

Выявление ДСА считается важным прогностическим фактором развития гуморального отторжения после трансплантации сердца, но одного их наличия недостаточно для постановки диагноза AMR и начала специфической терапии. Тем не менее появление ДСА не следует игнорировать, в связи с чем авторами V. Manfredini et al. был разработан алгоритм действий, в котором учитывается корреляция ДСА с симптомами и патологическими признаками AMR, временем их выявления и способностью связывать комплемент (рис. 3). При наличии ДСА в раннем периоде после трансплантации отмечается более четкая связь с развитием острого гуморального отторжения, которое хорошо поддается лечению. Появление ДСА в позднем посттрансплантационном периоде может приводить к хроническому повреждению аллографта и развитию васкулопатии при несвоевременной диагностике. Связь ДСА с развитием AMR оправдывает начало специфического лечения, особенно при наличии признаков дисфункции трансплантата [18].

В табл. 5 представлен список протоколов, используемых несколькими опытными центрами [20].

Лечение AMR у детей

Профилактика и лечение гуморального отторжения у детей назначается эмпирически и охватывает весь спектр методов лечения, которые описаны у взрослых пациентов. Диагностические критерии не

отличаются от таковых при трансплантации сердца взрослым и основываются на гистопатологических и иммунопатологических изменениях. Наличие донор-специфических антител, предтрансплантационных и посттрансплантационных анти-HLA I типа отрицательно влияет на долгосрочную выживаемость пациентов. Терапия, направленная на удаление циркулирующих антител, включает введение перед трансплантацией внутривенного иммуноглобулина или циклофосфамида, интраоперационное выполнение плазмообмена, а также послеоперационное использование ВВИГ, терапевтического плазмафереза, ритуксимаба или циклофосфамида [20].

Лечение сенсibilизированных пациентов, ожидающих трансплантацию сердца

Для высокочувствительных пациентов из листа ожидания применяется предоперационный плазмаферез с целью снижения уровня циркулирующих антител, что в значительной степени может повысить шансы получения отрицательной реакции перекрестного совпадения с донором.

Также в качестве десенсибилизации у высокочувствительных пациентов используется химерное высоко-

коаффинное моноклональное антитело – ритуксимаб, которое связывается с рецепторами лимфоцитов CD20, препятствующим активации и дифференцировке В-клеток. Дозировка препарата рассчитывается по площади поверхности тела пациента (375 мг/м²). Рекомендовано проводить внутривенную инфузию 1 раз в неделю, длительность лечения составляет до 4 недель [5].

ВВИГ – иммуноглобулины, преимущественно класса IgG, выделенные из плазмы доноров. Использование данного препарата приводит к снижению уровня антител у сенсibilизированных пациентов перед трансплантацией сердца. ВВИГ подавляет анти-HLA *in vitro* и *in vivo*. Поликлональные препараты человеческого иммуноглобулина обладают активностью против молекул HLA классов I и II, цитокинов и их рецепторов, а также Т-клеточных рецепторов. Основные иммунные эффекты ВВИГ можно объяснить блокадой рецепторов Fc-γ, ингибированием системы комплемента, нейтрализацией аутоантител и цитокинов и подавлением В-клеточных рецепторов [20].

В качестве индукционной терапии у сенсibilизированных пациентов используются препараты антител, в особенности кроличий анти timоцитарный глобулин в сочетании с внутривенной инфузией иммуноглобулинов, плазмаферезом и ритуксимабом.

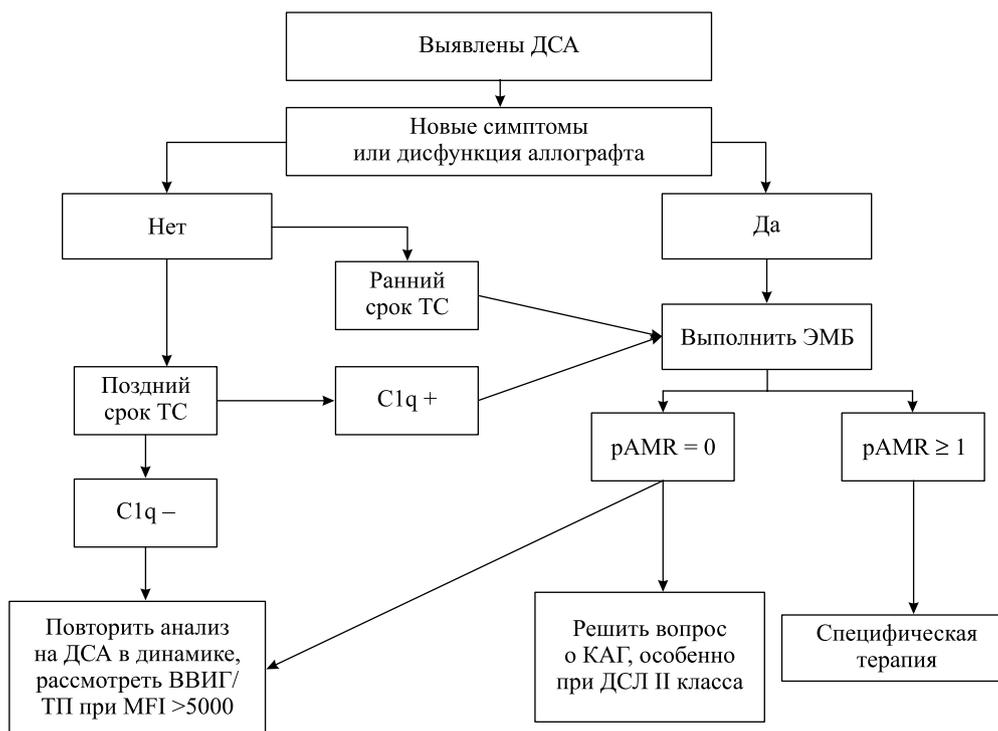


Рис. 3. Алгоритм действий при выявлении ДСА. ДСА – донор-специфические антитела; ТС – трансплантация сердца; ЭМБ – эндомикардиальная биопсия; C1q – связывающая активность комплемента; MFI – средняя интенсивность флуоресценции; pAMR – степень антителоопосредованного отторжения

Fig. 3. Algorithm of action when DSA is detected. ДСА – donor-specific antibody; ТС – heart transplant; ЭМБ – endomyocardial biopsy; C1q – complement binding activity; MFI – mean fluorescence intensity; pAMR – pathological antibody-mediated rejection category

В настоящее время более предпочтительно использование схем с включением поликлональных анти-тел [20].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Главной целью ведения пациентов после трансплантации сердца служит улучшение долгосрочной выживаемости. Антителоопосредованное отторже-

ние трансплантата сердца является ведущей причиной ранней заболеваемости и смертности после операции. Несмотря на различные варианты лечения гуморального отторжения, на сегодняшний день не существует единого стандарта терапии, что требует индивидуального подхода к каждому случаю. В настоящее время требуется проведение дополнительных рандомизированных клинических исследований

Таблица 5

Стратегии лечения AMR у взрослых реципиентов сердца Presents a list of protocols used by several centers of excellence

Центр	Лечение AMR
Университет Юты	Субклинический рAMR-1: лечение не требуется. При развитии в раннем периоде после трансплантации – рассмотреть постепенное снижение дозы кортикостероидов; рAMR-2 без дисфункции трансплантата или без ДСА: пульс-гормональная терапия; рAMR-2 с дисфункцией трансплантата и/или наличием ДСА: пульс-гормональная терапия, ВВИГ, плазмаферез, ритуксимаб или бортезомиб; рAMR-3: пульс-гормональная терапия, ВВИГ, плазмаферез, ритуксимаб или бортезомиб (+ кАТГ при гемодинамических нарушениях)
Медицинский центр Сидарс Синай	Метилпреднизолон 500 мг/сут в течение 3 дней; кАТГ; Плазмаферез при гемодинамических нарушениях; ВВИГ 2 г/кг в 1-й и 30-й дни (1-й день после завершения лечения кАТГ); Ритуксимаб 1 г (375 мг/м ² у пациентов с низким ИМТ) на 7-й и 21-й дни; Рефрактерные пациенты: добавить бортезомиб 1,3 мг/м ² на 1, 4, 7 и 10-й дни
Клиника Кливленда	Метилпреднизолон 1 г/сут в течение 3 дней; Плазмаферез 4–5 раз в неделю, далее – по требованию При отсутствии результата лечения рассмотреть: – ВВИГ 2 г/кг; – Ритуксимаб 375 мг/м ² (до 4 доз); – Бортезомиб 1,3 мг/м ² в/в до 4 доз в течение 2 недель; – продолжить плазмаферез; При рефрактерности к лечению рассмотреть фотоферез или тотальное лимфоидное облучение
Колумбийский университет	Метилпреднизолон Плазмаферез 5–6 циклов в течение 10–14 дней Циклофосфамид 0,5–1 г/м ² каждые 3 недели в течение 4–6 месяцев
Стенфордский университет	Пациенты с низким риском: лечение не требуется или усиление базовой иммуносупрессивной терапии с последующим выполнением ЭМБ Пациенты с высоким риском (наличие ДСА, аллосенсибилизация): ВВИГ или ритуксимаб При гемодинамических нарушениях: – первоначальное лечение любого пациента с дисфункцией трансплантата неясной этиологии в период диагностики включает метилпреднизолон 500–1000 мг/сут в течение 3 дней; – плазмаферез ежедневно или через день (минимум 5 сеансов); – ВВИГ непосредственно после плазмафереза 2 г/кг суммарно в течение 2 дней (максимальная доза 140 г) в 1-й и 2-й дни и 29-й и 30-й дни; при отсутствии эффекта – повторное введение; – рассмотреть кАТГ 1,5 мг/кг/сут в течение 3 последующих дней после плазмафереза у пациентов с тяжелыми гемодинамическими нарушениями; – Ритуксимаб 1 г/сут на 7-й и 22-й дни Альтернативные подходы: – усиление базовой иммуносупрессивной терапии; – замена циклоспорина на такролимус и/или добавление циклофосфамида 1,5 мг/кг/сут; – Бортезомиб 1,3 мг/м ² /сут на 1, 4, 8 и 11-й дни

Примечание. рAMR – степень антителоопосредованного отторжения; ВВИГ – внутривенный иммуноглобулин; ДСА – донор-специфические антитела; ИМТ – индекс массы тела; кАТГ – кроличий анти тимоцитарный глобулин.

Note. рAMR – pathological antibody-mediated rejection category; ВВИГ – intravenous immunoglobulin; ДСА – donor-specific antibody; ИМТ – body mass index; кАТГ – rabbit anti-thymocyte globulin.

для определения более точной тактики ведения пациентов с антителоопосредованным отторжением.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- Berry GJ, Burke MM, Andersen C et al. The 2013 International Society for Heart and Lung Transplantation Working Formulation for Standardization of nomenclature in the pathologic diagnosis of antibody-mediated rejection in heart transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2013; 32: 1147–1162.
- Hammond EH, Yowell RL, Nunoda S et al. Vascular (humoral) rejection in heart transplantation: pathologic observations and clinical implications. *J Heart transplant.* 1989; 8: 430–443.
- Takemoto SK, Zeevi A, Feng S et al. National conference to assess antibody-mediated rejection in solid organ transplantation. *Am J Transplant.* 2004; 4: 1033–1041.
- Kfoury AG, Miller DV. The impact of asymptomatic antibody-mediated rejection on outcome after heart transplantation. *Current Opinion in Organ Transplantation.* 2019; 24 (3): 259–264. doi: 10.1097/mot.0000000000000640.
- Kobashigawa J, Crespo-Leiro MG, Eisminger SM et al. Report from a consensus conference on antibody-mediated rejection in heart transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2011; 30: 252–269. doi: 10.1016/j.healun.2010.11.003.
- Clerkin KJ, Farr MA, Restaino SW et al. Donor-specific anti-HLA antibodies with antibody-mediated rejection and long-term outcomes following heart transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2017; 36: 540–545.
- Tran A, Fixler D, Huang R et al. Donor-specific HLA alloantibodies: impact on cardiac allograft vasculopathy, rejection, and survival after pediatric heart transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2016; 35: 87–91.
- Chih S, Tinckam KJ, Ross HJ. A survey of current practice for antibody-mediated rejection in heart transplantation. *Am J Transplant.* 2013; 13: 1069–1074. doi: 10.1111/ajt.12162.
- Stewart S, Winters G, Fishbein M et al. Revision of the 1990 working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart rejection. *J Heart Lung Transplant.* 2005; 24: 1710–1720.
- Reed EF, Demetris AJ, Hammond E et al. International Society for Heart and Lung Transplantation. Acute antibody-mediated rejection of cardiac transplants. *J Heart Lung Transplant.* 2006; 25: 153–159.
- Kfoury A, Hammond M, Snow G et al. Cardiovascular mortality among heart transplant recipients with asymptomatic antibody-mediated or stable mixed cellular and antibody-mediated rejection. *J Heart Lung Transplant.* 2009; 28: 781–784.
- Michaels P, Espejo M, Kobashigawa J et al. Humoral rejection in cardiac transplantation: risk factors, hemodynamic consequences and relationship to transplant coronary artery disease. *J Heart Lung Transplant.* 2003; 22: 58–69.
- Crespo-Leiro MG, Veiga-Barreiro A, Doménech N et al. Humoral heart rejection (severe allograft dysfunction with no signs of cellular rejection or ischemia): incidence, management, and the value of C4d for diagnosis. *Am J Transplant.* 2005; 5 (10): 2560–2564. doi: 10.1111/j.1600-6143.2005.01039.x.
- Tan CD, Sokos GG, Pidwell DJ et al. Correlation of donor-specific antibodies, complement and its regulators with graft dysfunction in cardiac antibody-mediated rejection. *Am J Transplant.* 2009; 9: 2075–2084.
- Hammond EH, Wittwer CT, Greenwood J et al. Relationship of OKT3 sensitization and vascular rejection in cardiac transplant patients receiving OKT3 rejection prophylaxis. *Transplantation.* 1990; 50: 776–782.
- Rodriguez E, Skojec D, Tan C et al. Antibody-mediated rejection in human cardiac allografts: evaluation of immunoglobulins and complement activation products C4d and C3d as markers. *Am J Transplant.* 2005; 5: 2778–2785.
- Cherry R, Nielsen H, Reed E et al. Vascular (humoral) rejection in human cardiac allograft biopsies: relation to circulating anti-HLA antibodies. *J Heart Lung Transplant.* 1992; 11: 24–29.
- Manfredini V, Leone O, Agostini V et al. Antibody-mediated rejection in heart transplantation. *Current Opinion in Organ Transplantation.* 2017; 22 (3): 207–214. doi: 10.1097/MOT.0000000000000407.
- Thomas KA, Valenzuela NM, Reed EF. The perfect storm: HLA antibodies, complement, FcγRs, and endothelium in transplant rejection. *Trends Mol Med.* 2015; 21: 319–329.
- Colvin MM, Cook JL, Chang P et al. Antibody-Mediated Rejection in Cardiac Transplantation: Emerging Knowledge in Diagnosis and Management. *Circulation.* 2015; 131 (18): 1608–1639. doi: 10.1161/CIR.0000000000000093.
- Clerkin KJ, Restaino SW, Zorn E et al. The impact of timing and graft dysfunction on survival and cardiac allograft vasculopathy in antibody mediated rejection. *J Heart Lung Transplant.* 2016; 35: 1059–1066.
- Barten MJ, Schulz U, Beiras-Fernandez A et al. The clinical impact of donor-specific antibodies in heart transplantation. *Transplantation Reviews.* 2018; 32 (4): 207–217. doi: 10.1016/j.trre.2018.05.002.
- Smith JD, Banner NR, Hamour IM et al. De novo donor HLA-specific antibodies after heart transplantation are an independent predictor of poor patient survival. *Am J Transplant.* 2011; 11: 312–319. doi: 10.1111/j.1600-6143.2010.03383.x.
- Betkowski AS, Graff R, Chen JJ et al. Panel-reactive antibody screening practices prior to heart transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2002; 21 (6): 644–650. doi: 10.1016/s1053-2498(01)00422-3.
- Lachmann N, Todorova K, Schulze H et al. Luminex and Its Applications for Solid Organ Transplantation, Hematopoietic Stem Cell Transplantation, and Transfusion. *Transfusion Medicine and Hemotherapy.* 2013; 40 (3): 182–189. doi: 10.1159/000351459.

26. Kobashigawa JA, Sabad A, Drinkwater D et al. Pretransplant panel reactive-antibody screens. Are they truly a marker for a poor outcome after cardiac transplantation? *Circulation*. 1996; 94 (suppl II): 294–297.
27. Loh E, Bergin JD, Couper GS et al. Role of panel-reactive antibody cross-reactivity in predicting survival after orthotopic heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 1994; 13: 194–201.
28. Lavee J, Kormos RL, Duquesnoy RJ et al. Influence of panel-reactive antibody and lymphocytotoxic cross-match on survival after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 1991; 10: 921–929.
29. Gonzalez-Stawinski GV, Atik FA, McCarthy PM et al. Early and late rejection and HLA sensitization at the time of heart transplantation in patients bridged with left ventricular assist devices. *Transplant Proc*. 2005; 37: 1349–1351.
30. Nwakanma LU, Williams JA, Weiss ES et al. Influence of Pretransplant Panel-Reactive Antibody on Outcomes in 8,160 Heart Transplant Recipients in Recent Era. *Ann Thorac Surg*. 2007; 84 (5): 1556–1563. doi: 10.1016/j.athoracsur.2007.05.095.
31. Lund LH, Edwards LB, Dipchand AI et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-third Adult Heart Transplantation Report – 2016; Focus Theme: Primary Diagnostic Indications for Transplant. *J Heart Lung Transplant*. 2016; 35: 1158–1169.
32. Shahzad K, Aziz QA, Leva JP et al. New-onset graft dysfunction after heart transplantation – incidence and mechanism-related outcomes. *J Heart Lung Transplant*. 2011; 30: 194–203.
33. Reinsmoen NL, Patel J, Mirocha J et al. Optimizing transplantation of sensitized heart candidates using 4 antibody detection assays to prioritize the assignment of unacceptable antigens. *J Heart Lung Transplant*. 2016; 35: 165–172.
34. Kaczmarek I, Deutsch MA, Kauke T et al. Donor-specific HLA alloantibodies: long-term impact on cardiac allograft vasculopathy and mortality after heart transplant. *Exp Clin Transplant*. 2008; 3: 229–235.
35. Ho EK, Vlad G, Vasilescu ER et al. Pre- and posttransplantation allosensitization in heart allograft recipients: Major impact of *de novo* alloantibody production on allograft survival. *Hum Immunol*. 2011; 72: 5–10.
36. Wu GW, Kobashigawa JA, Fishbein MC et al. Asymptomatic antibody-mediated rejection after heart transplantation predicts poor outcomes. *J Heart Lung Transplant*. 2009; 28: 417–422.
37. Wehner J, Morrell CN, Reynolds T et al. Antibody and complement in transplant vasculopathy. *Circ Res*. 2007; 100: 191–203.
38. Terasaki PI, Cai J. Human leukocyte antigen antibodies and chronic rejection: from association to causation. *Transplantation*. 2008; 86: 377–383.
39. Feingold B, Park SY, Comer DM et al. Outcomes after listing with a requirement for a prospective crossmatch in pediatric heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2013; 32: 56–62.
40. Pollock-BarZiv SM, Hollander ND, Ngan BY et al. Pediatric heart transplantation in human leukocyte antigen-sensitized patients: evolving management and assessment of intermediate-term outcomes in a high-risk population. *Circulation*. 2007; 116 (suppl I): 172–178.
41. Jordan SC, Toyoda M, Kahwaji J et al. Clinical aspects of intravenous immunoglobulin use in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant*. 2011; 11: 196–202.
42. Chih S, Patel J. Desensitization strategies in adult heart transplantation: Will persistence pay off? *J Heart Lung Transplant*. 2016; 35: 962–972.
43. Godown J, Slaughter JC, Fossey SC et al. Risk factors for the development of donor-specific antibodies after pediatric heart transplantation. *Pediatr Transplant*. 2015; 19: 906–910.
44. Rafiei M, Kittleson M, Patel J et al. Anti-thymocyte gamma-globulin may prevent antibody production after heart transplantation. *Transplant Proc*. 2014; 46: 3570–3574.
45. Pascual J, Zuckermann A, Djamali A et al. Rabbit antithymocyte globulin and donor-specific antibodies in kidney transplantation – a review. *Transplant Rev (Orlando)*. 2016; 30: 85–91.
46. Christie JD, Edwards LB, Aurora P et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twentysixth official adult lung and heart-lung transplantation report – 2009. *J Heart Lung Transplant*. 2009; 28: 1031–1049.
47. Nguyen VP, Kobashigawa JA. Antibody-mediated rejection after heart transplantation. *Current Opinion in Organ Transplantation*. 2020; 25 (3): 248–254. doi: 10.1097/MOT.0000000000000754.
48. Vega E, Schroder J, Nicoara A. Chapter 6. Post-Operative Management of Heart Transplantation Patients. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2017; 31 (2): 201–213. doi: 10.1016/j.bpa.2017.06.002.
49. Taylor D, Meiser B, Webber S et al. Task Force 2: Immunosuppression and Rejection. In: The International Society of Heart and Lung Transplantation guidelines for the care of heart transplant recipients. *J Heart Lung Transplant*. 2010; 29: 926–933.
50. Lindenfeld J, Miller G, Shakar S et al. Drug therapy in the heart transplant recipient: part I: cardiac rejection and immunosuppressive drugs. *Circulation*. 2004; 110: 3734–3740.
51. Koch CA, Khalpey ZI, Platt JL. Accommodation: preventing injury in transplantation and disease. *J Immunol*. 2004; 172: 5143–5148.
52. Kaczmarek I, Deutsch MA, Sadoni S et al. Successful management of antibody-mediated cardiac allograft rejection with combined immunoabsorption and anti-CD20 monoclonal antibody treatment: case report and literature review. *J Heart Lung Transplant*. 2007; 26: 511–515.
53. Balfour IC, Fiore A, Graff RJ et al. Use of rituximab to decrease panel-reactive antibodies. *J Heart Lung Transplant*. 2005; 24: 628–630.

Статья поступила в редакцию 15.10.2021 г.
The article was submitted to the journal on 15.10.2021

DOI: 10.15825/1995-1191-2021-4-62-72

ЗАМЕСТИТЕЛЬНАЯ ПОЧЕЧНАЯ ТЕРАПИЯ У РЕЦИПИЕНТОВ СЕРДЕЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА

Я.Л. Поз¹, А.Г. Строчков^{1, 2}, Ю.В. Копылова¹, В.Н. Поццов¹, 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

Повреждение почек у реципиентов сердечного трансплантата является одним из наиболее серьезных осложнений, влияющим как на кратковременные, так и отдаленные результаты трансплантации. Необходимость применения заместительной почечной терапии (ЗПТ) определяется не только и не столько степенью нарушения функции почек, сколько потребностью в коррекции баланса жидкости и метаболических нарушений. С этими обстоятельствами связана специфика аппаратной заместительной почечной терапии у реципиентов донорского сердца. В данном обзоре рассмотрены проблемы инициации ЗПТ – ранней в сравнении с отсроченной, антикоагуляции и сосудистого доступа, преимущества и недостатки постоянных и интермиттирующих методик. Особое внимание уделено хронизации почечного повреждения и особенностям пересадки почки у пациентов с трансплантированным сердцем.

Ключевые слова: трансплантация сердца, острое повреждение почек, гемодиализ, пересадка почки после трансплантации сердца.

RENAL REPLACEMENT THERAPY IN HEART TRANSPLANT RECIPIENTS

I.L. Poz¹, A.G. Strokov^{1, 2}, Yu.V. Kopylova¹, V.N. Poptsov¹, 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

Kidney injury in cardiac transplant recipients is one of the most severe complications affecting both short- and long-term transplant outcomes. The need for renal replacement therapy (RRT) is determined not only and not so much by the degree of renal dysfunction, as by the need for correction of fluid balance and metabolic disorders. These circumstances are associated with the specificity of extracorporeal renal replacement therapy in donor heart recipients. In this review, we discuss the problems of early versus delayed initiation of RRT, anticoagulation and vascular access, advantages and disadvantages of continuous and intermittent techniques. Special attention is paid to chronic kidney injury and peculiarities of kidney transplantation in heart recipients.

Keywords: heart transplantation, acute kidney injury, hemodialysis, kidney transplant after heart transplant.

Трансплантация сердца (ТС) на сегодняшний день является наиболее эффективным методом лечения терминальной сердечной недостаточности. Одним из серьезных осложнений, увеличивающим сроки госпитализации и ухудшающим прогноз у реципиентов донорского сердца, является острое повреждение почек (ОПП), частота возникновения которого за

последние годы возрастает в связи с либерализацией показаний к ТС и использованием органов, полученных от доноров с расширенными критериями. Потребность в заместительной почечной терапии (ЗПТ) достигает, по данным некоторых трансплантационных центров, 40%, тем не менее литературные данные, касающиеся конкретных проблем примене-

Для корреспонденции: Поз Яков Львович. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1.
Тел. (991) 245-55-61. E-mail: dr.poz@list.ru

Corresponding author: Iakov Poz. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation.
Phone: (991) 245-55-61. E-mail: dr.poz@list.ru

ния ЗПТ у реципиентов сердца, немногочисленны, и рассматривая такие вопросы, как оптимальные сроки инициации ЗПТ, сравнение эффективности постоянных и интермиттирующих методик, режимы антикоагуляции, выбор оптимального сосудистого доступа и другие, приходится ориентироваться на результаты исследований, оценивающих использование ЗПТ в отделениях интенсивной терапии.

ЗПТ У ПАЦИЕНТОВ В КРИТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ

Сроки инициации ЗПТ: раннее начало в сравнении с отсроченным

Несмотря на значительное увеличение частоты применения ЗПТ при остром повреждении почек (ОПП) или полиорганной недостаточности в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), многие аспекты такого лечения остаются предметом дебатов. Это касается, в частности, сроков начала ЗПТ. Преимущества раннего начала состоят в возможности управления балансом жидкости, быстрой коррекции электролитных и метаболических нарушений. В то же время ЗПТ сама может вызывать целый ряд осложнений, в частности гемодинамические, метаболические, геморрагические нарушения, катетер-ассоциированную инфекцию, нежелательное удаление лекарственных препаратов и их метаболитов [1]. К настоящему времени опубликовано большое количество исследований в пользу как раннего, так и позднего начала ЗПТ при ОПП [2–6].

Из рандомизированных клинических исследований (РКИ), выявивших статистически значимые улучшения выживаемости и восстановления функции почек при раннем начале ЗПТ по сравнению с поздним, наиболее показательным было ELAIN (Early vs Late INitiation of RRT – Раннее по сравнению с поздним начало ЗПТ). В этом одноцентровом исследовании участвовал 231 пациент с ОПП после хирургических вмешательств. В группе раннего начала ЗПТ инициировали в течение 8 часов с момента установления 2 стадии ОПП согласно критериям KDIGO; в группе отсроченного начала – в течение 12 часов с момента установления 3 стадии ОПП или при возникновении абсолютных показаний для ЗПТ, включавших повышение мочевины крови более 100 мг/дл (16,65 ммоль/л), гиперкалиемию выше 6,0 мэкв/л и отеки, резистентные к диуретической терапии. В первой группе смертность была значимо ниже, чем во второй (39,3% против 54,7%, $p = 0,03$). Из 119 пациентов, рандомизированных в группу отсроченного начала, 11 не получали ЗПТ вследствие восстановления почечной функции [2].

В то же время в многоцентровом РКИ АККИ (Artificial Kidney Initiation in Kidney Injury – Начало ЗПТ при повреждении почек) не было выявлено

статистически значимых различий в выживаемости пациентов в группах раннего и отсроченного начала ЗПТ. В исследовании участвовали 620 пациентов с ОПП из 31 ОРИТ, которые были разделены на 2 равные группы. В группе позднего начала критериями инициации ЗПТ были олиго- или анурия в течение более 72 часов, концентрация мочевины крови, превышающая 40 ммоль/л, гиперкалиемия более 6,0 ммоль/л или 5,5 ммоль/л после инфузии раствора глюкозы с инсулином, рН крови ниже 7,15 и острый отек легких вследствие перегрузки жидкостью. Выживаемость в течение первых 60 дней не различалась между группами; половина тех пациентов, которым была назначена отсроченная стратегия, не получали ЗПТ. При этом смертность в обеих группах достигала почти 50%. В группе с отсроченной стратегией реже встречалась катетер-ассоциированная инфекция, что объясняется меньшей продолжительностью ЗПТ. Авторы заключают, что отсроченная стратегия позволила избежать ЗПТ у существенного числа пациентов [3].

В большинстве исследований использовались стадии ОПП классификации KDIGO в качестве критерия для отбора пациентов. В практической же клинической деятельности эти критерии редко являются единственным основанием для начала ЗПТ, при этом большинство больных ОПП с KDIGO стадии 3 не получают ЗПТ [7]. Некоторые авторы, сравнивая исходы среди пациентов с ОПП в зависимости от того, проводилась им ЗПТ или нет, демонстрируют лучшую выживаемость, связанную с отсутствием ЗПТ [8]. Для получения объективных результатов необходимо заранее сформировать группы пациентов для раннего и отсроченного начала ЗПТ, однако при этом для больных, включенных в группу позднего начала, существует риск не получить ЗПТ в результате неблагоприятного исхода. Недавно проведенный метаанализ РКИ, посвященный срокам начала ЗПТ при тяжелом ОПП с учетом индивидуальных данных пациентов, не выявил зависимости смертности от времени начала ЗПТ, при условии что отсроченная инициация ЗПТ осуществляется при тщательном наблюдении за больными и ЗПТ начинают проводить при появлении соответствующих клинических показаний [9].

Сосудистый доступ для ЗПТ

Для установки ЦВК для ЗПТ в условиях ОРИТ целесообразно использовать ультразвуковой контроль. Согласно результатам метаанализа, проведенного Rabindranath et al., имплантация катетеров для ЗПТ в яремную вену позволяет в подавляющем большинстве случаев избежать дефектов установки, уменьшить время манипуляции и значительно снизить частоту осложнений [10]. По данным Prabhu

et al., такая тактика позволяет добиться лучших результатов и для бедренного доступа [11]. Согласно клиническим рекомендациям [12, 13], следует избегать установки временных катетеров в подключичные вены, чтобы исключить их стенозирование и сохранить возможность имплантации перманентного ЦВК в случае хронизации почечного повреждения. Согласно данным многоцентрового РКИ, проведенного Parienti et al., катетеризация подключичной вены связана с меньшим риском КАИ и тромботических осложнений и большей частотой пневмоторакса по сравнению с яремной или бедренной локализацией катетера [14].

Результаты другого многоцентрового РКИ свидетельствуют, что в отношении дисфункции катетера или эффективности ЗПТ не было различий для локализации катетера во внутренней яремной вене и бедренной вене. Катетеры, расположенные в правой внутренней яремной вене, были связаны со значительно меньшей частотой дисфункции по сравнению с левой внутренней яремной веной. При том что в обеих позициях использовали одинаковые 16-см яремные катетеры, правая позиция обеспечивает наиболее короткий путь к верхней полой вене. Феморальный доступ был связан со значительно меньшим риском дисфункции катетера по сравнению с левым яремным. Его рекомендовано использовать при отсутствии возможности установки катетера в правую яремную вену и при индексе массы тела пациента менее 28,4. Такой подход позволял снизить частоту дисфункции катетеров без увеличения риска КАИ. Для достижения оптимальной эффективности ЗПТ в случае бедренного доступа рекомендовано использовать катетеры длиной 25 см, достигающие нижней полой вены. При необходимости продолжения ЗПТ в течение длительного времени использование туннелированных яремных катетеров считается предпочтительным [15].

По данным Coupez et al., частота дисфункции при замене катетера по проводнику значительно превышает таковую при установке катетера в новое место (37,6% против 15,7%, $p < 0,01$), при этом риск инфицирования существенно не различается [16]. Chua et al. сообщают о сходных результатах, отмечая, что риск инфицирования катетера выше у более пожилых и массивных больных, особенно это касается бедренной позиции [17]. Для сохранения проходимости катетеров традиционно применяют гепариновый замок, реже используют растворы цитрата в различной концентрации, антибиотики или другие препараты с антибактериальными свойствами. Sungur et al. сообщают, что «утечка» заполняющего катетер раствора в сосудистое русло может достигать 20% и зависит от конструкции катетера. Это количество может быть клинически значимо для увеличения риска кровотечения и токсичности антибиотиков [18]. Соглас-

но результатам, представленным Correa Barcellos et al., использование растворов на основе цитрата не позволяет снизить риски инфицирования и дисфункции [19]. Landry et al. свидетельствуют, что применение антибактериальных растворов в качестве замка снижает риск инфицирования, однако может способствовать развитию бактериальной устойчивости и должно рассматриваться в случаях с высокой вероятностью КАИ [20]. Поскольку риск инфицирования катетера прямо коррелирует с длительностью его пребывания в сосуде, необходимость продолжения ЗПТ должна оцениваться ежедневно, и при ее отсутствии катетер необходимо удалить [12, 13].

Методики ЗПТ, постоянные и интермиттирующие

Для ЗПТ в условиях ОРИТ применяют целый ряд методов, а именно интермиттирующий гемодиализ, длительный низкоэффективный диализ (SLED), продленный ежедневный диализ, пролонгированную интермиттирующую ЗПТ, постоянные методы ЗПТ (ПЗПТ) (гемофильтрация, гемодиофильтрация). Постоянные и интермиттирующие методы ЗПТ (ИЗПТ) обычно рассматривают как взаимодополняющие; при этом ни один из них не обладает очевидными преимуществами над другим [21, 22]. Как правило, выбор оптимального метода происходит на определенном этапе лечения у данного пациента, а также с учетом традиций и возможностей ОРИТ. Согласно литературным данным, ПЗПТ и ИЗПТ позволяют достигнуть коррекции метаболических и водно-электролитных нарушений. В то же время проведенные исследования не выявили преимуществ какого-либо метода с точки зрения улучшения выживаемости пациентов [21–23]. Schneider et al. провели метаанализ 23 исследований (7 рандомизированных и 16 обсервационных) с целью выявления предпочтительного метода лечения. Объединенный анализ обсервационных исследований показал большую частоту диализной зависимости среди выживших пациентов, изначально получавших ИЗПТ, по сравнению с постоянной. Однако анализ результатов рандомизированных исследований не подтвердил этих данных [24]. Wald et al. сообщили, что у критических пациентов с ОПП применение ПЗПТ по сравнению с ИЗПТ связано с меньшей вероятностью хронического диализа [25]. Напротив, Liang et al., согласно результатам ретроспективного исследования с использованием данных 1338 больных, получавших ЗПТ в ОРИТ медицинского центра Университета Питтсбурга, не выявили статистически достоверных различий в рисках восстановления почечной функции или причинах для него (смерть или ТХПН) через 90 и 365 дней от начала лечения при применении интермиттирующих методов ЗПТ по сравнению с постоянными [23]. Тем

не менее в ретроспективном исследовании бывает трудно определить, почему данному пациенту начинали ПЗПТ или ИЗПТ. Например, ПЗПТ для контроля волеми начинали у больных с ожидаемой гемодинамической нестабильностью, а ИЗПТ – у пациентов с небольшой дозой вазопрессоров в связи с электролитными нарушениями без необходимости большого объема УФ. Nash et al. провели метаанализ 21 рандомизированного клинического исследования, посвященного сравнению различных методов ЗПТ, применяемых для лечения пациентов ОПП в ОРИТ. Авторы не выявили статистически значимых различий в 30-, 90-дневной, 2-летней выживаемости, а также возникновении диализной зависимости у пациентов, изначально получавших ПЗПТ, ИЗПТ и SLED [26]. Применение различных методов ЗПТ у одного пациента в процессе лечения в зависимости от клинических показаний является распространенной практикой, что является одним из основных ограничений подобного анализа. Согласно клиническим рекомендациям KDIGO, «не существует метода ЗПТ, идеального для всех пациентов с ОПП. Клиницист должен быть осведомлен о преимуществах и недостатках различных методик и адаптировать ЗПТ к индивидуальным и меняющимся потребностям своих больных» [12].

Эффективность методов ЗПТ

Эффективность ИЗПТ традиционно рассчитывается на основании кинетики мочевины. Фракционный клиренс мочевины за 1 процедуру выражается в виде показателя Kt/V , который должен достигать 1,2–1,4, а число сеансов – до 3–7 раз в неделю [27]. При ПЗПТ вследствие высокого коэффициента просеивания для низкомолекулярных соединений, практически равного единице, объем, очищенный от таких веществ, как мочевина, приблизительно равен объему ультрафильтрации при CVVH, а при CVVHD и CVVHDF включает также и объем диализата. Рекомендованный объем замещения при постдилюции составляет 20–40 мл/ч/кг массы пациента [27, 28] и должен обеспечивать коррекцию метаболических, электролитных и кислотно-основных нарушений [29]. Адекватность ЗПТ не ограничивается эффективным выведением уремических соединений. Лечение должно также обеспечивать адекватную коррекцию метаболических, электролитных и кислотно-основных нарушений, а также водного баланса. По данным Sutherland et al., Teixeira et al., увеличение накопления жидкости от момента поступления в ОРИТ до начала ЗПТ более 10–20% достоверно связано с увеличением риска смерти [30, 31]. Основной задачей является сохранение нейтрального баланса жидкости, а при гипергидратации – добиться постепенного удаления избыточной жидкости, избегая связанных с этим

осложнений [31–33]. Переносимость ультрафильтрации зависит от скорости восполнения внутрисосудистого объема из интерстициального пространства. Для управления УФ с целью оптимизации сосудистого восполнения эффективными являются устройства на основе неинвазивного контроля гематокрита [33].

Антикоагуляция при ЗПТ

Для предотвращения тромбоза экстракорпорального контура применяются два основных способа антикоагуляции – системное введение нефракционированного или низкомолекулярного гепарина и региональная цитратная антикоагуляция (РЦА) [34]. В соответствии с данными метаанализа 11 РКИ, выполненного Bai et al., при проведении ПЗПТ РЦА значительно уменьшала риск тромбоза экстракорпорального контура по сравнению с региональной и системной гепаринизацией. У пациентов в группе РЦА риск кровотечения был значимо ниже, чем в группе системной гепаринизации и не отличался от риска кровотечения при региональной гепаринизации. Не отмечалось статистически значимых различий между выживаемостью пациентов при применении РЦА и системной гепаринизации [35].

В то же время с применением РЦА может быть связан ряд осложнений, в частности потеря кальция и накопление цитрата. Цитрат-кальциевый комплекс имеет молекулярную массу около 300 Da и легко проходит через диализную мембрану. Для поддержания нейтрального баланса кальция необходимо его введение в течение всей процедуры. При снижении концентрации кальция в крови происходит быстрый рост уровня паратиреоидного гормона (ПТГ), мобилизующего кальций из костной ткани. По данным Klingele et al., при длительной ЗПТ такая деминерализация костей может приводить к переломам [36]. При нарушении метаболизма цитрата в печени происходит его накопление в крови, ионизированный кальций не высвобождается из цитратно-кальциевого комплекса, и соотношение Ca/Ca^{++} превышает 2,5. Вследствие накопления цитрата снижается концентрация бикарбоната и развивается метаболический ацидоз. В ретроспективном исследовании Khadzhynov et al. у 32 пациентов из 1070 (2,99%), получавших ПЗПТ с использованием РЦА, имели место метаболические признаки накопления цитрата на фоне выраженной гиперлактатемии. Хотя это осложнение встречалось у незначительного числа больных, оно было связано со 100% смертностью [37]. Таким образом, у пациентов с метаболическими нарушениями проведение РЦА требует тщательного лабораторного контроля.

ЗПТ У РЕЦИПИЕНТОВ СЕРДЦА

Выбор методики ЗПТ, как правило, определяется гемодинамическим статусом пациента. Постоянные

методы ЗПТ, основанные на конвекции, позволяют избежать быстрых изменений осмолярности крови и показателей гомеостаза, а также возникновения дизэквилибрического синдрома. Продолжительная процедура способствует распределению необходимого объема УФ на длительный период времени, снижая таким образом интенсивность удаления жидкости и улучшая гемодинамическую переносимость. Постоянные методы используются при гемодинамической нестабильности, при стабилизации состояния больного им на смену приходят интермиттирующие [38]. Такой подход соответствует рекомендациям KDIGO [12].

В большинстве публикаций, посвященных ОПП у реципиентов сердца, скудно представлено или отсутствует описание применявшихся методов ЗПТ [39–43].

В недавно опубликованных результатах ретроспективного обсервационного исследования Shen et al. дана подробная характеристика подхода к проведению ЗПТ у реципиентов сердца в Шанхайском госпитале Чжуншань [44]. В процессе анализа данных реципиенты были разделены на 2 группы. В группе *ранней целенаправленной ЗПТ* показания для ЗПТ были изменены с традиционных на упреждающие. У пациентов 2-й группы начало ЗПТ определялось традиционными показаниями. Для определения раннего начала ЗПТ было достигнуто соглашение между сердечно-сосудистыми хирургами, реаниматологами и нефрологами. Раннее начало ЗПТ после ОТТС часто происходило при отсутствии традиционных показаний, таких как аккумулятивная перегрузка жидкостью $\geq 5\%$, персистирующие низкий сердечный выброс, высокое ЦВД, артериальная гипотензия, требующая высоких доз инотропной поддержки и начало ЭКМО. Целенаправленная ЗПТ включала гемодиализ, гемофильтрацию, гемодиализацию и изолированную УФ. Цель была установлена к моменту начала ЗПТ и оценивалась каждые 6 часов. Методику, дозу, продолжительность и частоту сеансов ЗПТ определяли в соответствии с потребностями и переносимостью лечения больным для достижения поставленной цели. Протокол целенаправленной ЗПТ включал следующие параметры.

1. Способ ЗПТ. В присутствии гиперкалиемии, метаболического ацидоза и персистирующей азотемии применяли гемодиализ. При наличии выраженных признаков воспаления использовали гемофильтрацию или гемодиализацию. Если у пациента не было метаболических и электролитных нарушений, применяли изолированную УФ.
2. Продолжительность. Если больной был гемодинамически стабильным и цель могла быть достигнута в течение дня, использовали интермиттирующую ЗПТ или продленную интермитти-

рующую ЗПТ. Если цель не могла быть достигнута в течение дня, применяли постоянные методы.

3. Интенсивность. Интенсивность зависела от потребностей удаления жидкости, детоксикации и гемодинамической стабильности.

Все процедуры выполнялись на аппаратах для постоянных методов ЗПТ, высокопроницаемых полисульфоновых мембранах с объемом замещения 25–30 мл/ч/кг и кровотоком 150–250 мл/мин. Антикоагуляция осуществлялась в основном малыми дозами гепарина. При анализе данных авторы получили следующие результаты. Через 72 часа от начала лечения у пациентов 1-й группы количество мочи и почечное перфузионное давление были значимо выше, а концентрация креатинина и лактата крови, степень перегрузки жидкостью, ЦВД и дозы вазоактивных препаратов – значимо ниже, чем у больных во 2-й группе. Внутрибольничная смертность (39,1% против 63,3%, $p = 0,039$), продолжительность пребывания в ОРИТ (26 ± 18 дней против 38 ± 20 дней; $p = 0,008$) и в стационаре (38 ± 33 дней против 64 ± 45 ; $p = 0,005$) были значимо ниже в группе раннего начала ЗПТ по сравнению с поздним. При этом стоимость ЗПТ у больных 1-й группы была значимо ниже, чем во 2-й группе (5400 ± 1000 \$ против 6300 \$ США, $p < 0,001$).

Подобный подход к проведению ЗПТ представляется наиболее целесообразным, так как позволяет не только оптимально использовать возможности каждой методики, но и максимально адаптировать их к конкретной клинической ситуации.

Хронизация почечного повреждения у реципиентов сердца

По данным регистра Международного общества трансплантации сердца и легких, частота ХБП у реципиентов сердца достигает 50% к 5-летнему сроку после операции, а к 10-летнему рубежу 6% пациентов нуждаются в ЗПТ, в том числе 3,7% становятся реципиентами почки [45]. Несмотря на то что ОПП является частым осложнением и вероятным фактором риска для хронизации почечного повреждения и смертности после нетрансплантационной сердечно-сосудистой хирургии, сведения о кратковременных и отдаленных последствиях почечной дисфункции после трансплантации сердца весьма противоречивы. Так, по данным ряда авторов, развитие ОПП в раннем периоде после ТС не являлось предиктором развития ТХПН в долговременной перспективе [45–47]. Jokinen et al. даже свидетельствуют об улучшении почечной функции у реципиентов сердца, нуждавшихся в ЗПТ в раннем послеоперационном периоде, к концу 1-го года после трансплантации [48]. При этом, по данным Ivey-Miranda et al., потребность в ЗПТ в раннем послеоперационном периоде была пре-

диктором худшей долговременной выживаемости у реципиентов сердца [46].

Garcia-Gigogo et al. сообщают о тенденции к худшей выживаемости к 10-му году после ТС, которая, однако, не достигала статистической достоверности [40]. Другие авторы свидетельствуют о том, что реципиенты сердца, нуждавшиеся в ЗПТ в раннем послеоперационном периоде и выжившие в течение первых 3 месяцев после трансплантации, не имели худшего прогноза по долговременной выживаемости по сравнению с остальными реципиентами [47, 49]. В то же время, по данным Wang et al. и Fortrie et al., потребность в ЗПТ в раннем послеоперационном периоде ТС была независимым предиктором развития ТХПН в долговременной перспективе [42, 50]. При этом Fortrie et al. сообщают о достоверно худшей долговременной выживаемости реципиентов, которым потребовалось проведение ЗПТ в раннем периоде после ТС [50]. Напротив, результаты, полученные Wang et al., свидетельствуют, что реципиенты, выжившие в течение первых 3 месяцев после операции, не имели более высокого риска смерти по сравнению с остальными реципиентами [42].

Одним из возможных объяснений таких противоречий являются различные подходы к проведению ЗПТ. Так, превентивное начало ЗПТ и использование наиболее современных методик, вероятно, будут способствовать более успешным результатам, и соответственно, лучшему долговременному прогнозу. Однако для получения достоверных результатов необходимы дальнейшие исследования.

Трансплантация почки реципиентам сердца

У реципиентов сердца риск развития ХБП возрастает с каждым годом после трансплантации. Нарушение функции почек той или иной степени выраженности имеет место примерно у половины реципиентов сердца к 5-летнему сроку после операции [51]. Терминальная почечная недостаточность с потребностью в ЗПТ развивается у 5% пациентов к 5-летнему сроку и до 12% – к 10 годам после трансплантации [52]. Трансплантация почки существенно улучшает выживаемость и повышает качество жизни у этой категории пациентов.

С 1995-го по 2008 г. число реципиентов сердца, внесенных в лист ожидания для последующей трансплантации почки, выросло на 307%. За этот же период число первичных пациентов с терминальной ХПН в листе ожидания донорской почки увеличилось только на 74%, а реципиентов почки, ожидающих ретрансплантации – на 70% [53]. По данным Cassuto et al., относительный риск смерти для реципиентов сердца после трансплантации почки был значимо ниже, чем у реципиентов сердца в листе ожидания

(HR = 0,73, CI = 0,58–0,93, p = 0,011). В то же время делистинг реципиентов сердца вследствие смерти или ухудшения состояния составлял ежегодно 15,8% для пациентов с додиализной стадией ХБП и 20,3% для пациентов, получающих диализ [54]. Такие данные свидетельствуют в пользу более ранней трансплантации почки у реципиентов сердца с почечной недостаточностью.

По данным Grupper et al., средняя долговременная выживаемость реципиентов сердца с ХБП 5-й стадии после трансплантации почки достоверно не отличалась от выживаемости реципиентов сердца без почечной недостаточности (17,5 против 17,1 года, p = 0,27) и была значительно выше, чем у реципиентов сердца, оставшихся на диализе (17,5 против 7,3 года, p < 0,001) [55]. Сходные результаты показывает исследование Roest et al. Трансплантация почки способствовала лучшей выживаемости реципиентов сердца с ТХПН по сравнению с оставшимися на диализе и с получавшими консервативную терапию (медиана 6,4; 2,2 и 0,3 года соответственно, p < 0,0001). Достоверно лучшая выживаемость отмечалась у получивших почку от живого донора по сравнению с трупной и у получивших почку от родственного донора по сравнению с неродственным (p = 0,02) [56].

Отдельную группу представляют пациенты, страдающие от сочетания терминальной почечной недостаточности с терминальной ЗСН и нуждающиеся в сочетанной трансплантации сердца и почки (СТСП). Согласно результатам целого ряда исследований, у реципиентов сердца и почки имеет место меньшая частота отторжения как сердечного, так и почечного трансплантата по сравнению с реципиентами только сердца или почки [57, 58]. В частности, по данным Hermesen et al., сроки, прошедшие до развития первого криза отторжения сердечного трансплантата, были значимо больше у реципиентов сердца и почки по сравнению с реципиентами только сердца (p = 0,011). Подобная тенденция, правда, не достигающая статистической значимости, была отмечена при трансплантации сердца–почки по сравнению с трансплантацией почки от живых доноров. Авторами также была выявлена меньшая частота коронарной васкулопатии сердечного трансплантата при СТСП, чем при ТС [59]. Уменьшение частоты и выраженности кризов отторжения, а также большая эффективность купирования этих кризов отмечались при трансплантации сердечно-легочного комплекса по сравнению с трансплантацией легких, при комбинированной пересадке печени и почки [60] по сравнению с пересадкой только печени и только почки [61]. До настоящего времени механизмы такой иммунной толерантности остаются неясными, однако существует несколько возможных объяснений этого феномена. Это подавление иммунного ответа, связанное с химеризмом гемопоэтических клеток донора [62],

состояние анергии, возникающее в результате имплантации в организм реципиента большой массы чужеродной ткани, а также «отвлечение иммунного ответа» в сторону другого трансплантированного органа [63].

В случае СТСП выделяют одномоментную (симультанную, *simultaneous*) и поэтапную (*staged*) трансплантацию сердца и почки. При этом используются органы от одного донора. При одномоментной трансплантации обе операции выполняются одновременно. При поэтапном методе после трансплантации сердца пациент отправляется в отделение интенсивной терапии на срок, как правило, не превышающий 24 часов, и после стабилизации гемодинамических показателей возвращается в операционную для трансплантации почки [63]. В ряде случаев применяют последовательную (*subsequent*) трансплантацию почки реципиенту сердца (ПТСП), при этом между пересадкой сердца и почки проходит значительно больше времени. До настоящего времени не существует каких-либо рекомендаций, в каких случаях надо использовать одномоментную или поэтапную методику. Несмотря на увеличение срока холодовой ишемии для почечного трансплантата, многие авторы выступают в пользу двух последовательных операций [64, 66]. В этом случае наличие восстановительного периода для нового трансплантированного сердца позволяет оптимизировать статус гидратации перед пересадкой почки и уменьшить негативное влияние на почечный трансплантат таких факторов, как низкое перфузионное давление и нестабильные гемодинамические условия. Кроме того, считается, что согревание пациента и гемостаз целесообразнее провести до трансплантации почки (ТП). По мнению ряда авторов, показанием для СТСП у потенциального реципиента сердца является снижение КФ до $<37\text{--}40$ мл/мин [67, 68], в то же время КФ ≤ 30 мл/мин рассматривается как относительное противопоказание для изолированной трансплантации сердца [69].

В соответствии с данными анализа Регистра Объединенной сети распределения органов (UNOS) показатели смертности среди пациентов, состоявших в листах ожидания донорского сердца и сердца–почки, значимо не различались, в то же время 5-летняя выживаемость реципиентов сердца–почки была выше, чем у реципиентов сердца с почечной недостаточностью, независимо от потребности в диализе до трансплантации [70]. Сходные результаты представлены Kilic et al., Schaffer et al. Они также отмечают, что целесообразность использования одновременно двух органов из пула трансплантатов одному реципиенту оправдана тем, что у реципиентов сердца с почечной недостаточностью, находящихся в листе ожидания донорской почки, смертность к концу 3-го года после ТС более чем в 2 раза превышает этот показатель у пациентов с изолированной ТХПН ($>40\%$ против

14–18%) [71, 72]. В то же время Melvinsdottir et al., Gallo et al. сообщают о преимуществах ПТСП по сравнению с СТСП [73, 74]. Согласно результатам анализа базы данных UNOS, с 2007-го по 2016 г. риск смерти для реципиентов СТСП превышал этот показатель у реципиентов ПТСП в 4,7 раза при расчете от момента ТС и в 2,6 раза при расчете от даты ТП. Также было показано, что хотя подавляющему большинству пациентов с терминальной сердечной недостаточностью (ТСН) и ХБП 4-й и 5-й стадии производится СТСП, 17% больных, получивших СТСП, имели КФ >45 мл/мин/1,73 м², в то время как 38% пациентов, получивших ПТСП, имели КФ <45 мл/мин/1,73 м². Одним из преимуществ ПТСП авторы считают возможность трансплантации почки от живого донора [73]. Такие данные расходятся со многими ранее опубликованными результатами, согласно которым реципиенты сердца с развившейся после операции почечной недостаточностью демонстрируют существенно более низкую выживаемость по сравнению с реципиентами без почечной недостаточности, а СТСП позволяет нивелировать это различие. Лишь частичным объяснением этих противоречий может служить другой анализ базы данных UNOS (2000–2015 гг.), проведенный группой авторов, поставивших целью определить показания для СТСП или ПТСП на основании выраженности почечной дисфункции потенциального реципиента сердца. Выявлено, что пациенты с КФ <30 мл/мин/1,73 м², которым была выполнена СТСП, демонстрировали достоверно лучшую выживаемость к 5 годам после трансплантации по сравнению с теми, кому была выполнена ПТСП (75 и 59% соответственно, $p = 0,04$). Для пациентов с КФ между 30 и 44 мл/мин/1,73 м² различия в выживаемости не достигали статистической значимости [74].

Несмотря на рост числа комбинированных трансплантаций сердца и почки, до настоящего времени не существует каких-либо рекомендаций, в каких случаях надо выбирать одномоментный, поэтапный или последовательный подход. Очевидно, что при наличии у реципиента системных гемодинамических нарушений и дисфункции сердечного трансплантата целесообразно выполнение трансплантации почки после стабилизации клинического состояния, что подтверждается данными НМИЦ ТИО имени академика В.И. Шумакова [75, 76].

Таким образом, все разновидности заместительной почечной терапии, включая трансплантацию почки, широко применяются у реципиентов сердечного трансплантата. Учитывая сложность и многогранность патологических процессов, приводящих к необходимости ЗПТ на всех этапах трансплантации сердца и неоднородность литературных данных, посвященных этой проблеме, сложно ожидать появления клинических рекомендаций, четко

регламентирующих тактику применения этого вида лечения у реципиентов сердца. Своевременное начало, тщательный выбор оптимального метода ЗПТ с учетом превалирующих патогенетических механизмов, оценка рисков развития осложнений – факторы, позволяющие добиться оптимальных результатов лечения в этой группе больных.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Sigwalt F, Bouteleux A, Dambricourt F, Asselborn T, Moriceau F, Rimmelé T. Clinical Complications of Continuous Renal Replacement Therapy. Bellomo R, Kellum JA, La Manna G, Ronco C. (eds): 40 Years of Continuous Renal Replacement Therapy. *Contrib Nephrol*. Basel, Karger, 2018; 194: 109–117. doi: 10.1159/000485608.
2. Zarbock A, Kellum JA, Schmidt C, Van Aken H, Wempe C, Pavenstadt H et al. Effect of early vs delayed initiation of renal replacement therapy on mortality in critically ill patients with acute kidney injury: the ELAIN randomized clinical trial. *JAMA*. 2016; 315: 2190–2199. doi: 10.1001/jama.2016.5828.
3. Gaudry S, Hajage D, Schortgen F, Martin-Lefevre L, Pons B, Boulet E et al. Initiation strategies for renal-replacement therapy in the intensive care unit. *N Engl J Med*. 2016; 375: 122–133. doi: 10.1056/NEJMoa1603017.
4. Combes A, Brechot N, Amour J, Cozic N, Lebreton G, Guidon C et al. Early high-volume hemofiltration versus standard care for post-cardiac surgery shock. The HEROICS study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015; 192: 1179–1190. doi: 10.1164/rccm.201503-0516OC.
5. Wald R, Adhikari NK, Smith OM, Weir MA, Pope K, Cohen A et al. Comparison of standard and accelerated initiation of renal replacement therapy in acute kidney injury. *Kidney Int*. 2015; 88: 897–904. doi: 10.1038/ki.2015.184.
6. Jamale TE, Hase NK, Kulkarni M, Pradeep KJ, Keskar V, Jawale S, Mahajan D. Earlier-start versus usual-start dialysis in patients with community acquired acute kidney injury: a randomized controlled trial. *Am J Kidney Dis*. 2013; 62: 1116–1121. doi: 10.1053/j.ajkd.2013.06.012.
7. Hoste EA, Bagshaw SM, Bellomo R, Cely CM, Colman R, Cruz DN et al. Epidemiology of acute kidney injury in critically ill patients: the multinational AKI-EPI study. *Intensive Care Med*. 2015; 41: 1411–1423. doi: 10.1007/s00134-015-3934-7.
8. Gaudry S, Ricard JD, Leclaire C, Rafat C, Messika J, Bedet A et al. Acute kidney injury in critical care: experience of a conservative strategy. *J Crit Care*. 2014; 29: 1022–1027. doi: 10.1016/j.jcrc.2014.07.014.
9. Gaudry S, Hajage D, Benichou N, Chaïbi K, Barbar S, Zarbock A et al. Delayed versus early initiation of renal replacement therapy for severe acute kidney injury: a systematic review and individual patient data meta-analysis of randomised clinical trials. *Lancet*. 2020; 395 (10235): 1506–1515. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30531-6.
10. Rabindranath KS, Kumar E, Shail R, Vaux E. Use of real-time ultrasound guidance for the placement of hemodialysis catheters: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Kidney Dis*. 2011; 158: 964–970. doi: 10.1053/j.ajkd.2011.07.025.
11. Prabhu MV, Juneja D, Gopal PB, Sathyanarayanan M, Subhramanyam S, Gandhe S, Nayak KS. Ultrasound-guided femoral dialysis access placement: a single-center randomized trial. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010; 5: 235–239. doi: 10.2215/CJN.04920709.
12. Kidney disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Acute Kidney Injury Work Group: KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. *Kidney Inter Suppl*. 2012; 2: 1–138. doi: 10.1038/kisup.2012.1.
13. Vinsonneau C, Allain-Launay E, Blayau C, Darmon M, Ducheyron D, Gaillot T et al. Renal replacement therapy in adult and pediatric intensive care: recommendations by an expert panel from the French Intensive Care Society (SRLF) with the French Society of Anesthesia Intensive Care (SFAR) French Group for Pediatric Intensive Care Emergencies (GFRUP) the French Dialysis Society (SFD). *Ann Intensive Care*. 2015; 5: 58. doi: 10.1186/s13613-015-0093-5.
14. Parienti JJ, Mongardon N, Megarbane B, Mira JP, Kalfon P, Gros A et al. Intravascular complications of central venous catheterization by insertion site. *N Engl J Med*. 2015; 373 (13): 1220–1229. doi: 10.1056/NEJMoa1500964.
15. Parienti JJ, Megarbane B, Fischer MO, Lautrette A, Gazui N, Marin N et al. Catheter dysfunction and dialysis performance according to vascular access among 736 critically ill adults requiring renal replacement therapy: a randomized controlled study. *Crit Care Med*. 2010; 38: 1118–1125. doi: 10.1097/CCM.0b013e3181d454b3.
16. Coupeze E, Timsit JF, Ruckly S, Schwebel C, Gruson D, Canet E et al. Guidewire exchange vs new site placement for temporary dialysis catheter insertion in ICU patients: is there a greater risk of colonization or dysfunction? *Crit Care*. 2016; 20: 230. doi: 10.1186/s13054-016-1402-6.
17. Chua HR, Schneider AG, Sherry NL, Lotfy N, Chan MJ, Galtieri J et al. Initial and extended use of femoral versus nonfemoral double-lumen vascular catheters and catheter-related infection during continuous renal replacement therapy. *Am J Kidney Dis*. 2014; 64: 909–917. doi: 10.1053/j.ajkd.2014.04.022.
18. Sungur M, Eryuksel E, Yavas S, Bihorac A, Layon AJ, Caruso L. Exit of catheter lock solutions from double lumen acute haemodialysis catheters – an *in vitro* study. *Nephrol Dial Transplant*. 2007; 22: 3533–3537. doi: 10.1093/ndt/gfm452.
19. Correa Barcellos F, Pereira Nunes B, Jorge Valle L, Lopes T, Orlando B, Scherer C et al. Comparative effectiveness of 30% trisodium citrate and heparin lock solution in preventing infection and dysfunction of hemodialysis catheters: a randomized controlled trial (CITRIM trial). *Infection*. 2017; 45 (2): 139–145. doi: 10.1007/s15010-016-0929-4.
20. Landry DL, Braden GL, Gobeille SL, Haessler SD, Vaidya CK, Sweet SJ. Emergence of gentamicin-resistant bacteremia in hemodialysis patients receiving gentami-

- cin lock catheter prophylaxis. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010; 5: 1799–1804. doi: 10.2215/CJN.01270210.
21. Bagshaw SM, Berthiaume LR, Delaney A, Bellomo R. Continuous versus intermittent renal replacement therapy for critically ill patients with acute kidney injury: a meta-analysis. *Crit Care Med*. 2008; 36: 610–617. doi: 10.1097/01.CCM.0B013E3181611F552.
 22. Zhang L, Yang J, Eastwood GM, Zhu G, Tanaka A, Bellomo R. Extended daily dialysis versus continuous renal replacement therapy for acute kidney injury: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis*. 2015; 66: 322–330. doi: 10.1053/j.ajkd.2015.02.328.
 23. Liang KV, Sileanu FE, Clermont G, Murugan R, Pike F, Palevsky PM, Kellum JA. Modality of RRT and recovery of kidney function after AKI in patients surviving to hospital discharge. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2016; 11: 30–38. doi: 10.2215/CJN.01290215.
 24. Schneider AG, Bellomo R, Bagshaw SM, Glassford NJ, Lo S, Jun M et al. Choice of renal replacement therapy modality and dialysis dependence after acute kidney injury: A systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med*. 2013; 39: 987–997. doi: 10.1007/s00134-013-2864-5.
 25. Wald R, Shariff SZ, Adhikari NKJ, Bagshaw SM, Burns KEA, Friedrich JO et al. The association between renal replacement therapy modality and long-term outcomes among critically ill adults with acute kidney injury: A retrospective cohort study. *Crit Care Med*. 2014; 42: 868–877. doi: 10.1097/CCM.0000000000000042.
 26. Nash DM, Przech S, Wald R, O'Reilly D. Systematic review and meta-analysis review and meta-analysis of renal replacement therapy modalities for acute kidney injury in the intensive care unit. *J Crit Care*. 2017; 41: 138–144. doi: 10.1016/j.jcrc.2017.05.002.
 27. Palevsky PM, Zhang JH, O'Connor TZ, Chertow GM, Crowley ST, Choudhury D et al. Intensity of renal support in critically ill patients with acute kidney injury. VA/NIH Acute Renal Failure Trial Network. *N Engl J Med*. 2008; 359: 7–20. doi: 10.1056/NEJMoa0802639.
 28. Bellomo R, Cass A, Cole L, Finfer S, Gallagher M, Lo S et al. Intensity of continuous renal-replacement therapy in critically ill patients. RENAL Replacement Therapy Study Investigators. *N Engl J Med*. 2009; 361 (17): 1627–1638. doi: 10.1056/NEJMoa0902413.
 29. Bagshaw SM, Chakravarthi MR, Ricci Z, Tolwani A, Neri M, De Rosa S et al. ADQI Consensus Group. Precision continuous renal replacement therapy and solute control. *Blood Purif*. 2016; 42: 238–247. doi: 10.1159/000448507.
 30. Sutherland SM, Zappitelli M, Alexander SR, Chua AN, Brophy PD, Bunchman TE et al. Fluid overload and mortality in children receiving continuous renal replacement therapy: the prospective pediatric continuous renal replacement therapy registry. *Am J Kidney Dis*. 2010; 55: 316–325. doi: 10.1053/j.ajkd.2009.10.048.
 31. Teixeira C, Garzotto F, Piccinni P, Brienza N, Iannuzzi M, Gramaticopolo S et al. Fluid balance and urine volume are independent predictors of mortality in acute kidney injury. *Crit Care*. 2013; 17: R14. doi: 10.1186/cc12484.
 32. Garzotto F, Ostermann M, Martin-Langerwerf D, Sanchez-Sanchez M, Teng J, Robert R et al. The dose response multicentre investigation on fluid assessment (DoRE-MIFA) in critically ill patients. *Crit Care*. 2016; 20: 196. doi: 10.1186/s13054-016-1355-9.
 33. De los Reyes VA, Fuertinger DH, Kappel F, Meyring-Wosten A, Thijssen S, Kotanko P. A physiologically based model of vascular refilling during ultrafiltration in hemodialysis. *J Theor Biol*. 2016; 390: 146–155. doi: 10.1016/j.jtbi.2015.11.012.
 34. Sepsis, kidney and multiple organ dysfunction. Proceedings of the Third International Course on Critical Care Nephrology. June 1–4, 2004. Vicenza, Italy *Contrib Nephrol*. 2004; 144: 1–394. PMID: 15295813.
 35. Bai M, Zhou M, He L, Ma F, Li Y, Yu Y et al. Citrate versus heparin anticoagulation for continuous renal replacement therapy: an updated meta-analysis of RCTs. *Intensive Care Med*. 2015; 41: 2098–2110. doi: 10.1007/s00134-015-4099-0.
 36. Klingele M, Seiler S, Poppleton A, Lepper P, Fliser D, Seidel R. The gap between calculated and actual calcium substitution during citrate anticoagulation in an immobilised patient on renal replacement therapy reflects the extent of bone loss – a case report. *BMC Nephrol*. 2014; 15: 163. doi: 10.1186/1471-2369-15-163.
 37. Khadzhyrov D, Schelter C, Lieker I, Mika A, Staeck O, Neumayer H-H et al. Incidence and outcome of metabolic disarrangements consistent with citrate accumulation in critically ill patients undergoing continuous venovenous hemodialysis with regional citrate anticoagulation. *J Crit Care*. 2014; 29 (2): 265–271. doi: 10.1016/j.jcrc.2013.10.015.
 38. Понцов ВН. Почечная функция у больных, находящихся на вспомогательном кровообращении, и реципиентов сердца. *Руководство по экстракорпоральному очищению крови в интенсивной терапии*. Под ред. Л.А. Бокерия, М.Б. Ярустовского. Издание 3-е, М.: НЦССХ им. А.Н. Бакулева МЗ РФ, 2016. 804 с. Poptsov VN. Pochechnaya funktsiya u bol'nykh, nakhodyashchikhsya na vspomogatel'nom krovoob-rashchenii, i retsipientov serdtsa. *Rukovodstvo po ekstrakorporal'nomu ochishcheniyu krovi v intensivnoy terapii*. Pod red. L.A. Bokeriya, M.B. Yarustovskogo. Izdanie 3-e, M.: NTSSSkh im. A.N. Bakuleva MZ RF, 2016. 804.
 39. Tjahjono R, Connellan M, Granger E. Predictors of Acute Kidney Injury in Cardiac Transplantation. *Transplant Proc*. 2016; 48 (1): 167–172. doi: 10.1016/j.transproceed.2015.12.006.
 40. García-Gigorro R, Renes-Carreño E, Peiretti MAC, López PA, Vela JLP, Rodríguez JG et al. Incidence, Risk Factors and Outcomes of Early Acute Kidney Injury After Heart Transplantation: An 18-year Experience. *Transplantation*. 2018; 102 (11): 1901–1908. doi: 10.1097/TP.0000000000002293.
 41. Wang T-J, Lin C-H, Wei H-J, Wu M-J. Long-Term Outcomes and Risk Factors of Renal Failure Requiring Dialysis after Heart Transplantation: A Nationwide Cohort Study. *J Clin Med*. 2020; 9 (8): 2455. <https://doi.org/10.3390/jcm9082455>.

42. Wang L, Wang T, Rushton SN, Parry G, Dark JH, Sheerin NS. The impact of severe acute kidney injury requiring renal replacement therapy on survival and renal function of heart transplant recipients – a UK cohort study. *Transpl Int*. 2020 Jun 16. doi: 10.1111/tri.13675.
43. Guven G, Brankovic M, Constantinescu AA, Brugts JJ, Hesselink DA. Preoperative right heart hemodynamics predict postoperative acute kidney injury after heart transplantation. *Intensive Care Med*. 2018; 44: 588–597. doi: 10.1007/s00134-018-5159-z.
44. Shen B, Xu J, Lv W, Jiang W, Wang Y, Nie Y et al. Efficacy of Early Goal-Directed Renal Replacement Therapy for the Treatment of Acute Kidney Injury After Heart Transplantation: A Single-Center 10-Year Experience. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2020; 34 (6): 1534–1541. doi: 10.1053/j.jvca.2019.11.022.
45. Lund LH, Edwards LB, Dipchand AI, Goldfarb S, Kucheryavaya AY, Levvey BJ et al. International Society for Heart and Lung Transplantation. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-third Adult Heart Transplantation Report – 2016; Focus Theme: Primary Diagnostic Indications for Transplant. *J Heart Lung Transplant*. 2016; 35 (10): 1158–1169. doi: 10.1016/j.healun.2016.08.017.
46. Ivey-Miranda JB, Flores-Umanzor E, Farrero-Torres M, Santiago E, Cepas-Guillen PL, Perez-Villa F. Predictors of renal replacement therapy after heart transplantation and its impact on long-term survival. *Clin Transplant*. 2018; 32 (10): e13401. doi: 10.1111/ctr.13401.
47. Kolsrud O, Karason K, Holmberg E, Ricksten S-E, Fellidin M, Samuelsson O, Dellgren G. Renal function and outcome after heart transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2018; 155 (4): 1593–1604. doi: 10.1016/j.jtcvs.2017.11.087.
48. Jokinen JJ, Tikkanen J, Kukkonen S, Hämmäinen P, Lommi J, Sipponen J, Lemström KB. Natural course and risk factors for impaired renal function during the first year after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2010; 29 (6): 633–640. doi: 10.1016/j.healun.2010.01.004.
49. Gude E, Andreassen AK, Arora S, Gullestad L, Grov I, Hartmann A et al. Acute renal failure early after heart transplantation: risk factors and clinical consequences. *Clin Transplant*. 2010; 24 (6): E207–E213. doi: 10.1111/j.1399-0012.2010.01225.x.
50. Fortrie G, Manintveld OC, Constantinescu AA, van de Woestijne PC, Betjes MGH. Renal function at 1 year after cardiac transplantation rather than acute kidney injury is highly associated with long-term patient survival and loss of renal function – a retrospective cohort study. *Transpl Int*. 2017; 30 (8): 788–798. doi: 10.1111/tri.12940.
51. 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. *J Heart Lung Transplant*. 2017; 36 (10): 1037–1046. doi: 10.1016/j.healun.2017.07.019.
52. Puttarajappa CM, Bernardo JF, John A Kellum JA. Renal Complications Following Lung Transplantation and Heart Transplantation. *Crit Care Clin*. 2019; 35 (1): 61–73. doi: 10.1016/j.ccc.2018.08.009.
53. El-Husseini A, Aghil A, Ramirez J, Sawaya B, Rajagopalan N, Baz M et al. Outcome of kidney transplant in primary, repeat, and kidney-after-nonrenal solid-organ transplantation: 15-year analysis of recent UNOS database. *Clin Transplant*. 2017; 31 (11): e13108. doi: 10.1111/ctr.13108.
54. Cassuto JR, Reese PP, Sonnad S, Bloom RD, Levine MH, Olthoff KM et al. Wait list death and survival benefit of kidney transplantation among nonrenal transplant recipients. *Am J Transplant*. 2010; 10 (11): 2502–2511. doi: 10.1111/j.1600-6143.2010.03292.x.
55. Grupper Av, Grupper Ay, Daly RC, Pereira NL, Hathcock MA, Kremers WK et al. Kidney transplantation as a therapeutic option for end-stage renal disease developing after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2017; 36 (3): 297–304. doi: 10.1016/j.healun.2016.08.004.
56. Roest S, Hesselink DA, Klimczak-Tomaniak D, Kardys J, Caliskan K, Brugts JJ et al. Incidence of end-stage renal disease after heart transplantation and effect of its treatment on survival. *ESC Heart Fail*. 2020; 7 (2): 533–541. doi: 10.1002/ehf2.12585.
57. Vermes E, Grimbert P, Sebbag L, Barrou B, Pouteil-Noble C, Pavie A. Long-term results of combined heart and kidney transplantation: a French multicenter study. *J Heart Lung Transplant*. 2009; 28 (5): 440–445. doi: 10.1016/j.healun.2009.01.020.
58. Czer LSC, Ruzza A, Vespignani R, Jordan S, De Robertis MA, Mirocha J et al. Survival and allograft rejection rates after combined heart and kidney transplantation in comparison with heart transplantation alone. *Transplant Proc*. 2011; 43 (10): 3869–3876. doi: 10.1016/j.transproceed.2011.08.095.
59. Hermsen JL, Nath DS, del Rio AM, Eickstaedt JB, Wigfield C, Lindsey JD, Edwards NM. Combined heart-kidney transplantation: the University of Wisconsin experience. *J Heart Lung Transplant*. 2007; 26 (11): 1119–1126. doi: 10.1016/j.healun.2007.08.011.
60. Pinderski LJ, Kirklin JK, McGiffin D, Brown R, Nafzel DC, Young KR Jr et al. Multi-organ transplantation: is there a protective effect against acute and chronic rejection? *J Heart Lung Transplant*. 2005; 24 (11): 1828–1833. doi: 10.1016/j.healun.2005.03.015.
61. Rana A, Robles S, Russo MJ, Halazun KJ, Woodland DC, Witkowski P et al. The combined organ effect: protection against rejection? *Ann Surg*. 2008; 248 (5): 871–879. doi: 10.1097/SLA.0b013e31817fc2b8.
62. Шевченко ОП, Курабекова РМ, Цирульникова ОМ. Биомаркеры иммунной толерантности при трансплантации печени. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2016; 18 (3): 137–144. Shevchenko OP, Kurabekova RM, Tsiroulnikova OM. Biomarkers of immune tolerance in liver transplantation. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2016; 18 (3): 137–144. (In Russ.). <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2016-3-137-144>.

63. Ruzza A, Czer LSC, Trento A, Esmailian F. Combined heart and kidney transplantation: what is the appropriate surgical sequence? *Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery*. 2013; 17: 416–418. doi: 10.1093/icvts/ivt172.
64. Chacon MM, Roberts EK. Dilemmas for the Cardiac Anesthesiologist: Managing Conflicting Fluid Management Strategies During Combined Heart-Kidney Transplantation. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2018; 32 (1): 50–52. doi: 10.1053/j.jvca.2017.10.044.
65. Awad M, Czera LSC, Esmailian F, Jordan S, De Robertis MA, Mirocha J et al. Combined Heart and Kidney Transplantation: A 23-Year Experience. *Transplant Proc*. 2017; 49 (2): 348–353. doi: 10.1016/j.transproceed.2016.11.040.
66. Toinet T, Dominique I, Cholley I, Vanalderwerelt V, Goujon A, Paret F et al. Renal outcome after simultaneous heart and kidney transplantation. *Clin Transplant*. 2019; 33 (7): e13615. doi: 10.1111/ctr.13615.
67. Raichlin E, Kushwaha SS, Daly RC, Kremers WK, Frantz RP, Clavell AL et al. Combined heart and kidney transplantation provides an excellent survival and decreases risk of cardiac cellular rejection and coronary allograft vasculopathy. *Transplant Proc*. 2011; 43 (5): 1871–1876. doi: 10.1016/j.transproceed.2011.01.190.
68. Karamlou T, Welke KF, McMullan DM, Cohen GA, Gelow J, Tibayan FA et al. Combined heart-kidney transplant improves post-transplant survival compared with isolated heart transplant in recipients with reduced glomerular filtration rate: Analysis of 593 combined heart-kidney transplants from the United Network Organ Sharing Database. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2014; 147 (1): 456–461. doi: 10.1016/j.jtcvs.2013.09.017.
69. Ramsingh D, Harvey R, Runyon A, Benggon M. Anesthesia for Heart Transplantation. *Anesthesiol Clin*. 2017; 35 (3): 453–471. doi: 10.1016/j.anclin.2017.05.002.
70. Awad MA, Czer LSC, Emerson D, Jordan S, De Robertis MA, Mirocha J et al. Combined Heart and Kidney Transplantation: Clinical Experience in 100 Consecutive Patients. *J Am Heart Assoc*. 2019; 8 (4): e010570. doi: 10.1161/JAHA.118.010570.
71. Kilic A, Grimm JC, Whitman GJR, Shah AS, Mandal K, Conte JV, Sciortino CM. The survival benefit of simultaneous heart-kidney transplantation extends beyond dialysis-dependent patients. *Ann Thorac Surg*. 2015; 99 (4): 1321–1327. doi: 10.1016/j.athoracsur.2014.09.026.
72. Schaffer JM, Chiu P, Singh SK, Oyer PE, Reitz BA, Mallidi HR. Heart and Combined Heart–Kidney Transplantation in Patients With Concomitant Renal Insufficiency and End-Stage Heart Failure. *American Journal of Transplantation*. 2014; 14: 384–396. doi: 10.1111/ajt.12522.
73. Melvinsdottir I, Foley DP, Hess T, Gunnarsson SI, Kohmoto T, Hermsen J et al. Heart and kidney transplant: should they be combined or subsequent? *ESC Heart Fail*. 2020; 7 (5): 2734–2743. doi: 10.1002/ehf2.12864.
74. Gallo M, Trivedi JR, Schumer EM, Slaughter MS. Combined Heart-Kidney Transplant Versus Sequential Kidney Transplant in Heart Transplant Recipients. *J Card Fail*. 2020; 26 (7): 574–579. doi: 10.1016/j.cardfail.2020.03.002.
75. Поз ЯЛ, Строчков АГ, Поццов ВН, Копылова ЮВ, Крышин КН. Повреждение почек и заместительная почечная терапия у реципиента сердечного трансплантата. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2017; 19 (1): 52–56. Poz YL, Strokov AG, Poptsov VN, Kopylova YuV, Kryshin KN. Kidney injury and renal replacement therapy in heart transplant recipient. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2017; 19 (1): 52–56. [In Russ.]. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2017-1-52-56>.
76. Поццов ВН. Сочетанная трансплантация сердца и почки. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2016; 18 (1): 78–82. Poptsov VN. Combined heart-kidney transplantation. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2016; 18 (1): 78–82. [In Russ.]. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2016-1-78-82>.

Статья поступила в редакцию 23.07.2021 г.
The article was submitted to the journal on 23.07.2021

DOI: 10.15825/1995-1191-2021-4-73-78

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВОЙ СИСТЕМЫ ГЕНЕРАЦИИ ПУЛЬСИРУЮЩЕГО ПОТОКА В РОТОРНЫХ НАСОСАХ ВСПОМОГАТЕЛЬНОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ. ИССЛЕДОВАНИЕ НА МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ

Г.П. Иткин^{1, 2}, А.И. Сырбу², А.П. Кулешов¹, А.С. Бучнев¹, А.А. Дробышев¹

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

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

Цель работы: на математической модели исследовать влияние устройства генерации пульсирующего потока (ГПП) на основные гемодинамические параметры системы кровообращения. **Результаты.** В результате моделирования показано значительное (76%) увеличение пульсового давления в аорте при использовании ГПП. Предложенная математическая модель адекватно описывает динамику системы кровообращения и метаболизма (кислородный долг) на физическую нагрузку в условиях нормы и сердечной недостаточности и применения неппульсирующей и пульсирующей системы вспомогательного кровообращения. На математической модели показано также, что применение устройства ГПП блокирует развитие разрежения в полости левого желудочка, связанного с несоответствием притока и оттока крови в диастолической фазе, при необходимости увеличения системного кровотока за счет повышения скорости роторного насоса.

Ключевые слова: математическая модель, система кровообращения, роторный насос неппульсирующего потока, генерация пульсирующего потока.

EVALUATION OF THE EFFICIENCY OF A NEW PULSATILE FLOW-GENERATING CIRCULATORY-ASSIST SYSTEM IN ROTARY BLOOD PUMPS. RESEARCH ON A MATHEMATICAL MODEL

G.P. Itkin^{1, 2}, A.I. Syrbu², A.P. Kyleshov¹, A.S. Buchnev¹, A.A. Drobyshev¹

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

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

Objective: to study the effect of a pulsatile flow-generation (PFG) device on the basic hemodynamic parameters of the circulatory system using a mathematical model. **Results.** Modelling and simulation showed that the use of PFG significantly (76%) increases aortic pulse pressure. The proposed mathematical model adequately describes the dynamics of the circulatory system and metabolism (oxygen debt) on physical activity in normal conditions and heart failure, and the use of non-pulsatile and pulsatile circulatory-assist systems. The mathematical model also shows that the use of PFG device blocks the development of rarefaction in the left ventricular cavity associated with a mismatch of blood inflow and outflow in diastolic phase when there is need to increase systemic blood flow by increasing the rotary pump speed.

Keywords: mathematical model, circulatory system, pulsatile rotary blood pump, pulsatile flow generation.

Для корреспонденции: Иткин Георгий Пинкусович. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел (916) 129-78-33. E-mail: georgeitkin@mail.ru.

Corresponding author: George Itkin. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (916) 129-78-33. E-mail: georgeitkin@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия в клинической практике роторные насосы неп пульсирующего потока (ННП) практически вытеснили объемные насосы пульсирующего потока (НПП) в качестве моста к трансплантации сердца и целевой терапии, что связано с преимуществом этих насосов в весогабаритных, энергетических и эксплуатационных характеристиках. Это способствовало повышению выживаемости пациентов с терминальной стадией сердечной недостаточности (СН) [1–3]. Однако длительное применение ННП приводит к ряду осложнений, связанных с низкой пульсацией аортального давления. К ним относятся желудочно-кишечные кровотечения, артериовенозная мальформация, недостаточность аортального клапана и др. [4–7]. Кроме того, данные насосы показали низкую разгрузку сердца по сравнению с НПП, являющуюся одним из основных факторов восстановления сократимости собственного миокарда [8, 9]. В ряде работ показана важная роль пульсирующего потока не только в имплантируемых системах, но и в экстракорпоральных системах кратковременной механической поддержки кровообращения, включая системы сердечно-легочного обхода [10, 11]. Поэтому в последнее десятилетие внимание исследователей было направлено на разработку различных методов генерации пульсирующего потока (ГПП) [12–14].

Одним из основных направлений оценки эффективности данных методов является использование математических моделей (ММ), позволяющих по сравнению с исследованиями на гидродинамических имитаторах системы кровообращения более полно анализировать работу систем вспомогательного кровообращения (ВК) в динамическом диапазоне изменения параметров системы кровообращения (в условиях физической нагрузки, изменения сократимости миокарда и др.). В частности, применение методов ММ позволит проводить сравнительную оценку эффективности методов ВК с использованием ННП в стандартном режиме и в режиме ГПП. В данной работе проведен сравнительный анализ системы кровообращения при включении устройств обхода левого желудочка сердца (ОЛЖ) с использованием ННП в стандартном неп пульсирующем режиме и в режиме ГПП [15].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Основная структура математической модели сердечно-сосудистой системы (ССС) представлена в работе А.И. Сырбу с соавт. [16]. В данную модель дополнительно включены модули ННП, генератор пульсового потока (ГПП) [15], а также элемент, имитирующий эффект развития разрежения в левом желудочке (ЛЖ), возникающий при высоких

оборотах ННП [17]. Данная ММ разработана в среде Matlab Simulink с использованием метода электрогидравлических аналогов и описывает большой круг кровообращения, который состоит из модулей (рис. 1): левого желудочка (ЛЖ), левого предсердия (ЛП), аортального (АК) и митрального клапанов (МК), аортальной (АО), периферической (П) и венозной (В) секций, коронарных сосудов (К), а также контуров регуляции: барорецепторной (Б), кислородного долга (O₂) и частоты сердечных сокращений (ЧСС). Штриховыми линиями на рис. 1 выделены ННП, генератор пульсирующего потока ГПП и элемент, имитирующий разрежение в ЛЖ (Р).

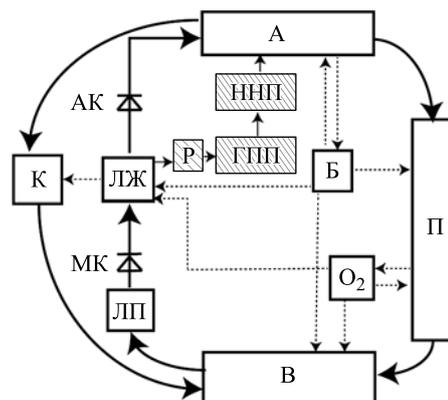


Рис. 1. Структурная схема математической модели

Fig. 1. Mathematical model block diagram

Данная ММ позволяет провести сравнительное исследование работы ССС с включением ННП в стандартном режиме и с работой НПП с включением ГПП. Дополнительные модули, включенные в состав математической модели ССС, описываются следующими основными соотношениями.

Поток крови через ННП определяется выражением [17]:

$$dQ_{vad}/dt = (P(Q_{vad}) - (P_{ao} - P_{lv}) - R_c Q_{vad}) / L_c,$$

где $P(Q_{vad})$ – зависимость давления, создаваемого ННП, от потока через него, которая определяется из расходно-напорной характеристики ННП, P_{ao} – аортальное давление, P_{lv} – давление в ЛЖ, R_c и L_c – сопротивление и инерция канюли.

Давление, создаваемое ННП, описывается дифференциальным уравнением [17]:

$$P(Q_{vad}) = aQ_{vad} + bdQ_{vad}/dt + cw^2,$$

где Q_{vad} – поток крови через ННП; w – обороты ротора насоса; a, b, c – коэффициенты; dQ/dt – оператор дифференцирования по времени. Коэффициенты были подобраны из расходно-напорной характеристики центробежного насоса HeartWare HVAD [18].

ГПП содержит гидравлическое сопротивление, выполненное в виде коннектора, в который помещена трубка из эластичного биосовместимого материала, герметично закрепленная концами по торцам цилиндра с его внутренней стороны (рис. 2).

Данная трубка полностью раскрывается при давлении больше некоторого P_2 в систолическую фазу и частично закрывается, когда давление снижается ниже P_1 , в диастолическую фазу ЛЖ, тем самым повышая гидравлическое сопротивление потоку крови.

Для описания устройства ГПП использовалось следующее уравнение:

$$R_{\text{гпп}} = \frac{(P_2 - P_{lv})R_{\text{max}}}{P_1 - P_2}, R_{\text{гпп}} \geq 0,$$

где R_{max} – наибольшее значение гидравлического сопротивления в диастолу, P_1 – давление, при котором эластичная трубка частично спадается, P_2 – давление, при котором эластичная трубка раскрывается и сопротивление минимально ($R_{\text{min}} = 0$).

Одна из проблем, связанных с работой ННП в режиме повышенных СОР, необходимом для нормализации системного кровообращения и лучшей разгрузки ЛЖ, является опасность развития разрежения в полости ЛЖ, связанного с несоответствием притока и оттока крови через насос в диастолической фазе. Это может привести к повреждению ткани в области входной канюли, смещению межжелудочковой перегородки, ухудшению функции правого желудочка, аритмии, ишемии сердца и гемолизу [19].

Для описания данного эффекта нами использовалась следующая кусочно-заданная функция [20, 21]:

$$R = \begin{cases} 0; & P_{lv} \geq P_{th} \\ -3,5P_{lv} + 3,5P_{th}; & P_{lv} < P_{th} \end{cases}$$

где R – дополнительное сопротивление на входе ННП, P_{th} – пороговое значение.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На рис. 3 показаны зависимости от времени АД, системного кровотока и ЧСС при моделировании:

СН (временной интервал I: 0–30 с), подключение ННП без ГПП (временной интервал II: 30–60 с) и с подключением ГПП без изменения режима работы ННП (временной интервал III: 60–90 с) и при повышении скорости оборотов ННП (временной интервал IV: 90–120 с).

Анализ зависимостей, представленных на рис. 3, показывает следующее: подключение ННП приводит к изменению основных параметров гемодинамики: увеличению среднего АД до 114/100 мм рт. ст. и кровотока до 4,2 л/мин и уменьшению ЧСС до 75 уд./мин. При этом качественный характер зависимостей и полученные значения параметров гемодинамики соответствуют приведенным в литературе данным [22]. В свою очередь, подключение ГПП при неизменной скорости оборотов ротора ННП приводит к уменьшению кровотока и аортального давления при нормализации пульсирующего характера кровотока в аорте. Поэтому для нормализации среднего АД и системного кровотока скорость оборотов ННП увеличивали на 15%. При этом сопутствующим эффектом является дальнейшее увеличение пульсации АД на 76% по сравнению с ННП без ГПП.

Данная модель также позволяет производить оценку работы ННП в условиях физической нагрузки. При подключении ГПП пульсовое давление возрастает с 10 до 24 мм рт. ст., или на 140%.

На рис. 4 показаны зависимости аортального давления (АД), системного кровотока (СК), ЧСС и кислородного долга (ДО) от времени при моделировании: физиологической нормы (а), СН (б), физической нагрузки в условиях СН (в), физической нагрузки в условиях СН с подключенным ННП (г) и с включением ГПП с повышением оборотов ННП (д).

Результаты согласуются с экспериментальными данными, полученными в работе [22] при исследовании физической нагрузки на больных СН с ННП.

Как указывалось выше, одной из проблем клинического применения ННП является эффект развития разрежения в диастолической фазе ЛЖ при необхо-

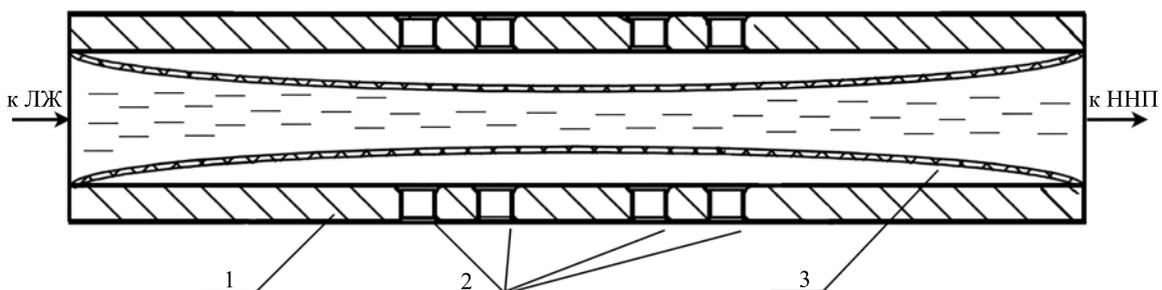


Рис. 2. Схема ГПП (1 – коннектор, 2 – отверстия с выходом в атмосферу или компенсационную камеру, 3 – эластичная трубка)

Fig. 2. Generator of pulsatile flow scheme (1 – connector, 2 – openings to atmosphere or compensation camera, 3 – elastic tube)

димости увеличения системного кровотока за счет повышения оборотов НПП [23, 24].

На ММ проводилась оценка данного эффекта при повышении оборотов НПП (15%) в стандартном режиме и при подключении ГПП (рис. 5).

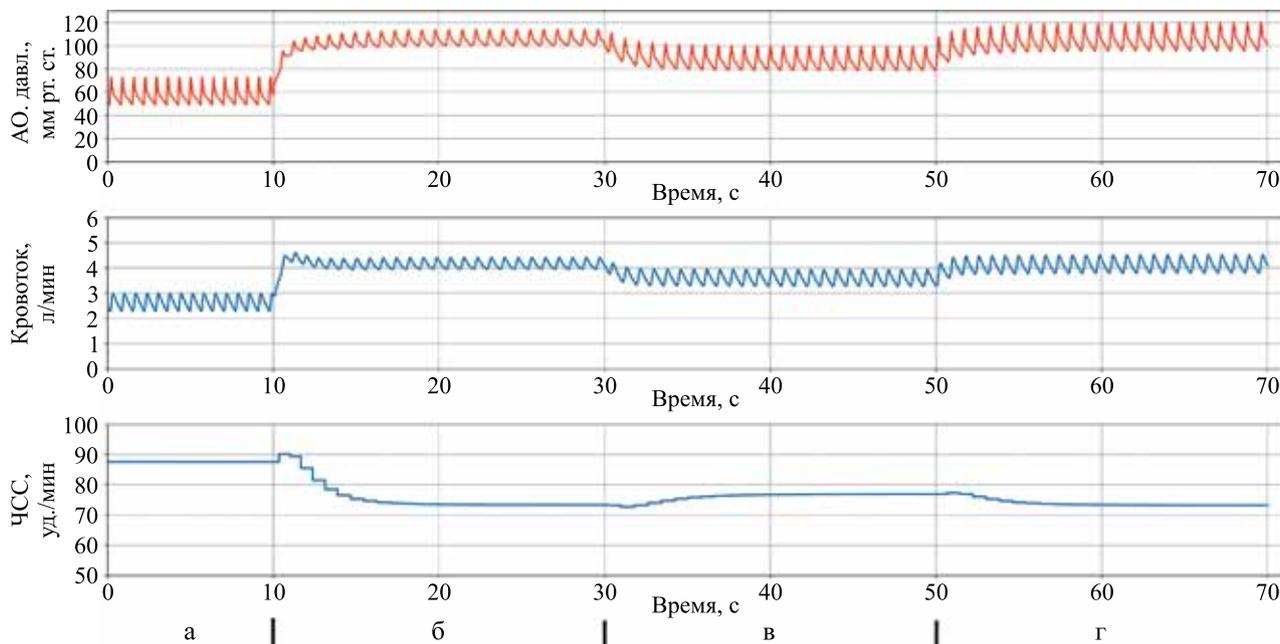


Рис. 3. Зависимости АД, СК и ЧСС от времени для моделируемых состояний: СН (а), подключение НПП (б), НПП с ГПП без (в) и с увеличением скорости оборотов ротора (г)

Fig. 3. Aortic pressure, blood flow, beats-per-minute during modelling of heart failure (HF) (а), HF with continuous flow ventricular assist device (CF-VAD) (б), HF with CF-VAD and a GPF without (в) and with (г) rotational speed increase

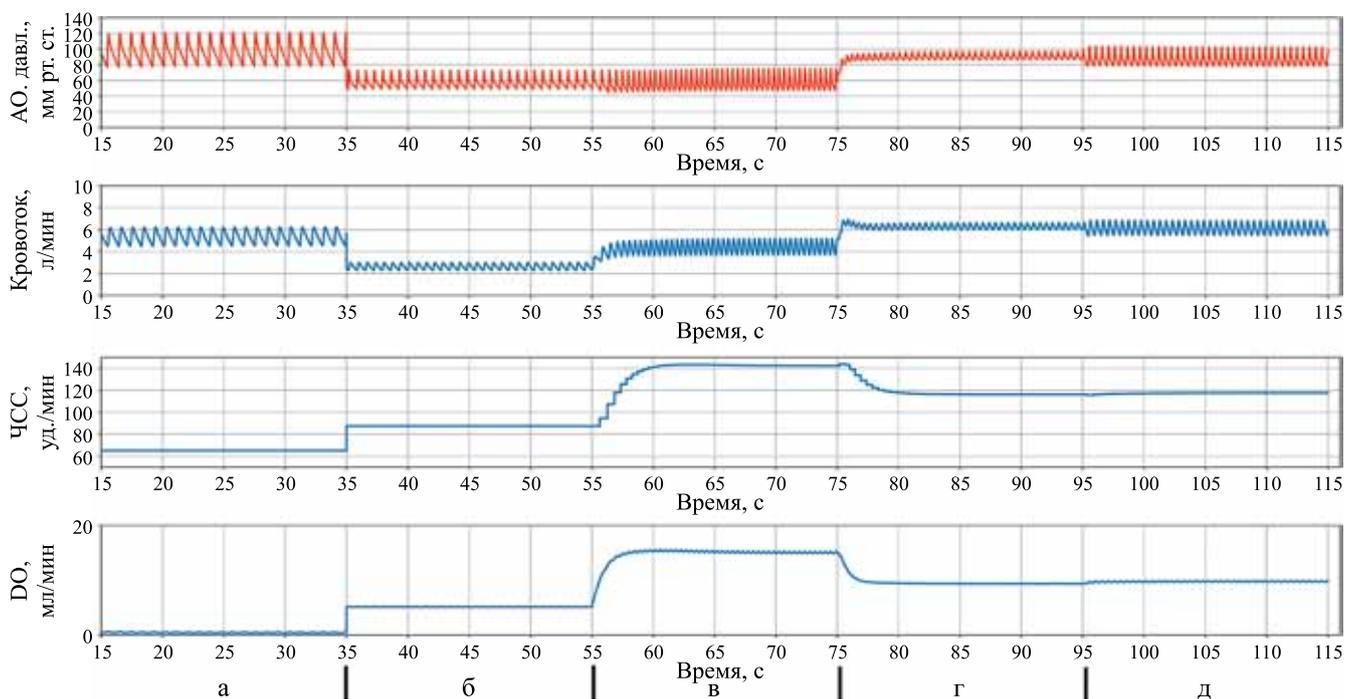


Рис. 4. Зависимости АД, СК, ЧСС и кислородного долга от времени при моделировании физиологической нормы (а), СН (б), физической нагрузки в условиях СН (в), с подключенным НПП (г) и подключении ГПП (д)

Fig. 4. Aortic pressure, blood flow, beats-per-minute and oxygen debt during modelling of the physiological norm (а), heart failure (б), physical exercise (PE) (в), PE with continuous flow ventricular assist device (CF-VAD) (г) and PE with CF-VAD and a generator of pulsatile flow (GPF) (д)

Результаты моделирования показывают, что в стандартном режиме ННП разрежение достигало -58 мм рт. ст., а при подключении ГПП опасный эффект разрежения на входе ЛЖ полностью пропал.

На рис. 6 показана зависимость артериального давления от эластичности ЛЖ при моделировании СН с ННП и ГПП. Увеличение эластичности привело к увеличению среднего АД с 90 до 110 мм рт. ст. и увеличению пульсового давления с 20 до 30 мм рт. ст.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Компьютерная ММ большого круга кровообращения человека, построенная на основе разработанной ранее авторами модели [16], позволяет исследовать

состояние системы кровообращения в условиях сердечной недостаточности при подключении ВК в режиме ОЛЖ в стандартном режиме ННП и при подключении ГПП. В результате моделирования показано значительное (76 и 140% без физической нагрузки и при физической нагрузке) увеличение пульсового давления в аорте, а также предотвращение возникновения области разрежения в левом желудочке при использовании переменного гидравлического сопротивления. Показана возможность моделирования подключения нового устройства – ГПП, что открывает возможность постановки задачи оптимизации как параметров самого устройства ГПП, так и совокупности параметров ГПП и ННП (режимы

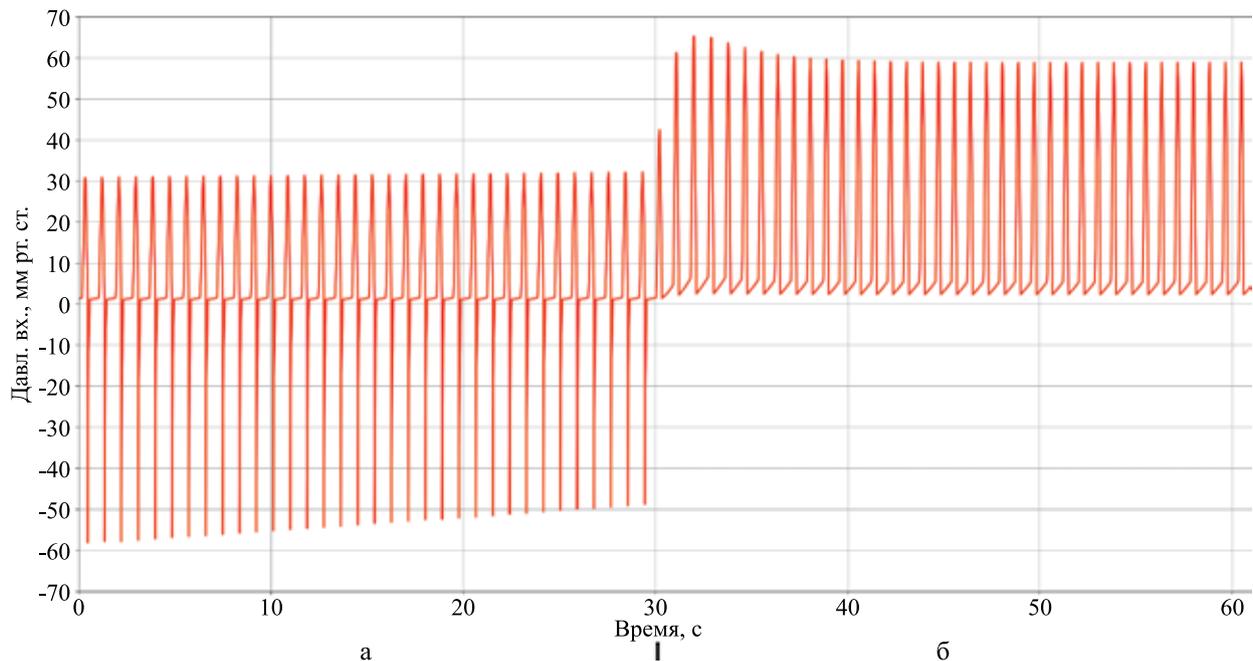


Рис. 5. Зависимость давления на входе ННП при высоких оборотах ротора без ГПП (а) и с ГПП (б)

Fig. 5. Inlet CF-VAD pressure on high rotational speed without (a) and with a GPF (б)

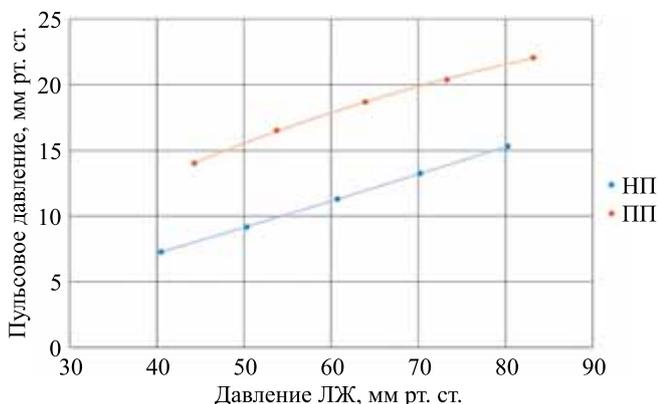


Рис. 6. Изменение пульсового давления при увеличении давления в ЛЖ при СН с ННП и ГПП

Fig. 6. Relation between pulse pressure and ventricular pressure in heart failure with CF-VAD and GPF

работы ННП, давление на выходе ННП при разных параметрах ГПП и другие). Дальнейшее направление исследований связано именно с решением задач оптимизации данных устройств.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Kirklin JK, Naftel DC, Pagani FD, Kormos RL, Stevenson LW, Blume ED et al. INTERMACS annual report: 15,000 patients and counting. *J Heart Lung Transplant.* 2015; 34: 1495–1504.
2. Slaughter SM, Rogers JG, Milano CA, Russell SD, Conte JV et al. Advanced heart failure treated with con-

- tinuous-flow left ventricular assist device. *N Engl J Med*. 2009; 361: 2241–2251.
3. Rogers JG, Aaronson KD, Boyle AJ, Russell CA, Milano SD, Pagani FD et al. Continuous flow left ventricular assist device improves functional capacity and quality of life of advanced heart failure patients. *J Am Coll Cardiol*. 2010; 55: 1826–1834.
 4. Saito S, Westaby S, Piggot D, Dudnikov S, Robson D, Catarino PA et al. End-organ function during chronic nonpulsatile circulation. *Annals of Thoracic Surgery*. 2002; 74: 1080–1085.
 5. Crow S, John R, Boyle A, Shumway S, Liao K, Colvin-Adams M et al. Gastrointestinal bleeding rates in recipients of nonpulsatile and pulsatile left ventricular assist devices. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2009; 137: 208–215.
 6. Letsou GV, Connelly JH, Delgado RM 3rd, Myers TJ, Gregoric ID, Smart FW et al. Is native aortic valve commissural fusion in patients with long-term left ventricular assist devices associated with clinically important aortic insufficiency. *Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2006; 25: 395–399.
 7. Nishimura T, Tatsumi E, Takaichi S, Taenaka Y, Wakisaka Y, Nakatani T et al. Prolonged nonpulsatile left heart bypass with reduced systemic pulse pressure causes morphological changes in the aortic wall. *Artificial Organs*. 1998; 22: 405–410.
 8. Birks EJ, George RS, Hedger M, Bahrami T, Wilton P, Bowles CT et al. Reversal of severe heart failure with a continuous-flow left ventricular assist device and pharmacological therapy: a prospective study. *Circulation*. 2011; 123: 381–390.
 9. Birks EJ, George RS, Firouzi A, Wright G, Bahrami T, Yacoub MH et al. Long-term outcomes of patients bridged to recovery versus patients bridged to transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2012; 144: 190–196.
 10. Wang S, Evenson A, Chin BJ, Kunselman AR, Undar A. Evaluation of conventional non-pulsatile and novel pulsatile ECLS systems in a simulated pediatric ECLS model. *Artificial Organs*. 2015; 39: 1–9.
 11. Wang S, Kunselman AR, Clark JB, Undar A. In vitro hemodynamic evaluation of a novel pulsatile ECLS system: impact of perfusion modes and circuit components on energy loss. *Artificial Organs*. 2015; 39: 59–66.
 12. Ising MS, Sobieski MA, Slaughter MS, Koenig SC, Giridharan GA. Feasibility of pump speed modulation for restoring vascular pulsatility with rotary blood pumps. *ASAIO J*. 2015; 61 (5): 526–532.
 13. Vandenberghe S, Segers P, Antaki JF, Meyns B, Verdonck PR. Rapid Speed Modulation of a Rotary Total Artificial Heart Impeller. *Artificial Organs*. 2016; 40: 824–833.
 14. Soucy KG, Giridharan GA, Choi Y, Sobieski MA, Monreal G, Cheng A. et al. Rotary pump speed modulation for generating pulsatile flow and phasic left ventricular volume unloading in a bovine model of chronic ischemic heart failure. *J Heart Lung Transplant*. 2015; 34: 122–131.
 15. Иткин ГП, Дробышев АА, Бучнев АС, Кулешов АП, Носов МС. Устройство управления потоком крови в экстракорпоральных системах вспомогательного кровообращения. Патент RU 201911. Патентообладатель: ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России. 2020. № 201911 от 21.01.2021 г. Itkin GP, Drobyshev AA, Buchnev AS, Kuleshov AP, Nosov MS. Ustroystvo upravleniya potokom krovi v ekstrakorporal'nykh sistemakh vspomogatel'nogo krovoobrashcheniya. Patent RU 201911. Patentobladatel': FGBU «NMITs TIO im. ak. V.I. Shumakova» Minzdrava Rossii. 2020. № 201911 от 21.01.2021 г.
 16. Сырбу АИ, Иткин ГП, Кулешов АП, Гайдаи НА. Математическая модель нейрогуморальной регуляции системы кровообращения. *Медицинская техника*. 2021; 4: 41–44. Syrbu AI, Itkin GP, Kuleshov AP, Gayday NA. Matematicheskaya model' neyrohumoral'noy regulyatsii sistemy krovoobrashcheniya. *Meditinskaya tekhnika*. 2021; 4: 41–44.
 17. Ferreira A, Chen S, Simaan MA, Boston JR, Antaki JF. A nonlinear state-space model of a combined cardiovascular system and a rotary pump. In *Proceedings of the 44th IEEE Conference on Decision and Control*. 2005; 15: 897–902.
 18. LaRose JA, Tamez D, Ashenuga M, Reyes C. Design concepts and principle of operation of the HeartWare ventricular assist system. *ASAIO J*. 2010; 56 (4): 285–289.
 19. Yuhki A, Hatoh E, Nogawa M, Miura M, Shimazaki Y, Takatani S. Detection of suction and regurgitation of the implantable centrifugal pump based on the motor current waveform analysis and its application to optimization of pump flow. *Artificial Organs*. 1999; 23: 532–537.
 20. Gohean JR, George MJ, Pate TD, Kurusz M, Longoria RG, Smalling RW. Verification of a computational cardiovascular system model comparing the hemodynamics of a continuous flow to a synchronous valveless pulsatile flow left ventricular assist device. *ASAIO J*. 2013; 59: 107.
 21. Horvath DJ, Horvath DW, Karimov JH, Kuban BD, Miyamoto T, Fukamachi K. A simulation tool for mechanical circulatory support device interaction with diseased states. *Artificial Organs*. 2020; 14: 1–9.
 22. Hambrecht R, Gielen S, Linke A, Fiehn E, Yu J, Walther C, Schoene N, Schuler G. Effects of exercise training on left ventricular function and peripheral resistance in patients with chronic heart failure: a randomized trial. *Jama*. 2000; 283 (23): 3095–3101.
 23. Tchanchaleishvili V, Jessica GY, Luc JGY, Cohan CM, Phan K, Hübbert L et al. Clinical implications of physiological flow adjustment in continuous-flow left ventricular assist devices. *ASAIO J*. 2017; 63: 241–250.
 24. Шумаков ВИ, Иткин ГП, Штенгольд ЕШ, Егоров ТЛ. Исследование шунтирования левого желудочка сердца в условиях дозированной сердечной недостаточности на математической модели. *Scripta medica*. 1973; 48: 475–489. Shumakov VI, Itkin GP, Shtengol'd ESh, Egorov TL. Issledovanie shuntirovaniya levogo zheludochka serdtsa v usloviyakh dozirovannoy serdechnoy nedostatochnosti na matematicheskoy modeli. *Scripta medica*. 1973; 48: 475–489.

Статья поступила в редакцию 11.10.2021 г.
The article was submitted to the journal on 11.10.2021

DOI: 10.15825/1995-1191-2021-4-79-85

РАЗРАБОТКА КОНСТРУКЦИИ И 3D-МОДЕЛИ УСТРОЙСТВА ДИНАМИЧЕСКОЙ ФИЛЬТРАЦИИ МИКРОПУЗЫРЬКОВ ДЛЯ СИСТЕМ ИСКУССТВЕННОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

А.П. Кулешов¹, А.С. Бучнев¹, А.А. Дробышев¹, Г.П. Иткин^{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 «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)», Москва, Российская Федерация

При использовании систем экстракорпорального кровообращения (АИК, ЭКМО) существует вероятность микроэмболии сосудов головного мозга и сердца, что существенно снижает постоперационную реабилитацию и нередко приводит к тяжелым осложнениям. Микроэмболия возникает из-за попадания микропузырьков (МП) кислорода или воздуха в артериальную систему пациентов. Существующие системы АИК имеют встроенные системы регистрации МП, но не включают системы удаления МП в контуре. Аппараты ЭКМО имеют артериальные фильтры, но не могут обеспечить надежную фильтрацию МП размером меньше 40 мкм в широком диапазоне расхода. Нами предложен альтернативный метод, который предполагает применение эффективного устройства динамической фильтрации (УДФ) как больших, так и малых пузырьков. Проектирование включает разработку двух вариантов УДФ для условий гемодинамики как взрослого, так и педиатрического пациентов. Устройство устанавливается в выходной магистрали АИК и ЭКМО и обеспечивает достаточную сепарацию пузырьков из магистралей в диапазоне кровотока 3,0–5,0 л/мин для взрослого пациента и 0,5–2,0 л/мин для педиатрического пациента. Разработанные компьютерные модели показали возможность сепарации МП размером менее 10 мкм. Применение данного устройства позволит уменьшить вероятность воздушной эмболии в несколько раз и позволит пересмотреть концепцию применения дорогостоящих артериальных фильтров.

Ключевые слова: сердечно-легочный обход, микропузырьки, ЭКМО.

DESIGN AND 3D-MODEL OF A DYNAMIC BUBBLE TRAP FOR CARDIOPULMONARY BYPASS

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

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

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

The use of extracorporeal circulation systems (cardiopulmonary bypass pumps, ECMO) can lead to brain and coronary artery microembolism, which significantly reduces postoperative rehabilitation and often leads to severe complications. Microembolism occurs when oxygen or air microbubbles (MBs) enter the arterial system of patients. Existing CPB pumps come with built-in bubble trap systems but cannot remove bubbles in the circuit. ECMO devices have arterial filters but cannot reliably filter out <40 μm bubbles in a wide flow range. We have proposed an alternative method that involves the use of an efficient dynamic bubble trap (DBT) for both large and small bubbles. The design includes development of two DBT variants for hemodynamic conditions of adult and pediatric patients. The device is installed in the CPB pump and ECMO outlet lines. It provides sufficient bubble separation from the lines in a blood flow of 3.0–5.0 L/min for adults and 0.5–2.0 L/min for children.

Для корреспонденции: Кулешов Аркадий Павлович. Адрес: 119619, Москва, ул. Производственная, д. 10, к. 1, кв. 519. Тел. (915) 292-47-98. E-mail: ilovemylene@yandex.ru

Corresponding author: Arkadii Kuleshov. Address: 519, 1, 10, Proizvodstvennaya str., Moscow, 119619, Russian Federation. Phone: (915) 292-47-98. E-mail: ilovemylene@yandex.ru

The developed computer models have shown that MBs smaller than 10 μm can be filtered. The use of this device will greatly reduce the likelihood of air embolism and provide the opportunity to reconsider the concept of expensive arterial filters.

Keywords: cardiopulmonary bypass, microbubbles, ECMO.

ВВЕДЕНИЕ

Воздушная микроэмболия (ВМ) сопровождается блокировкой микрососудов жизненно важных органов и может возникнуть при использовании как аппаратов искусственного кровообращения (АИК), так и экстракорпоральных систем поддержки кровообращения. До сих пор ВМ остается серьезной проблемой, наиболее критичной для микрососудов мозга [1–3].

Существует множество исследований, в которых сообщается о послеоперационных нейропсихологических осложнениях после применения систем вспомогательного кровообращения (ВК), связанных с церебральной микроишемией [4, 5]. ВМ различной степени возникает практически при всех операциях с использованием сердечно-легочного обхода [6]. Очень важно быстро определить и устранить причину наличия воздуха в контуре, потому что пациент зачастую полностью зависит от ЭКМО или АИК. При этом механизм воздушной эмболии связан не только с закупоркой микрососудов, но также может сочетаться с запуском механизма тромбообразования на границе раздела кровь–газ [7].

Наиболее распространенной причиной аспирации воздуха является входной участок венозной дренажной линии в месте канюляции. В отличие от ситуации с попаданием воздуха в заборную магистраль наличие воздуха в возвратной магистрали является более серьезной проблемой. В этом случае часто происходит засасывание воздуха в оксигенатор, если емкость оксигенатора превышает потребности пациента в кислороде, а давление крови становится ниже давления газа по разные стороны мембраны оксигенатора [8, 9]. Другой причиной является уменьшение уровня крови в венозном резервуаре ниже критического уровня при использовании перфузионной техники.

Кроме того, при операциях на открытом сердце с применением АИК не исключены ошибки перфузионистов, например, из-за уменьшения уровня крови в венозном резервуаре ниже критического уровня, ошибках при заборе крови на анализ и неполном удалении воздуха при заполнении контуров АИК. Наибольшее количество попадания МП в артериальную линию возможно при проведении сложных операций, как протезирование клапанов сердца [10]. Также не стоит исключать технические поломки устройств, приводящие к разрыву линий контура, кавитации крови и попаданию микропузырьков из венозного

резервуара в артериальную линию из-за активного дренирования крови с помощью отсосов.

МП, несмотря на малые размеры, имеют дифференциацию. Некоторые исследователи разделяют пузырьки на: <50 мкм – очень маленькие, к которым относят МП; 50–100 мкм – маленькие; 100–150 мкм – средние; 150–300 мкм – большие; >300 мкм – очень большие [11]. Другие относят к МП все объекты, которые могут измерить текущие системы регистрации в контуре аппаратов ВК (от 5–10 до 250–500 мкм) [12].

Современные аппараты ВК обеспечивают защиту от массивной воздушной эмболии с помощью артериальных фильтров. Эти фильтры обеспечивают лишь ограниченную эффективность в удалении МП и не позволяют полностью удалить МП до 25–40 мкм в зависимости от размера пор [8, 13, 14], которые могут попасть в обходной контур как из операционного поля, так и во время перфузионных вмешательств. Уменьшение размера фильтрационных пор может привести к увеличению гидродинамического сопротивления, травме форменных элементов крови и агрегации тромбоцитов [8]. В наших исследованиях мы рассматриваем преимущественно МП диаметром до 40–50 мкм.

В исследовании [8] была проведена комплексная оценка фильтрации МП в различных системах оксигенации. Разброс эффективности систем улавливания пузырьков составил от 80 до 99%. При этом показано, что большая часть МП, не улавливаемая фильтром, составляет диапазон от 10 до 30 мкм.

Уменьшение количества МП в контуре экстракорпоральных систем кровообращения остается важным фактором безопасности пациентов, а разработка эффективных устройств сепарации МП по-прежнему остается актуальной задачей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Цель работы – создание простого в использовании устройства для максимальной сепарации пузырьков газа диаметром более 10 мкм и значительное снижение МП диаметром менее 10 мкм из контура систем ВК для повышения их эффективности. Предложена конструкция двух моделей устройств динамической фильтрации (УДФ), которые устанавливаются на выходе артериальной линии аппаратом АИК и ЭКМО (рис. 1). Устройства обеспечивают фильтрацию пузырьков при расходе для взрослого пациента от 3,0 до 5,0 л/мин и педиатрического пациента от 0,5 до 2,0 л/мин.

Принцип работы УДФ

УДФ представляет собой вытянутую цилиндрическую трубку из биосовместимого полимера, которая подключается к выходной линии аппарата АИК или ЭКМО вместо фильтра. УДФ состоит из блока закрутки потока, блока центрирования пузырьков и блока сепарации МП (рис. 2).

- I. Блок закрутки потока принимает и расширяет поток крови с помощью конического входного штуцера, закручивая вокруг оси с помощью шнека (1).
- II. Блок центрирования пузырьков представлен корпусом, переходящим в выходной штуцер (2).
- III. Блок сепарации пузырьков представлен тонкой сепарирующей трубкой (3) с малым диаметром на выходе сепаратора, расположенной точно по оси устройства.

Блок закрутки потока предназначен для закручивания вокруг оси потока крови с помощью шнека и конической формы входной части корпуса. Шнек (рис. 3) имеет варьируемые параметры, такие как входной угол α , шаг резьбы P , диаметр D и длину L , которые рассчитываются для параметров потока.

Лопастей предназначены для преобразования части линейного потока в радиальный. Коническая форма центрального тела шнека, расширяясь по ходу движения потока, смещает его дальше от оси УДФ.

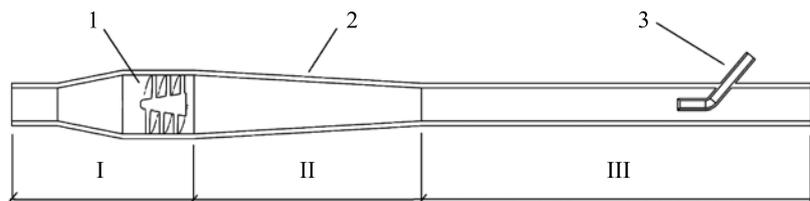


Рис. 2. Схема устройства динамической фильтрации: I – область завихрения потока; II – область сепарации пузырьков; III – область захвата пузырьков; 1 – шнек; 2 – корпус; 3 – трубка вывода пузырьков

Fig. 2. Diagram of a dynamic filtration device of bubbles: I – the area of the flow turbulence; II – is the bubble separation area; III – is the bubble capture area; 1 – screw; 2 – corpus; 3 – bubble outlet tube

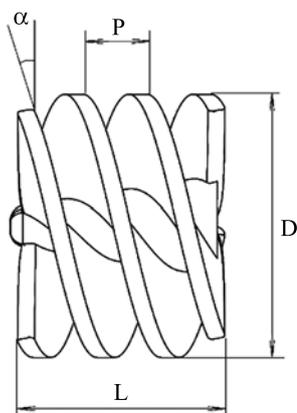


Рис. 3. Эскиз шнека

Fig. 3. Sketch of the screw



Рис. 1. Внешний вид УДФ для взрослого пациента и педиатрического пациента

Fig. 1. The appearance of the DFD for an adult patient and a pediatric patient

Одновременно за счет уменьшения площади сечения каналов шнека от входа к выходу, по частному выводу из закона Бернулли, увеличивается скорость движения частиц, что резко увеличивает центробежную силу потока на выходе из шнека. На выходе шнека достигается максимум скорости потока и формируется режим разгонного течения. На выходе из шнека, в закрученном потоке за счет центробежных сил

формируется осесимметричная область с понижением давления от периферии к оси устройства. Под сформированным градиентом давления пузырьки устремляются из зоны высокого давления в область низкого давления, т. е. к оси устройства, по которой движутся за счет линейной составляющей скорости потока. Эффект зависит от многих геометрических факторов, как от параметров шнека, так и угла конусообразной части корпуса.

Далее пузырьки захватываются тонкостенной трубкой с малым диаметром, присоединенной к венозному резервуару и расположенной на выходе сепаратора точно по оси устройства. Таким образом, небольшая часть крови вместе с собранными по оси микро- и макропузырьками за счет перепада давле-

ний циркулирует из УДФ в венозный резервуар вывода воздуха. Принцип работы конструкции показан на модели течения жидкости (рис. 4). Поток крови, попадающий на вход УДФ, содержит пузырьки разного диаметра. Входной штуцер имеет коническое расширение магистрали. Диаметр этого расширения соответствует диаметру используемого шнека и позволяет создать достаточную центростремительную силу в потоке крови. На рисунке можно отметить, что крупные пузырьки располагаются на оси сепаратора на выходе шнека, в то время как МП центрируются в некотором отдалении от него. Это происходит ввиду меньшей массы МП.

С учетом этого минимальный размер центрируемых МП определяется общей длиной блока. Основное исследование в данном этапе разработки устройства сводится к определению координат, на которых центрируются пузырьки размером менее 10 мкм. Это позволит расположить трубку сепарации МП более эффективно.

Компьютерная модель устройства и стенда

В моделях для взрослого и педиатрического пациента, по аналитическим и математическим расчетам, параметры шнека составили: диаметр 18 мм, длина 20 мм, шаг резьбы 1,3, число лопастей 3 и угол входа 17° . Диаметры магистралей составили 10 и 6 мм соответственно. Трубка отвода пузырьков имеет внутренний диаметр 2,4 мм, что позволит проводить забор не более 10–15% объема крови. На моделях были проанализированы точки центрирования пузырьков различных диаметров. По результатам исследований

выбрано оптимальное расстояние от шнека, на котором расположена выходная трубка отвода пузырьков в соответствии с координатами центрирования МП, для эффективной работы УДФ.

С этой целью была разработана трехмерная математическая модель течения вязкой жидкости в полостях УДФ в программном обеспечении COMSOL Multiphysics. Граничные условия расчетов составили давление на выходе в УДФ 100 мм рт. ст. и давление в трубке 8 мм рт. ст., что соответствует среднему венозному значению. Нами был применен режим многофазного моделирования течения крови и воздуха. Скорость потока составляла среднее значение 5 л/мин для параметров взрослого кровообращения и 1 л/мин для параметров детского кровообращения. В качестве критерия сходимости был определен остаток сходимости 10^{-4} по давлению. Использована модель турбулентности k-ε для моделирования поля течения. Была получена достаточно тонкая сетка, состоящая из тетраэдрических ячеек общим количеством 90 000 элементов. Пример моделирования многофазного течения показан на рис. 5, где можно видеть движение пузырьков 50 мкм, 10 мкм и 5 мкм в модели УДФ для расхода 5 л/мин. Как видно из рисунка, МП меньшего диаметра имеют большую вероятность пролета мимо трубки.

Разработанные модели УДФ были произведены методом трехмерной печати и исследованы на гидродинамическом стенде (рис. 6). Стенд включает в себя насос Rotaflow (Maquet, Germany), который устанавливает расход, регистрируемый ультразвуковым расходомером (2). Вывод пузырьков из УДФ осуществляется в резервуар (8), заполненный жидкос-

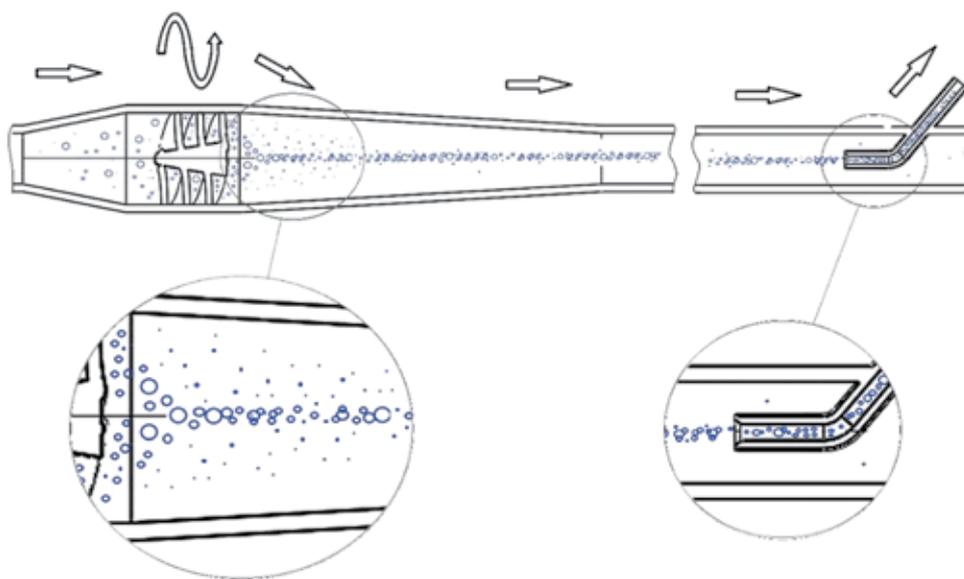


Рис. 4. Принцип работы УДФ. Показан принцип центрирования пузырьков и попадания их в трубку

Fig. 4. The principle of operation of the DFD. The principle of centering the bubbles and getting them into the tube is shown

тью. Пузырьки разного диаметра вводятся в контур через порт (5) посредством шприца (6). Регистрация пузырьков, которые не попали в выводную трубку, производится датчиком (9). Регулировка давления производится системным гидравлическим сопротивлением (3) и регистрируется на входе и выходе УДФ датчиками давления (4, 10).

Расход в аорте и насосе измеряли с помощью ультразвукового расходомера Transonic Systems Inc., USA), датчиками давления (Edwards Life Sciences, USA). Для регистрации гемодинамических параметров использовали многоканальный модуль ANGIOTON (Biosoft-M, Russia) с записью на персональном компьютере в программе Pumpax

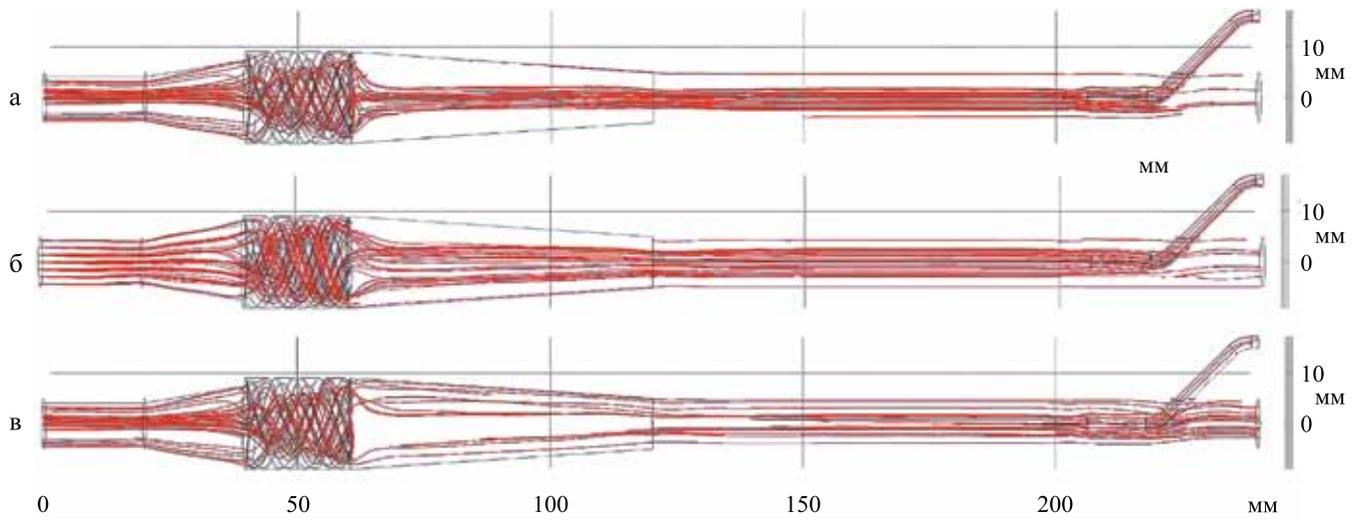


Рис. 5. Моделирование УДФ для расхода 5 л/мин с МП 50 мкм (а), 25 мкм (б) и 5 мкм (в)

Fig. 5. CFD modeling of the DFD for a flow of 5 l/min with MB of 50 microns (a), 10 microns (б) and 5 microns (в)

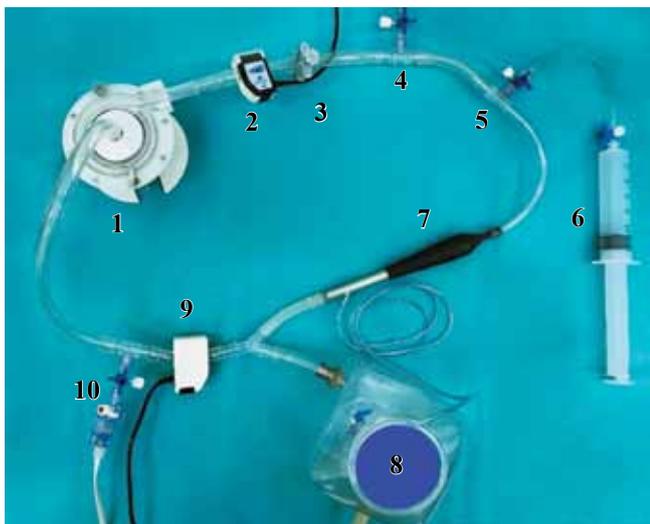


Рис. 6. Гидродинамический стенд для исследования УДФ: 1 – насос Rotaflow; 2 – расходомер; 3 – системное гидравлическое сопротивление; 4 – датчик давления на входе УДФ; 5 – порт ввода МП; 6 – устройство генерации МП; 7 – модель УДФ; 8 – резервуар забора МП; 9 – датчик подсчета МП; 10 – датчик давления на выходе УДФ

Fig. 6. Hydrodynamic loop for DFD research: 1 – Rotaflow pump; 2 – flowmeter; 3 – system hydraulic resistance; 4 – pressure sensor at the UDF inlet; 5 – MB input port; 6 – MB generation device; 7 – DFD model; 8 – tank for MB; 9 – MP counting sensor; 10 – pressure sensor at the DFD outlet

(Biosoft-M). Стенд заполняли 35% смесью глицерин – физраствор $4,0 \pm 0,3$ сР, чтобы воспроизводить физиологические условия кровообращения. В ходе исследований были проведены количественные измерения наличия МП с применением УДФ и без него.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе компьютерных исследований получены данные для расходов взрослой и педиатрической модели (рис. 7).

Как видно из рисунка, МП центрируются намного дальше от выхода из шнека. Расстояние от шнека до центрирования МП диаметром 10 мкм для взрослого и детского варианта составило 133 и 86 мм. Ввиду полученных значений расстояние между шнеком и трубкой отвода пузырьков выбрано с запасом в 10 мм и составило 143 и 96 мм, а общая длина моделей УДФ составила 245 и 225 мм для взрослого и детского варианта соответственно. На основании данных, полученных в ходе исследований на компьютерной модели, были собраны экспериментальные модели системы УДФ, которые испытаны на гидродинамическом стенде.

В результате исследований на гидродинамическом стенде при низком перепаде давления (90 мм рт. ст. для кровотока 3,0–5,0 и 0,5–2,0 л/мин) получены

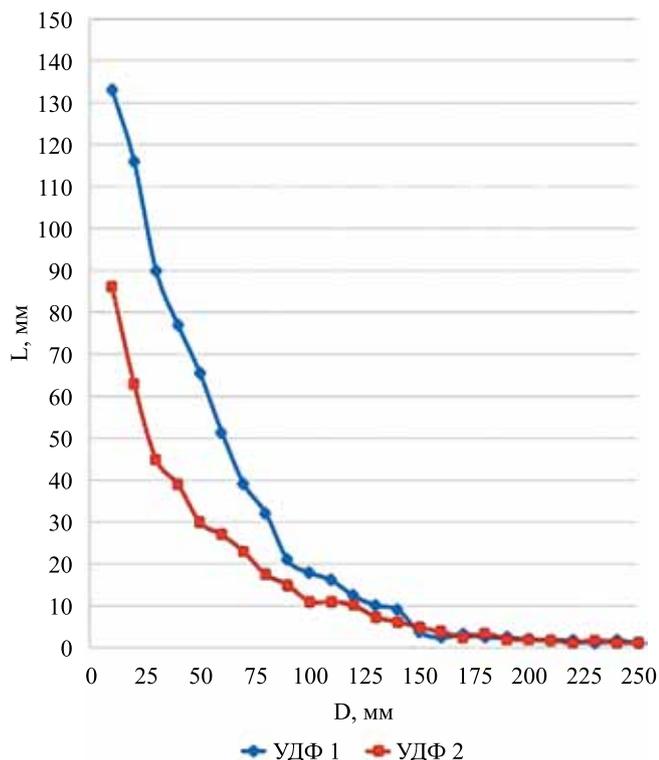


Рис. 7. Зависимость расстояния (L) от шнека до места центрирования пузырьков различного диаметра (D)

Fig. 7. Dependence of the distance (L) from the screw to the centering point of bubbles of different diameters (D)

данные подсчета пузырьков до использования УДФ и при использовании УДФ (рис. 8).

Для данных диапазонов расхода в двух моделях можно наблюдать значительное уменьшение общего количества МП (в 3–4 раза) и пузырьков диаметром более 10 мкм в 10 и более раз. Отмечается, однако, снижение эффективности на границах исследуемого расхода 0,5, 2,0, 3,0 и 5,0 л/мин. При достижении граничных диапазонов исследования число регистрируемых МП начинало возрастать. Для низкого уровня расхода это объясняется снижением градиента давления и меньшим воздействием на МП. Для высокого уровня расхода возрастает линейная скорость МП вдоль оси УДФ, что смещает координаты их центрирования. Отмечается также достаточно большой перепад давления на УДФ (свыше 100 мм рт. ст. при производительности >5 л/мин в модели для взрослого пациента и >2 л/мин в модели для педиатрического пациента). Поэтому работа была продолжена с целью оптимизации УДФ в части снижения перепада давления при сохранении или улучшении эффективности сепарации МП.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные испытания УДФ показали, что применение УДФ в среднем в 3–4 раза уменьшает вероятность ВМ. Эффективность сепарации МП зависит от

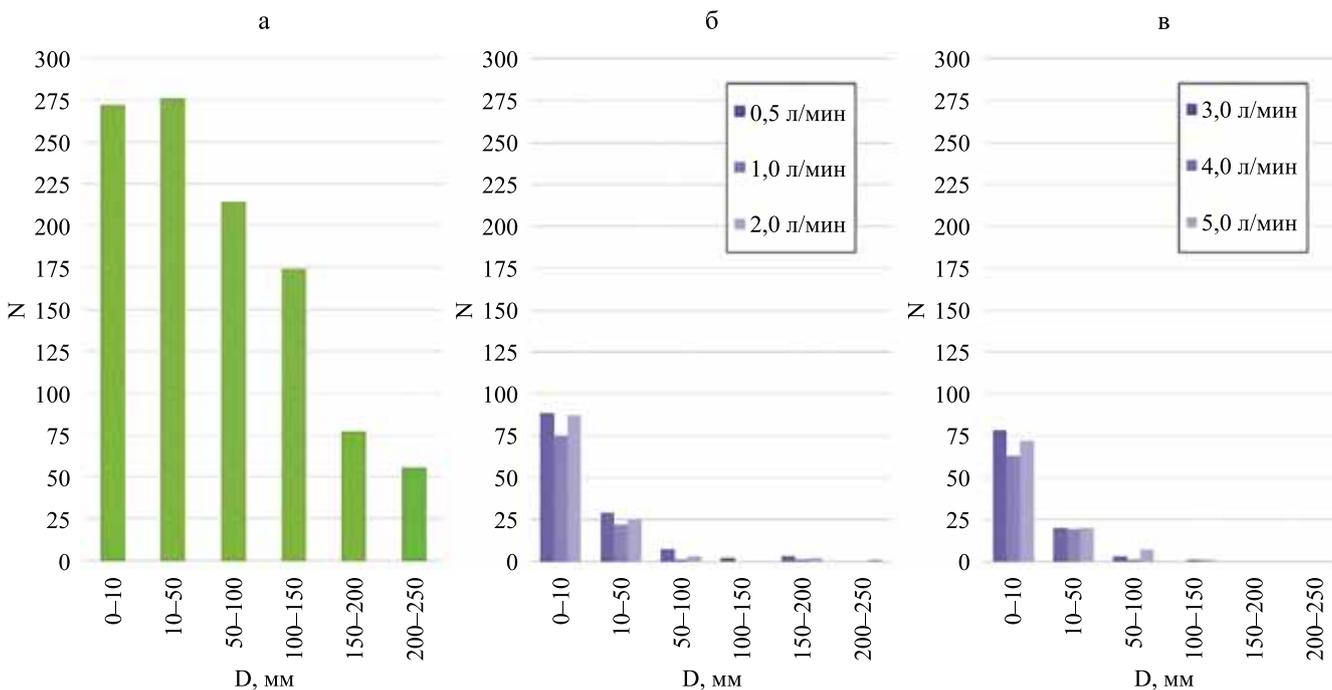


Рис. 8. Сепарация пузырьков различного диаметра при различных расходах для исследуемых моделей УДФ: а – состав пузырьков при вводе в контур; б – результат работы педиатрической модели; в – результат работы модели для взрослого пациента

Fig. 8. Separation of bubbles of different diameters at different flow rates for the studied DFD models: а – the composition of the bubbles when entering the contour; б – the result of the work of the pediatric model; в – the result of the work of the model for an adult patient

геометрических размеров УДФ, угла закрутки потока и выходного сечения закручивающих каналов шнека. На основании предварительных исследований были выбраны конструкции УДФ для взрослого и педиатрического пациента. Предварительный анализ выявил направления дальнейшего перспективного улучшения параметров сепарации МП и оптимизации УДФ. Применение данного устройства позволит уменьшить эффект микроэмболии, сделает более безопасной процедуру сердечно-легочного обхода и позволит пересмотреть концепцию применения дорогостоящих артериальных фильтров.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Cavayas YA, del Sorbo L, Fan E. Intracranial hemorrhage in adults on ECMO. *Perfusion*. 2018; 33: 42–50. doi: 10.1177/0267659118766435.
2. Zanatta P, Forti A, Bosco E et al. Microembolic signals and strategy to prevent gas embolism during extracorporeal membrane oxygenation. *J Cardiothorac Surg*. 2010; 5: 1–5. doi: 10.1186/1749-8090-5-5.
3. Clingan S, Schuldes M, Francis S, Hoerr Jr H, Riley J. *In vitro* elimination of gaseous microemboli utilizing hypobaric oxygenation in the Terumo FX15 oxygenator. *Perfusion*. 2016; 31 (7): 552–559. doi: 10.1177/0267659116638148.
4. Honig A, Leker RR. Cerebral micro-infarcts; the hidden missing link to vascular cognitive decline. *J Neurol Sci*. 2021; 420: 1171–1171. doi: 10.1016/j.jns.2020.117171.
5. Chen YY, Chen YC, Wu CC, Yen HT, Huang KR, Sheu JJ, Lee FY. Clinical course and outcome of patients with acute pulmonary embolism rescued by veno-arterial extracorporeal membrane oxygenation: a retrospective review of 21 cases. *Journal of Cardiothoracic Surgery*. 2020; 15 (1). doi: 10.1186/s13019-020-01347-0.
6. Tingleff J, Jouce FS, Pettersson G. Intraoperative echocardiographic study of air embolism during cardiac operation. *Ann Thorac Surgery (USA)*. 1995; 60 (3): 673–677.
7. Munakata R, Yamamoto T, Hosokawa Y et al. Massive pulmonary embolism requiring extracorporeal life support treated with catheterbased interventions. *International heart journal*. 2012; 53: 370–374.
8. Myers GJ, Voorhees C, Haynes R, Eke B. Post-arterial filter gaseous microemboli activity of five integral cardiotomy reservoirs during venting: an in vitro study. *JECT. The Journal of Extra Corporeal Technology*. 2009; 41: 20–27.
9. De Somer F. Impact of oxygenator characteristics on its capability to remove gaseous microemboli. *J Extra Corpor Technol*. 2007; 39 (4): 271–273.
10. Nielsen PF, Funder JA, Jensen MØ, Nygaard H. Influence of venous reservoir level on microbubbles in cardiopulmonary bypass. *Perfusion*. 2008; 23 (6): 347–353. doi: 10.1177/0267659109104954.
11. Born F, König F, Chen J, Günther S, Hagl C, Thierfelder N. Generation of microbubbles in extracorporeal life support and assessment of new elimination strategies. *Artificial Organs*. 2020; 44: 268–277. doi: 10.1111/aor.13557.
12. Born F, Khaladj N, Pichlmaier M, Schramm R, Hagl C. Potential impact of oxygenators with venous air trap on air embolism in veno-arterial extracorporeal life support. *Technology and Health Care*. 2017; 25 (1): 111–121. doi: 10.3233/THC-161248.
13. Goritz S, Schelkle H, Rein J-G, Urbanek S. Dynamic bubble trap can replace an arterial filter during cardiopulmonary bypass surgery. *Perfusion*. 2006; 21: 367–371.
14. Johagen D, Appelblad M, Svenmarker S. Can the Oxygenator Screen Filter Reduce Gaseous Microemboli? *J Extra Corpor Technol*. 2014; 46 (1): 60–66.

*Статья поступила в редакцию 1.09.2021 г.
The article was submitted to the journal on 1.09.2021*

DOI: 10.15825/1995-1191-2021-4-86-94

МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НАТИВНОЙ И ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗОВАННОЙ СТЕНКИ АОРТЫ ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ В БИОЦИДНЫХ РАСТВОРАХ

М.Б. Васильева¹, Е.В. Кузнецова², Я.Л. Русакова², Е.В. Чепелева², Д.С. Сергеевичев², И.Ю. Журавлева²

¹ Институт медицины и психологии В. Зельмана, Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Российская Федерация

² ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина» Минздрава России, Новосибирск, Российская Федерация

Цель. Определить оптимальный метод для длительного влажного хранения донорского материала (50 суток после забора) с максимальной способностью к сохранению исходных механических характеристик. **Материалы и методы.** В качестве объектов исследования использовали фрагменты стенок аорт свиньи. Половина исходного материала была децеллюляризована детергентным методом. Весь материал (нативный и обработанный) был помещен на 50 суток в биоцидные растворы: комплексный спиртовой раствор, смесь этанола и глицерина, смесь антибиотиков. Далее проведены испытания на механическую прочность нативных и децеллюляризованных образцов методом одноосного растяжения в продольном и окружном направлениях. **Результаты.** Хранение нативного материала во всех средах привело к достоверному увеличению значений прочности на разрыв. Так, в группе «комплексный спиртовой раствор» эта величина увеличилась в 1,38 раза, в смеси этанола и глицерина – в 1,72 раза, в «смеси антибиотиков» – в 1,62 раза в сравнении с нативным контролем при окружном растяжении. Также в группе «комплексный спиртовой раствор» децеллюляризованный материал был в 1,57 раза прочнее, чем нативный при окружном растяжении. В группе «смесь антибиотиков» децеллюляризованный материал был в 1,33 раза менее прочным, чем нативный при продольном растяжении. По данным удлинения до разрыва достоверно большая пластичность отмечалась в группе хранения «этанол–глицерин» у децеллюляризованной стенки аорты в сравнении с контрольной группой (в 1,5 раза). Значения модуля Юнга достоверно не отличались от контрольных значений во всех экспериментальных группах вне зависимости от направления растяжения. При этом четко прослеживалась тенденция к повышению жесткости децеллюляризованных образцов при растяжении в окружном направлении. **Заключение.** Децеллюляризация стенки аорты свиньи детергентным методом и последующее хранение данных образцов в выбранных нами экспериментальных растворах в течение 50 суток достоверно не влияет на упругостные свойства материала. Предложенные нами методы обработки частично увеличивают жесткость материала после хранения в спиртосодержащих растворах.

Ключевые слова: модуль Юнга, прочность на разрыв, ксенографты, биопротезирование.

Для корреспонденции: Васильева Мария Борисовна. Адрес: 630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 1. Тел. (913) 930-15-18. E-mail: vasilievam@yandex.ru

Corresponding author: Maria Vasilyeva. Address: 1, Pirogova str., Novosibirsk, 630090, Russian Federation. Phone: (913) 930-15-18. E-mail: vasilievam@yandex.ru

MECHANICAL PROPERTIES OF NATIVE AND DECELLULARIZED AORTIC WALL AFTER LONG-TERM STORAGE IN BIOCIDAL SOLUTIONS

M.B. Vasilyeva¹, E.V. Kuznetsova², Ya.L. Rusakova², E.V. Chepeleva², D.S. Sergeevichev², I.Yu. Juravleva²

¹ Zelman Institute of Medicine and Psychology, Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russian Federation

² Meshalkin National Medical Research Center, Novosibirsk, Russian Federation

Objective: to determine the optimal method for long-term wet storage of donor material (50 days after collection), with maximum ability to preserve the original mechanical characteristics. **Materials and methods.** Porcine aortic wall fragments were used as objects of study. Half of the original material underwent detergent-based decellularization. The entire material (native and processed) was placed for 50 days in biocidal solutions: complex alcohol solution; ethanol and glycerol mixture; antibiotics mixture. Then the tests for mechanical strength of native and decellularized samples were carried out by the method of uniaxial longitudinal and circumferential stress. **Results.** Storage of native material in all media resulted in a significant increase in tensile strength. In the «complex alcohol solution», «ethanol and glycerol mixture», and «antibiotic mixture» group, tensile strength increased by 1.38-, 1.72- and 1.62-fold compared to the native control in circumferential tension. Also, in the «complex alcohol solution» group, the decellularized material was 1.57-fold stronger than the native in circumferential tension. In the «antibiotic mixture» group, the decellularized material was 1.33-fold less strong than the native in longitudinal tension. According to elongation to rupture data, significantly greater plasticity was noted in the «ethanol-glycerol» storage group for the decellularized aortic wall compared to the control group (1.5-fold). Young's modulus did not reliably differ from those of control in all experimental groups regardless of the stress direction. Notably, decellularized specimens clearly tended to be stiffer under circumferential stress. **Conclusion.** Detergent-based decellularization of the porcine aortic wall and subsequent storage of these samples in our chosen experimental solutions for 50 days does not significantly affect the elastic properties of the material. Our proposed treatment methods partially increase the stiffness of the material after storage in alcohol-containing solutions.

Keywords: Young's modulus, tensile strength, xenografts, bioprosthesis.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время одним из широко используемых методов хирургического лечения патологии клапанов и ствола аорты, и легочной артерии является протезирование различными клапаносодержащими кондуитами [1–3]. Золотым стандартом для замены поврежденных элементов сердечно-сосудистой системы является аллогенный донорский материал. Он имеет сходные гемодинамические характеристики с нативными клапанами, низкую тромбогенность и устойчив к потенциальному инфицированию [4, 5]. Кроме того, именно данный тип имплантатов обеспечивает минимальный риск реопераций по причине структурной деградации [1, 5–7].

Основными типами сосудистых и клапанных каркасов для тканевой инженерии являются естественные каркасы (децеллюляризованная ткань и материалы биологического происхождения) и синтетические конструкции, изготовленные из биоразлагаемых полимеров [5, 8]. Основное преимуществодецеллюляризованных биологических матриц состоит в сохранении механической анизотропии нативных клапанов и строения сосудистой стенки, что спо-

собствует их рецеллюляризации клетками самого реципиента [6].

Современные подходы к разработке методов продления сроков службы донорских клапанов включают в себя улучшение конструктивных характеристик, оптимизацию методов предимплантационной обработки, исследование факторов, влияющих на сохранение структурной организации соединительно-тканного каркаса (СТК) и его исходных физико-механических свойств [6, 9].

На подготовительном этапе (до имплантации пациенту) аллографт, как правило, либо подвергают криоконсервации, либо хранят в растворе антибактериальных и фунгицидных препаратов. Однако анализ современного состояния проблемы показывает отсутствие единого подхода к способу длительного сохранения протезного материала. При нарушении методики замораживания и/или оттаивания материала возможно появление зон микро- и макроповреждения структуры аллографта, которые могут быть обнаружены только на хирургическом этапе или же скажутся на скорости деградации СТК и кальцификации графта после его установки [10–12]. Использование «влажного» хранения в коктейле антибиотиков

без криоконсервации способствует снижению частоты реопераций, связанных с ранним повреждением протеза [7]. Однако на практике «влажное» хранение аллографтов в растворе антибиотиков применяется лишь в течение короткого срока – 2–14 дней [13, 14]. Также известно, что остаточные количества противомикробных препаратов в ткани аллографта могут являться причиной развития аллергических постимплантационных реакций или маскировать развитие инфицирования аллографта в послеоперационном периоде [15].

Согласно мировым тенденциям, большинство разработчиков отдает предпочтение замораживанию материала [6, 12]. Однако разработка надежного способа длительного влажного хранения позволит избежать негативных влияний процессов, связанных с криоконсервацией. В рамках изучения данной тематики ранее нами были выбраны биоцидные растворы, пригодные для длительного «влажного» хранения экспериментального материала [16].

Целью данной работы явилась оценка влияния децеллюляризации и последующего длительного (50 суток) хранения в биоцидных растворах различного состава на механические свойства тканей аорты.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Состав исследуемых растворов

I – комплексный спиртовой раствор (КСР): смесь, содержащая 1,2-октандиол, феноксиэтанол, сорбиновую кислоту (1%) и этанол (20%) [17].

II – смесь антибиотиков (АБ): культуральная среда RPMI-1640 (ООО «БиолоТ», Россия), метронидазол 0,27 мг/мл, гентамицин 0,53 мг/мл, цефазолин 6,66 мг/мл, ампициллин 2,22 мг/мл, оксациллин 1,11 мг/мл, флуконазол 0,027 мг/мл. После первых 48 ч раствор заменен на аналогичный свежий раствор.

III – смесь этанола и глицерина (С-Г): этанол (10%) и глицерин (20%) в культуральной среде RPMI-1640 (ООО «БиолоТ», Россия).

Получение и децеллюляризация тканей аорты

Фрагменты аорты свиней (дуга и нисходящий отдел) длиной 25–30 см забирали в цехе убоя скота мясокомбината. Полученные образцы помещали в охлажденный стерильный 0,9% раствор натрия хлорида и транспортировали в лабораторию.

Стенку аорты очищали от остатков прилегающих тканей и разрезали на несколько трубчатых фрагментов длиной 6–7 см. Половина полученных фрагментов была подвергнута детергентной децеллюляризации.

Весь цикл удаления клеток и последующей отмывки выполняли в орбитальном термощейкере при 37 °С (Heidolf, Германия). Биоматериал на 24 ч погружали в стерильный фосфатно-солевой раствор (рН = 7,4), содержащий 0,5% додецилсульфата натрия и 0,5% дезоксихолата натрия (Sigma, США). Далее следовала 6-кратная отмывка образцов по 12 ч в стерильном фосфатно-солевом буфере (рН = 7,4) согласно одному из общепринятых протоколов [18]. Общая длительность обработки и отмывки составила 4 суток, в течение которых вторую половину образцов (нативные образцы) хранили при +4...8 °С в стерильном 0,9% растворе натрия хлорида с добавлением комплекса антимикробных препаратов (метронидазол 0,27 мг/мл, гентамицин 0,53 мг/мл, цефазолин 6,66 мг/мл, ампициллин 2,22 мг/мл, оксациллин 1,11 мг/мл, флуконазол 0,027 мг/мл).

После окончания децеллюляризации по 20 нативных и децеллюляризованных трубчатых фрагментов аорты использовали для механических испытаний при одноосном растяжении в окружном и продольном направлениях. Оставшийся материал каждой серии – нативный (n = 60) и децеллюляризованный

Таблица

Список всех экспериментальных групп

List of all experimental groups

№	Аббревиатура	Способ хранения	Подгруппы
1	Контр	Контрольные образцы аорт свиней, свежий материал (для определения базовых механических свойств)	Контр.Н – нативный материал без дополнительных обработок
2			Контр.Д – децеллюляризованный материал без дополнительных обработок
3	КСР	В комплексном спиртовом растворе (50 сут)	КСР.Н – нативная форма КСР
4			КСР.Д – децеллюляризованная форма КСР
5	АБ	В смеси антибиотиков (50 сут)	АБ.Н – нативная форма АБ
6			АБ.Д – децеллюляризованная форма АБ
7	С-Г	В смеси этанола и глицерина (50 сут)	С-Г.Н – нативная форма С-Г
8			С-Г.Д – децеллюляризованная форма С-Г

($n = 60$) – случайным образом был разделен на три группы и хранился в исследуемых биоцидных растворах в течение 50 сут в стерильных условиях при $+4...8$ °С (в растворах АБ и С-Г), при комнатной температуре – в растворе КСР. Всего исследовали 8 групп образцов (табл.). Перед началом проведения механических испытаний образцы промывали в стерильном 0,9% растворе натрия хлорида 20 минут при комнатной температуре.

Исследование механических свойств

Механические испытания проводили в условиях одноосного растяжения образцов после 50 суток хранения в исследуемых биоцидных растворах. Для получения контрольных значений использовали материал стенок аорты свиней нативной группы (Контр.Н) и децеллюляризованного материала (Контр.Д) до хранения в соответствующих растворах.

Трубчатые фрагменты аорты каждой из 8 подгрупп разрезали вдоль и высекали образцы для испытаний с помощью стандартной вырубной матрицы в продольном ($n = 10$) и окружном ($n = 10$) направлениях. Ширина и длина рабочей части образца соответствовала размерам матрицы (9 и 28 мм соответственно). Толщину образца трехкратно измеряли при помощи электронного цифрового толщинометра (Mitutoyo 547-500S, Япония).

Испытания выполняли на разрывной машине ESM301 (MARK-10, США). Скорость растяжения ткани составляла 30 мм/мин. Если разрыв происходил по месту закрепления образцов в зажимах, данные этого измерения при анализе исключали.

Прочность материалов оценивали по напряжению разрыва (σ , МПа):

$$\sigma = \frac{F}{h \times w}$$

где F – сила в момент разрыва (Н); h – средняя толщина образца (мм); w – ширина (9 мм) образца.

О деформативной способности судили по показателям максимального удлинения до разрыва (ε , %):

$$\varepsilon = \frac{\Delta L}{L} \times 100$$

где ΔL – максимальное удлинение образца (мм); L – начальная длина образца (мм), равная расстоянию между зажимами (28 мм).

Жесткость определяли по величине модуля Юнга (E , МПа):

$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon}$$

где E – модуль Юнга (МПа); σ – напряжение разрыва; ε – удлинение фрагмента (мм) до разрыва образца.

Статистический анализ

Результаты исследования обработаны методом вариационной статистики с использованием программного обеспечения Statistica 13.0 (TIBCO Software, США). Нормальность распределения полученных данных и однородность дисперсии проверяли при помощи критерия Шапиро–Уилка. О достоверности различий судили по критерию Манна–Уитни. Данные на графиках представлены в виде медианы и межквартильного размаха (25-й и 75-й перцентили).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Толщина образцов

Толщина фрагментов децеллюляризованной аорты контрольной группы в 1,22 раза выше, чем нативной аорты контрольной группы ($p < 0,01$). Среди децеллюляризованных образцов после хранения выявлено уменьшение толщины в спиртосодержащих подгруппах КСР.Д и С-Г.Д в 0,82 и 0,87 раза соответственно в сравнении с соответствующими контролями ($p < 0,05$) (рис. 1).

Упруго-прочностные свойства биоматериала

Прочность на разрыв недецеллюляризованных (нативных) образцов в окружном направлении достоверно возрастала после хранения во всех исследованных растворах по сравнению с контролем ($p < 0,05$): КСР.Н – в 1,38 раза; С-Г.Н – в 1,72 раза; АБ.Н – в 1,62 раза. Среди децеллюляризованных образцов

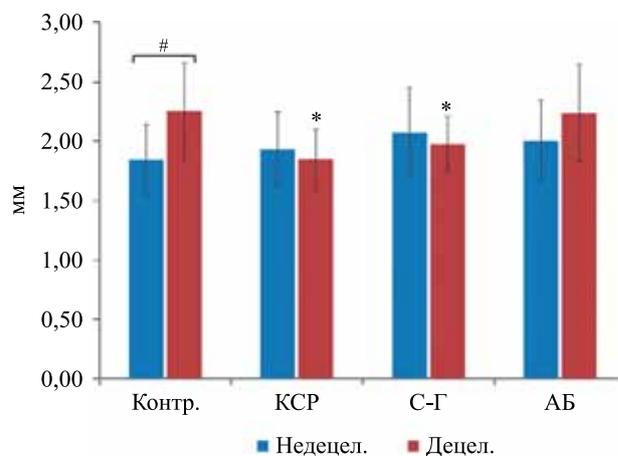


Рис. 1. Значения толщины исследованных образцов. * – $p < 0,05$ в сравнении с соответствующей контрольной группой; # – $p < 0,05$, сравнение между недецеллюляризованными и децеллюляризованными образцами внутри одной группы

Fig. 1. Values of the thicknesses of the investigated samples. * – $p < 0,05$ compared to corresponding control group; # – $p < 0,05$ comparison between non-decellularized and decellularized samples within the same group

наблюдали недостоверную тенденцию к увеличению значений напряжения разрыва в подгруппе КСР.Д в сравнении с контролем. В подгруппе С-Г.Д выявлено достоверное увеличение величины прочности на разрыв в 1,5 раза ($p < 0,05$). При сравнении прочности нативных и децеллюляризованных образцов достоверные ($p < 0,05$) отличия были выявлены в группах Контр и КСР, где децеллюляризованный материал демонстрировал большую прочность в 1,47 и 1,57 раза соответственно (рис. 2, а).

Прочность на разрыв в продольном направлении как нативных, так и децеллюляризованных образцов не изменилась после хранения во всех видах растворов по сравнению с контролем. При сравнении внутри каждой экспериментальной группы нативных и децеллюляризованных образцов достоверное отличие было выявлено только в группе АБ (децеллюляризованный материал был менее прочен, чем нативный, в 1,33 раза ($p < 0,05$) (рис. 2, б).

Значения удлинения до разрыва как нативных, так и децеллюляризованных образцов не изменились после хранения во всех видах растворов по сравнению с контролем вне зависимости от направления растяжения (рис. 3). Исключение составляет подгруппа С-Г.Д, где при растяжении в окружном направлении было выявлено самое высокое значение удлинения по сравнению со всеми остальными подгруппами (Контр.Д / С-Г.Д в 1,5 раза, $p < 0,01$) (рис. 3, а).

Вне зависимости от направления растяжения отсутствовали достоверные различия между значениями **модуля Юнга** у нативных и децеллюляризованных тканей как внутри одной группы, так и при

их сравнении с соответствующими контрольными значениями (рис. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время одним из распространенных способов длительного хранения аллогенного материала является криосохранение. Этот способ позволяет создать банк сердечных клапанных аллографтов, но требует тщательного соблюдения всех этапов заморозки и оттаивания материала, повышенной технической надежности оборудования, и возможно, поиска новых криоконсервирующих сред [12, 19].

Децеллюляризация аллографтных и ксенографтных тканей представляется перспективным подходом к сохранению донорских тканей во влажном состоянии [20–22]. В ряде работ для поддержания жизнеспособности клеточных компонентов использовали культуральные среды [23, 24]. В других работах, где основной целью было сохранение соединительно-тканного каркаса ткани без учета клеточного компонента, рассматривали пригодность физиологического раствора с модификациями [25]. Так, было показано, что сохранность механических и структурных свойств децеллюляризованного тканевого матрикса значительно не нарушается в течение длительного срока влажного хранения в стерильном физиологическом растворе (до 12 месяцев) [26]. В данной экспериментальной работе в качестве основы для сред хранения II (АБ) и III (С-Г) была выбрана питательная среда RPMI-1640. Многокомпонентная буферная среда и асептические условия позволили обеспечить стабильность pH растворов и отсутствие контаминации материала в течение всего срока эксперимента.

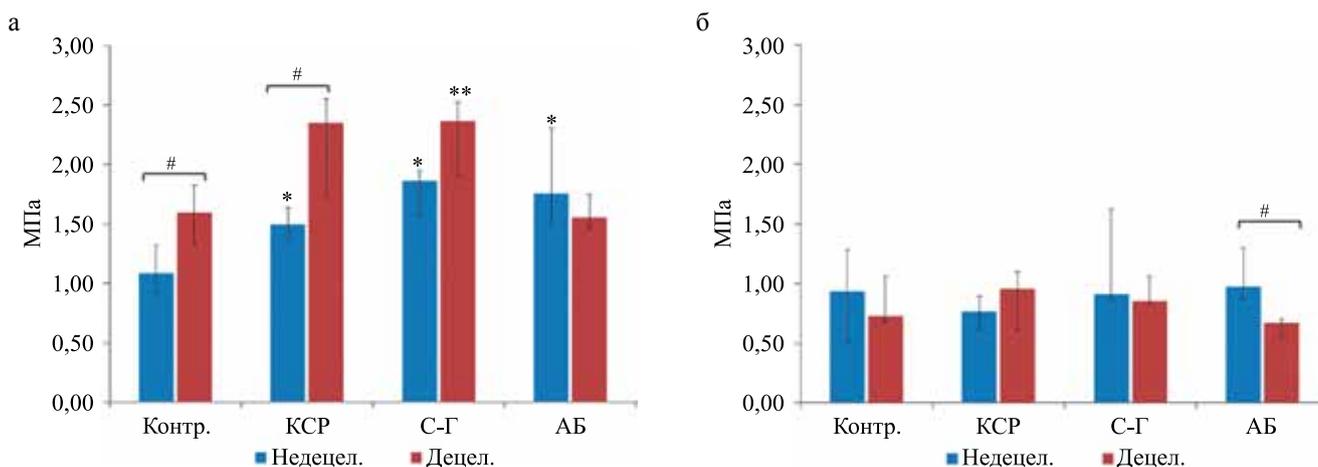


Рис. 2. Значения напряжения разрыва исследованных образцов при растяжении: а – в окружном направлении; б – в продольном направлении. * – $p < 0,05$ в сравнении с нативным контролем; ** – $p < 0,05$ в сравнении с децеллюляризованным контролем; # – $p < 0,05$, сравнение между недецеллюляризованными и децеллюляризованными образцами внутри одной группы

Fig. 2. Values of the tensile stress of the investigated specimens stretching: а – in the circumferential direction; б – in the longitudinal direction. * – $p < 0.05$ in comparison with the native control; ** – $p < 0.05$ in comparison with the decellularized control; # – $p < 0.05$ comparison between non-cellular and decellularized samples within the same group

Эффективность имплантации децеллюляризованных сердечных клапанов во многом зависит от компонентов самого метода удаления клеток (энзимный, детергентный и т. д.) и потенциального иммунного ответа после имплантации [27, 28]. Используемый нами вариант протокола децеллюляризации [18] применяются и другими исследователями при создании тканеинженерных материалов на основе донорских тканей [20, 21].

В группе контроля после децеллюляризации возросла толщина образцов – на 10–30% от исходных значений нативного материала. Возможным объяснением данного факта может быть появление разрыхленности межволоконных пространств в соеди-

нительно-тканном каркасе при удалении клеток и частичном вымывании малых межклеточных молекул (протеогликанов, гликозаминогликанов и других неколлагеновых белков) под действием детергентов, место которых занимают молекулы воды [29].

Прочность на разрыв при растяжении является одним из основных показателей, характеризующих механические свойства ткани, для количественной оценки которого используют величину разрушающего напряжения (напряжение разрыва) [30]. Согласно нашим данным, децеллюляризация материала аорты вызывает достоверное повышение значения напряжения разрыва при растяжении в окружном направлении. При этом значение модуля Юнга также

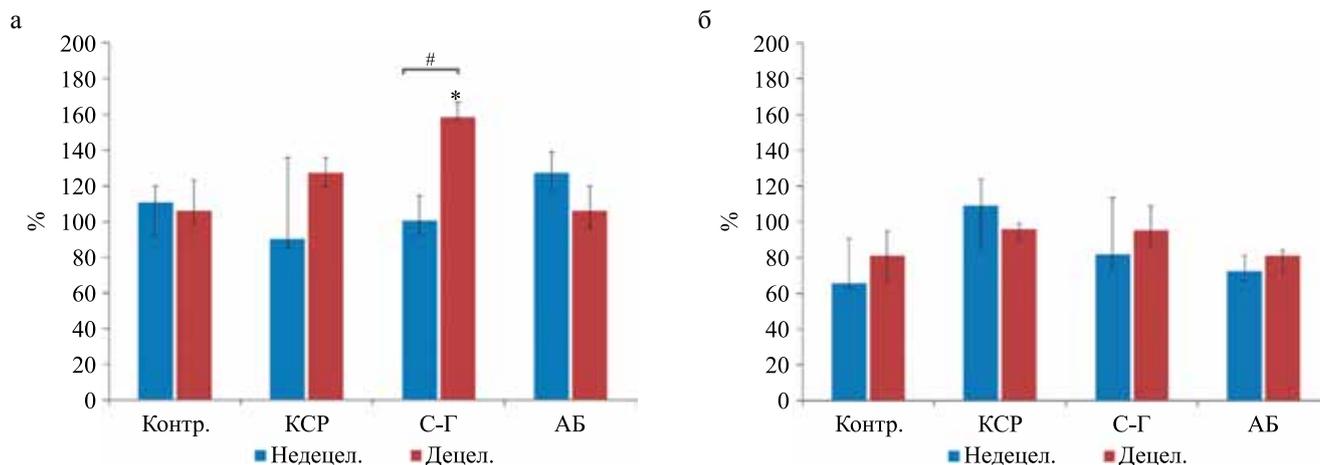


Рис. 3. Значения удлинения до разрыва исследованных образцов при растяжении: а – в окружном направлении; б – в продольном направлении. * – $p < 0,05$ в сравнении с контролем; # – $p < 0,05$, сравнение между недецеллюляризованными и децеллюляризованными образцами внутри одной группы

Fig. 3. Values of the elongation to break of the investigated specimens stretching: а – in the circumferential direction; б – in the longitudinal direction. * – $p < 0.05$ in comparison with the native control; # – $p < 0.05$ comparison between non-cellular and decellularized samples within the same group

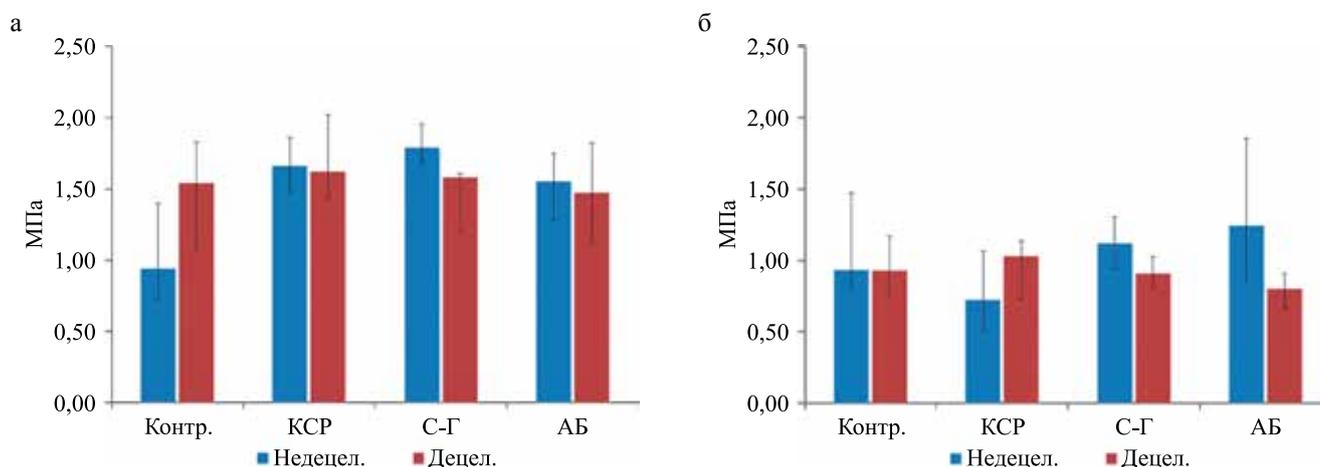


Рис. 4. Значения модуля Юнга для исследованных образцов: а – растяжение в окружном направлении; б – растяжение в продольном направлении

Fig. 4. Values of Young's modulus for the studied samples: а – stretching in the circumferential direction; б – stretching in the longitudinal direction

возрастает, но без достоверного отличия от значений нативной группы контроля. После длительного хранения в спиртосодержащих (КСР и С-Г) и водных (АБ) растворах основные изменения механических свойств также проявились при растяжении материала стенки аорты в окружном направлении. Практически все данные по механическим свойствам при продольном растяжении остались на уровне контрольных значений соответствующих подгрупп (децеллюляризованных и недецеллюляризованных). Подобная анизотропия биомеханических свойств в соединительно-тканном каркасе стенки аорты объясняется особенностями трехмерной ориентации волокон СТК, обеспечивающей эффективную компенсацию внутрисосудистого давления жидкости для дальнейшего активного продвижения крови. Ранее было показано, что основная масса эластиновых волокон в стенке аорты расположена в среднем слое в составе эластиновых ламелей, которые расположены преимущественно в окружном направлении. Ориентация же коллагеновых волокон направлена к оси сосуда под углом приблизительно 45° , в интима и адвентиции направление более продольное [31–33].

При проведении испытаний на одноосное растяжение мы получали кривую удлинения–напряжения для каждого образца. График такой кривой состоит из 3 частей: область с низким модулем упругости, линейная область и область текучести или разрыва. Область с низким модулем упругости возникает из-за распрямления спиралевидных коллагеновых волокон согласно направлению прилагаемого усилия. Линейная область (состоит из двух частей) возникает в результате прямого растяжения фибрилл коллагена в ткани. Область разрыва кривой удлинения–напряжения связана с непосредственным повреждением фибрилл [33]. При определении величины прочности на разрыв изначально фиксируют максимальное значение прилагаемого усилия, после которого идет разрушение образца. Фактически это зависит от того, как много и, главным образом, какого качества коллагеновые волокна имеются в ткани.

Вероятнее всего, существенное возрастание прочности материалов при хранении в спиртосодержащих растворах связано с изменением структуры молекул основных белков СТК – коллагена и эластина. Известно, что под влиянием спиртов изменяется трехспиральная структура коллагена, а также соотношение гидрофильных и гидрофобных сайтов белковых молекул [34].

Деформативную способность материала отражают показатели относительного удлинения при растяжении. На данный показатель оказывают влияние структура и волокнистый состав ткани [35]. Из полученных нами результатов следует, что относительное удлинение материала при растяжении в окружном направлении во всех экспериментальных группах

остается на уровне контрольных значений за исключением подгруппы С-Г. В данном случае показатель деформативной способности выше, чем у недецеллюляризованного аналога (С-Г.Н), в 1,58 раза. Это можно объяснить влиянием компонентов раствора С-Г (глицерина как пластификатора) на структурную организацию волокон СТК стенки аорты. В работах некоторых исследователей отмечаются схожие изменения биомеханических свойств материалов, хранившихся в растворах глицерина [36].

Модуль Юнга характеризует жесткость материала [36]. Вне зависимости от направления растяжения величины данного показателя во всех экспериментальных группах после хранения в исследуемых растворах достоверно не отличаются от показателей нативной ткани. При этом они имеют явную тенденцию к увеличению, что указывает на повышение жесткости ткани. Сравнение величин модуля Юнга при окружном и продольном растяжении внутри групп с одинаковым типом обработки тканей демонстрирует значимые различия в средних величинах. Этот факт также объясняется специфическим расположением различных волокон СТК в стенке аорты [31].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Децеллюляризация стенки аорты свиньи детергентным методом с последующим «влажным» хранением образцов в исследованных растворах в течение 50 суток достоверно не ухудшает упруго-эластические свойства материала. Отмечается небольшое повышение жесткости исследованного материала при растяжении в окружном направлении.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации (N: 121031300224-1).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Horke A, Tudorache I, Laufer G, Andreas M, Pomar JL, Pereda D et al. Early results from a prospective, single-arm European trial on decellularized allografts for aortic valve replacement: the ARISE study and ARISE Registry data. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2020; 58 (5): 1045–1053. doi: 10.1093/ejcts/ezaa100. PMID: 32386409; PMCID: PMC7577293.
2. Arabkhani B, Bekkers JA, Andrinopoulou ER, Roos-Hesselink JW, Takkenberg JJM, Bogers AJJC. Allografts in aortic position: Insights from a 27-year, single-center prospective study. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2016; 152 (6): 1572–1579. doi: 10.1016/j.jtcvs.2016.08.013; PMID: 27842683.
3. Демидов ДП, Астапов ДА, Богачев-Прокофьев АВ, Железнев СИ. Оценка качества жизни после про-

- тезирования аортального клапана биологическими протезами у пациентов пожилого возраста. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2017; 21 (3): 40–47. Demidov DP, Astaspov DA, Bogachev-Prokophiev AV, Zheleznev SI. Quality of life after aortic valve replacement with biological prostheses in elderly patients. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiokhirurgiya = Circulation Pathology and Cardiac Surgery*. 2017; 21 (3): 40–47. [In Russ, English abstract]. doi: 10.21688/1681-3472-2017-3-40-47.
4. Спиридонов СВ, Одинцов ВО, Щетинко НН, Мозгова ЕА, Гринчук ИИ, Островский ЮП. Аортальные аллогraftы в мировой кардиохирургии: исторические аспекты внедрения в клиническую практику и обзор результатов использования. *Медицинский журнал*. 2015; 1: 55–67. Spirydonov SV, Odintsov VA, Shchetinko NN, Mozgova EA, Hrynychuk II, Ostrovskiy YuP. Aortic allografts in the world cardiac surgery: historical aspects of clinical implementation, and review of implantation outcomes. *Medical Journal*. 2015; 1: 55–67. [In Russ, English abstract].
 5. Fioretta ES, von Boehmer L, Motta SE, Lintas V, Hoerstrup SP, Emmert MY. Cardiovascular tissue engineering: From basic science to clinical application. *Exp Gerontol*. 2019; 117: 1–12. doi: 10.1016/j.exger.2018.03.022. PMID: 29604404.
 6. VeDepo MC, Detamore MS, Hopkins RA, Converse GL. Recellularization of decellularized heart valves: Progress toward the tissue-engineered heart valve. *J Tissue Eng*. 2017 Aug 25; 8: 2041731417726327. doi: 10.1177/2041731417726327. PMID: 28890780; PMCID: PMC5574480.
 7. Cebotari S, Tudorache I, Ciubotaru A, Boethig D, Sarikouch S, Goerler A et al. Use of fresh decellularized allografts for pulmonary valve replacement may reduce the reoperation rate in children and young adults: Early report. *Circulation*. 2011; 124 (11 SUPPL. 1): 115–124. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.012161. PMID: 21911800.
 8. Argento G, Simonet M, Oomens CW et al. Multi-scale mechanical characterization of scaffolds for heart valve tissue engineering. *J Biomech*. 2012; 45: 2893–2898.
 9. Одаренко ЮН, Рутковская НВ, Рогулина НВ, Стасев АН, Кокорин СГ, Казан ЕС, Барбараш ЛС. Анализ 23-летнего опыта использования ксеноаортальных эпоксиобработанных биопротезов в хирургии митральных пороков сердца. Исследование факторов реципиента с позиций влияния на развитие кальциевой дегенерации. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2015; (4): 17–25. Odarenko YuN, Rutkovskaya NV, Rogulina NV, Stasev AN, Kokorin SG, Kagan ES, Barbarash LS. Analysis of 23-year experience epochy treated xenoaortic bioprosthesis in surgery mitral heart disease. Research factors of recipients by positions of influence on the development of calcium degeneration. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2015; (4): 17–25. [In Russ, English abstract] doi: 10.17802/2306-1278-2015-4-17-25.
 10. Lisy M, Kalender G, Schenke-Layland K, Brockbank KGM, Biermann A, Stock UA. Allograft Heart Valves: Current Aspects and Future Applications. *Bio-preservation Biobank*. 2017; 15 (2): 148–157. doi: 10.1089/bio.2016.0070. PMID: 28151005.
 11. Brockbank KGM, Lightfoot FG, Song YC, Taylor MJ. Interstitial ice formation in cryopreserved homografts: A possible cause of tissue deterioration and calcification *in vivo*. *J Heart Valve Dis*. 2000; 9 (2): 200–206. PMID: 10772037.
 12. Бритиков ДВ, Лаук-Дубицкий СЕ, Серов РА, Хугаев ГА. Морфологическая оценка новой методики криосохранения клапанных и сосудистых аллогraftов. *Анналы хирургии*. 2019; 24 (1): 16–23. Britikov DV, Lauk-Dubitsky SE, Serov RA, Khugaev GA. Morphological evaluation of new method of valve and vascular allografts cryopreservation. *Russian Annals of Surgery*. 2019; 24 (1): 16–23. [In Russ, English abstract] doi: 10.24022/1560-9502-2019-24-1-16-23.
 13. Hickey E, Langley SM, Allemby-Smith O, Livesey SA, Monro JL. Subcoronary allograft aortic valve replacement: parametric risk-hazard outcome analysis to a minimum of 20 years. *Ann Thorac Surg*. 2007; 84 (5): 1564–1570. doi: 10.1016/j.athoracsur.2007.02.100. PMID: 17954063.
 14. Островский ЮП, Юдина ОА, Муратов РМ, Спиридонов СВ. Технология изготовления и методика использования криосохраненных аллогraftов в хирургии пороков аортального клапана. Минск: Беларуская навука (2016), 229 с. Ostrovskij JuP, Judina OA, Muratov RM, Spiridonov SV. Tehnologija izgotovlenija i metodika ispol'zovanija kriosohranennyh allograftov v hirurgii porokov aortal'nogo klapana. Minsk: Belaruskaja nauka (2016), 229. ISBN 978-985-08-1955-0.
 15. Gatto C, Giurgola L, D'Amato Tothova J. A suitable and efficient procedure for the removal of decontaminating antibiotics from tissue allografts. *Cell Tissue Bank*. 2013; 14 (1): 107–115. doi: 10.1007/s10561-012-9305-5. PMID: 22407218.
 16. Васильева МБ, Красильникова АА, Кузнецова ЕВ, Лунина МВ, Самойлова ЛМ, Русакова ЯЛ и др. Исследование альтернативных биоцидных сред для влажного хранения аллогенного материала для протезирования элементов сердечно-сосудистой системы. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2018; 22 (4): 95–102. Vasilyeva MB, Krasilnikova AA, Kuznetsova EV, Lunina MV, Samoylova LM, Rusakova YaL et al. Alternative biocidal solutions for storage of allogeneic vascular grafts used for the replacement of cardiovascular elements. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiokhirurgiya = Circulation Pathology and Cardiac Surgery*. 2018; 22 (4): 95–102. [In Russ, English abstract] doi: 10.21688/1681-3472-2018-4-95-102.
 17. Журавлева ИЮ. Биоцидная композиция для асептического хранения консервированного протезного материала из тканей животного происхождения. Патент РФ на изобретение RU 2580621C1. Бюлл. № 10 (от 10.04.2016). Zhuravleva IYu. Biotsidnaya kompozitsiya dlya asepticheskogo khraneniya konservirovannogo proteznogo materiala iz tkaney zhivotnogo proiskhozhdeniya. Patent RF na izobretenie RU 2580621C1. Byull. No 10 (ot 10.04.2016).

18. Lichtenberg A, Tudorache I, Cebotari S, Ringes-Lichtenberg S, Sturz G, Hoeffler K et al. In vitro re-endothelialization of detergent decellularized heart valves under simulated physiological dynamic conditions. *Biomaterials*. 2006; 27 (23): 4221–4229. doi: 10.1016/j.biomaterials.2006.03.047. PMID: 16620956.
19. Cheung DT, Weber PA, Grobe AC, Shomura Y, Choo SJ, Luo HH et al. A new method for the preservation of aortic valve homografts. *J Heart Valve Dis*. 2001; 10 (6): 728–734. PMID: 11767178.
20. Yao Q, Zheng YW, Lan QH, Kou L, Xu HL, Zhao YZ. Recent development and biomedical applications of decellularized extracellular matrix biomaterials. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2019 Nov; 104: 109942. doi: 10.1016/j.msec.2019.109942. PMID: 31499951.
21. Taylor DA, Sampaio LC, Ferdous Z, Gobin AS, Taite LJ. Decellularized matrices in regenerative medicine. *Acta Biomater*. 2018 Jul 1; 74: 74–89. doi: 10.1016/j.actbio.2018.04.044. PMID: 29702289.
22. Theodoridis K, Müller J, Ramm R, Findeisen K, Andree B, Korossis S et al. Effects of combined cryopreservation and decellularization on the biomechanical, structural and biochemical properties of porcine pulmonary heart valves. *Acta Biomater*. 2016; 43: 71–77. doi: 10.1016/j.actbio.2016.07.013. PMID: 27422199.
23. Boekema BKHL, Boekestijn B, Breederveld RS. Evaluation of saline, RPMI and DMEM/F12 for storage of split-thickness skin grafts. *Burns*. 2015; 41 (4): 848–852. ISSN 0305-4179, <https://doi.org/10.1016/j.burns.2014.10.016>.
24. Ranawat AS, Vidal AF, Chen CT, Zelken JA, Turner AS, Williams RJ 3rd. Material properties of fresh cold-stored allografts for osteochondral defects at 1 year. *Clin Orthop Relat Res*. 2008; 466 (8): 1826–1836. doi: 10.1007/s11999-008-0311-7. PMID: 182584258.
25. Ziza V, Canaud L, Gandet T, Molinari N, Alonso W, Chastan R, Branchereau P, Picard E. Outcomes of cold-stored venous allograft for below-knee bypasses in patients with critical limb ischemia. *J Vasc Surg*. 2015; 62 (4): 974–983. doi: 10.1016/j.jvs.2015.04.437. PMID: 26141692.
26. Wollmann LC, Suss PH, Kraft L, Ribeiro VS, Noronha L, da Costa FDA, Tuon FF. Histological and Biomechanical Characteristics of Human Decellularized Allograft Heart Valves After Eighteen Months of Storage in Saline Solution. *Biopreserv Biobank*. 2020; 18 (2): 90–101. doi: 10.1089/bio.2019.0106. PMID: 31990593.
27. Nam J, Choi SY, Sung SC, Lim HG, Park SS, Kim SH, Kim YJ. Changes of the Structural and Biomechanical Properties of the Bovine Pericardium after the Removal of α -Gal Epitopes by Decellularization and α -Galactosidase Treatment. *Korean J Thorac Cardiovasc Surg*. 2012; 45 (6): 380–389. doi: 10.5090/kjtcs.2012.45.6.380. PMID: 23275920; PMID: PMC3530722.
28. Gilbert TW. Strategies for tissue and organ decellularization. *J Cell Biochem*. 2012; 113: 2217–2222. doi: 10.1002/jcb.24130. PMID: 22415903.
29. McKee CT, Last JA, Russell P, Murphy CJ. Indentation versus tensile measurements of Young's modulus for soft biological tissues. *Tissue Eng Part B Rev*. 2011; 17 (3): 155–164. doi: 10.1089/ten.TEB.2010.0520. PMID: 21303220; PMID: PMC3099446.
30. Sokolis DP, Kefaloyannis EM, Kouloukoussa M, Marinou E, Boudoulas H, Karayannacos PE. A structural basis for the aortic stress – strain relation in uniaxial tension. *Journal of Biomechanics*. 2006; 39 (9): 1651–1662. doi: 10.1016/j.jbiomech.2005.05.003.
31. Yu X, Wang Y, Zhang Y. Transmural variation in elastin fiber orientation distribution in the arterial wall. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2018; 77: 745–753. doi: 10.1016/j.jmbbm.2017.08.002. PMID: 28838859; PMID: PMC5696052.
32. Sugita S, Matsumoto T. Multiphoton microscopy observations of 3D elastin and collagen fiber microstructure changes during pressurization in aortic media. *Biomech Model Mechanobiol*. 2017; 16 (3): 763–773. doi: 10.1007/s10237-016-0851-9. PMID: 27878400.
33. Silver FH, Horvath I, Foran DJ. Viscoelasticity of the vessel wall: the role of collagen and elastic fibers. *Crit Rev Biomed Eng*. 2001; 29 (3): 279–301. doi: 10.1615/critrevbiomedeng.v29.i3.10. PMID: 11730097.
34. Резцова МА, Кудрявцева ЮА. Современные подходы к химической модификации белков в биологических тканях, последствия и применение. *Биоорганическая химия*. 2018; 44 (1): 22–37. Rezvova MA, Kudryavtseva JuA. Sovremennye podhody k himicheskoy modifikacii belkov v biologicheskikh tkanjah, posledstviya i primenenie. *Bioorganicheskaya khimiya / Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2018; 44 (1): 22–37. doi: 10.7868/S0132342318010025.
35. Михайлова ИП, Манченко АА, Бызов ДВ, Сандомирский БП. Физико-механические свойства девитализированных ксеноимплантатов на основе перикарда, створок аортального клапана и артерий. *Проблемы криобиологии и криомедицины*. 2015; 25 (4): 311–328. Mikhailova IP, Manchenko AA, Byzov DV, Sandomirsky BP. Fiziko-mehanicheskie svojstva devitalizirovannyh ksenoimplantatov na osnove perikarda, stvorok aortal'nogo klapana i arterij. *Problemy kriobiologii i kriomeditsiny*. 2015; 25 (4): 311–328.
36. Van Doormaal TP, Sluijs JH, Vink A, Tulleken CA, van der Zwan A. Comparing five simple vascular storage protocols. *Journal of Surgical Research*, 2014; 192 (Issue 1): 200–205. doi: 10.1016/j.jss.2014.05.001.

Статья поступила в редакцию 6.07.2021 г.
The article was submitted to the journal on 6.07.2021

DOI: 10.15825/1995-1191-2021-4-95-109

СОВРЕМЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ИНКАПСУЛЯЦИИ ОСТРОВКОВ ЛАНГЕРГАНСА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА 1-го ТИПА

П.С. Ермакова¹, Е.И. Черкасова^{1, 2}, Н.А. Леншина³, А.Н. Конев³, М.А. Батенькин³, С.А. Чесноков³, Д.М. Кучин⁴, Е.В. Загайнова^{1, 2}, В.Е. Загайнов^{1, 4}, А.В. Кашина¹

¹ ФГБУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Нижний Новгород, Российская Федерация

² ФГАО УВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород Российская Федерация

³ ФГБУН «Институт металлоорганической химии имени Г.А. Разуваева Российской академии наук», Нижний Новгород, Российская Федерация

⁴ ФБУЗ «Приволжский окружной медицинский центр» ФМБА России, Нижний Новгород, Российская Федерация

В обзор включены результаты аналитических исследований по проблеме применения трансплантационных технологий инкапсулированных островков Лангерганса поджелудочной железы для компенсации сахарного диабета первого типа. Представлен обзор современных технологий получения капсул, подходов к стратегиям инкапсуляции, трансплантационных технологий инсулинозамещения: ауто-, алло-, ксенотрансплантаций; перспектив клеточной терапии при инсулинзависимых состояниях; современных подходов к инкапсуляции β -клеток, возможностей оптимизации используемых биоматериалов при инкапсуляции для повышения выживаемости трансплантируемых клеток и снижения негативных последствий для реципиента. Выявлены основные проблемы, которые необходимо решить для эффективной трансплантации инкапсулированных островков Лангерганса, и обозначены основные стратегии для перевода технологии инкапсуляции островков в медицинскую реальность.

Ключевые слова: поджелудочная железа, островки Лангерганса, инкапсуляция, трансплантация, иммуносупрессия, сахарный диабет первого типа.

MODERN PANCREATIC ISLET ENCAPSULATION TECHNOLOGIES FOR THE TREATMENT OF TYPE 1 DIABETES

P.S. Ermakova¹, E.I. Cherkasova^{1, 2}, N.A. Lenshina³, A.N. Konev³, M.A. Batenkin³, S.A. Chesnokov³, D.M. Kuchin⁴, E.V. Zagainova^{1, 2}, V.E. Zagainov^{1, 4}, A.V. Kashina¹

¹ Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russian Federation

² Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russian Federation

³ Razuvaev Institute of Organometallic Chemistry, Nizhny Novgorod, Russian Federation

⁴ Privolzhsky District Medical Center, Nizhny Novgorod, Russian Federation

The review includes the results of analytical research on the problem of application of pancreatic islet encapsulation technologies for compensation of type 1 diabetes. We present a review of modern encapsulation technologies, approaches to encapsulation strategies, insulin replacement technologies: auto-, allo- and xenotransplantation; prospects for cell therapy for insulin-dependent conditions; modern approaches to β -cell encapsulation, possibilities of optimization of encapsulation biomaterials to increase survival of transplanted cells and reduce adverse consequences for the recipient. The main problems that need to be solved for effective transplantation of encapsulated

Для корреспонденции: Ермакова Полина Сергеевна. Адрес: 603104, Нижний Новгород, ул. Медицинская, 1. Тел. (987) 750-09-74. E-mail: bardina-polina@mail.ru

Corresponding author: Polina Ermakova. Address: 1, Meditsinskaya str., Nizhny Novgorod, 603104, Russian Federation. Phone: (987) 750-09-74. E-mail: bardina-polina@mail.ru

islets of Langerhans are identified and the main strategies for translating the islet encapsulation technology into medical reality are outlined.

Keywords: pancreas, islets of Langerhans, encapsulation, transplantation, immunosuppression, type 1 diabetes.

ВВЕДЕНИЕ

Сахарный диабет первого типа (СД1) – многофакторное заболевание, связанное с относительной или абсолютной недостаточностью гормона инсулина, приводящее к хронической гипергликемии и другим нарушениям обмена веществ. Исследования СД показали, что он развивается при уменьшении островкового аппарата поджелудочной железы (ПЖ) более чем на 90%, а для пациента со средней массой тела достаточно 300 000 жизнеспособных активных островков для контроля уровня сахара крови [1].

Перспективным вариантом лечения инсулин-зависимых нарушений углеводного обмена является применение трансплантации инсулин-продуцирующих β -клеток в составе островков Лангерганса или цельного органа реципиенту для «включения» биологических механизмов обратной связи гликемии и выработки инсулина [2].

Для снижения аутоиммунной нагрузки и повышения выживаемости клеток предлагаются различные подходы: от применений схем бесстероидной иммуносупрессии [3] до трансплантации индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) и МСК, коммитированных в сторону β -клеток [4], и использование иммунонезависимых инсулинпродуцирующих органоидов [5].

Наиболее перспективным решением проблемы иммуносупрессии в последнее время считаются технологии инкапсуляции трансплантируемых островков Лангерганса (ОЛ) для защиты их от иммунокомпетентных клеток.

ИНКАПСУЛЯЦИЯ ОСТРОВКОВЫХ КЛЕТОК

В данной статье будут рассмотрены основные стратегии и пути решения проблем эффективного функционирования трансплантированных ОЛ в составе микро- и макроустройств при инсулин-зависимых нарушениях в организме реципиента. На пути к поставленной цели предстоит решить целый комплекс многосоставных и взаимозависимых задач, от химического строения капсульной стенки до определения оптимального места трансплантации инкапсулированных ОЛ (рис. 1).

МАТЕРИАЛЫ И ПОЛУЧЕНИЕ КАПСУЛ

Идеальная полимерная оболочка для инкапсуляции ОЛ, согласно литературным данным [6], должна удовлетворять как минимум следующим критериям:

- пропускать инсулин в кровь, а кислород, глюкозу и пр. к клеткам;
- не пропускать лейкоциты, фагоциты;
- быть совместимой как с инкапсулированными клетками, так и с организмом реципиента, чтобы не вызывать иммунологической и фиброзной реакций;
- иметь гладкую топографию без шероховатой поверхности;
- стимулировать рост сосудов вокруг капсулы (для лучшего снабжения инкапсулированных клеток питанием и быстрого «отвода» выделяемого инсулина).

В подавляющем большинстве случаев данными характеристиками обладают капсулы, изготовленные из гидрогель-формирующих природных и синтетических полимеров [7].

Природные полимеры

Наиболее часто применяемые природные полимеры для создания микрокапсул ОЛ – это агароза, коллаген, хитозан, альгинат, целлюлоза, их смеси и многочисленные химические модификации.

Установлено, что иммунопротекторные свойства агарозных гелей [8–9] можно контролировать изменением концентрации агарозы при формировании геля. Стандартно для создания капсул применяется 5% агароза, но за счет увеличения концентрации агарозы с 5% до 7,5–10% или путем нанесения на поверхность капсулы других полимеров время выживания трансплантата *in vivo* может быть увеличено [11]. С этой целью Dupuy et al. [12] покрывали агарозные микрокапсулы полиакриламидом; другим успешным подходом было покрытие поверхности агарозы полибренном и карбоксиметилцеллюлозой (КМЦ) [13]. Для создания этих капсул были сформированы сложные смеси, состоящие из 5% агарозы и 5% полистиролсульфоновой кислоты, инкубированные с полибренном и КМЦ.

Для стимуляции роста клеток в системе трансплантата агароза может быть дополнена другими полимерами: например, коллаген-агарозные макрогранулы показали лучшее влияние на функциональность ОЛ крыс по сравнению с гранулами, содержащими только агарозу. ОЛ, инкапсулированные в эти макрогранулы, были способны поддерживать нормогликемию до 170 дней у диабетических мышей в модели индуцированного стрептозотоцином диабета [14].

Несмотря на множество исследований, проводимых с использованием агарозы и ее производных, можно отметить два основных недостатка агарозовых капсул для заключения ОЛ:

- 1) большой разброс получаемых гелевых шариков по размерам от 100 до 1000 мкм. Это связано со способом получения капсул – в основном используются методы суспензионного гелеобразования, индуцированного температурой;
- 2) присутствие токсичных молекул в самой агарозе вследствие недостаточной очистки природных материалов [15].

Альгинат – это анионный полисахарид, получаемый из разных видов водорослей, что существенно влияет на физико-химические свойства альгинатных микрокапсул [16].

Для уменьшения проницаемости и повышения стабильности альгинатных капсул поликатионный слой обычно добавляют к ядру альгинатного геля в качестве второго слоя, за которым следует внешний слой альгината. Наиболее часто используемым поликатионом является поли-L-лизин, хотя могут использоваться и другие поликатионы, такие как поли-L-орнитин. Так, микрокапсулы, содержащие альгинат-поли-L-орнитин вместо альгинат-поли-L-

лизин-альгинат (АПА), обеспечивали лучшую выживаемость трансплантата с ОЛ свиньи при ксенотрансплантации обезьянам *Сynomolgus* [17, 18].

Вместе с тем микрокапсулы АПА страдают от существенного недостатка: поликатионное покрытие (ПКП) со временем разлагается и считается высокоиммуногенным, что делает капсулы АПА нестабильными в долгосрочной перспективе. Было продемонстрировано, что сшивание альгината с высоким содержанием α -L-гулуруновой кислоты с ионами Ba^{2+} приводит к получению капсул с меньшей проницаемостью для IgG и большей биосовместимостью, чем при сшивании с ионами Ca^{2+} [19].

Исследования на животных [20, 21] продемонстрировали способность микрокапсул альгината бария обеспечивать долговременную иммунную защиту как при алло-, так и при ксенотрансплантации. Однако даже при отсутствии иммуногенного ПКП трансплантация микрокапсул альгината бария приводила к перикапсулярному фиброзному разрастанию (ПФР) [21]. Микрокапсулы альгината бария и очищенного альгината [22] не приводят к ПФР при тестировании на мелких животных, таких как грызуны, но вызывают сильное ПФР при трансплантации в крупное животное, такое, как бабуин.

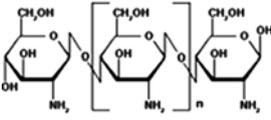
Уровни организации	Мишени исследований	Решаемые задачи
	Материалы и получение капсул	Биополимеры, синтетические полимеры, инкрустация капсулы биоактивными молекулами, способы формирования капсул
	Стратегии инкапсуляции (физические параметры капсул)	Размер капсулы, проницаемость (размер пор), толщина и упругость капсульной стенки
	Клетки ОЛ в составе капсул	Аллогенные, ксеногенные, клетки-спутники (поддерживающие), альтернативные источники β -клеток
	Физиологические параметры окружения капсул	Оксигенация, васкуляризация, фибрирование
	Место введения трансплантата в организм реципиента	Брюшная полость (сальниковый карман), капсула почки, подкожное пространство

Рис. 1. Многофункциональность решаемых задач при трансплантации инкапсулированных островков Лангерганса

Fig. 1. Multifunctional tasks in the transplantation of encapsulated IL

Хитозан – катионный полисахарид основного характера, получаемый из хитина [23], не подвергался столь интенсивному тестированию, как альгинат или агароза для изучения иммунопротекции, поскольку хитозан в бессолевой форме нерастворим в водных растворах за исключением образцов с низкой молекулярной массой. Вместе с тем он может быть использован как добавочный агент в составе матрицы. Предполагается, что применение хитозана вместо поли-L-лизина может обеспечить более высокую механическую прочность и стабильность за счет прочной связи между хитозаном и альгинатным гелем [24].

Коллаген – фибриллярный белок – считается одним из самых универсальных полимеров для инкапсуляции различных типов клеток. На сегодняшний день было идентифицировано и описано 29 типов коллагенов [25], но тем не менее коллаген I типа составляет 90% от общего количества, и именно он является наиболее часто применяемым полимером для инкапсуляции [26]. Коллагеновые капсулы нуждаются в формировании комплекса с другими полимерами или защитного слоя для долгосрочного применения в биомедицинских целях [27, 28].

Глутаровый альдегид является наиболее широко используемым сшивающим агентом, в том числе и для коллагена в модельных клеточных системах, но вызывает воспалительный ответ в организме реципиента [29].

Синтетические полимеры

Несмотря на стабильность свойств синтетических полимеров [30], процедуры инкапсуляции клеток требуют применения токсичных растворителей [30, 31], что отрицательно сказывается на биосовместимости капсул.

Для инкапсуляции клеток наиболее часто используется полиэтиленгликоль (ПЭГ), который приемлем для инкапсуляции широкого спектра клеток: ОЛ [32], хондроцитов [33], остеобластов [34], мезенхимальных стволовых клеток [35]. ПЭГ получают полимеризацией олигомеров этиленгликоля в присутствии кислотных или щелочных катализаторов. Но в том случае когда ПЭГ-мономеры оканчиваются метакрилатными или акрилатными группами, они способны подвергаться быстрому сшиванию при воздействии ультрафиолетового или видимого света в присутствии соответствующих фотоинициаторов. Фотоинициаторы создают свободные радикалы, которые могут инициировать образование фотополимеризуемых гидрогелей [36].

За последние два десятилетия было применено множество различных процедур инкапсуляции ОЛ с использованием ПЭГ, однако основными методами стали фотополимеризация ПЭГ-диакрилатных

полимеров и гелеобразование, основанное на сочетании физического и химического сшивания [37]. Тем не менее во многих исследованиях описывают возникновение иммунного ответа на ПЭГ-инкапсулированные клетки. Например, в работе J. Y. Jang et al. отмечено, что привитый на коллагеновую капсулу ПЭГ может ингибировать активацию лимфоцитов, но не макрофагов [38]. В качестве усиления иммунозащиты группы исследователей предлагают модифицировать экзоперхности ПЭГ-капсул с помощью рецепторов иммунных клеток, таких как Fas-лиганд (FasL) [39] и рецептор 1 фактора некроза опухоли (TNFR1) [40].

СТРАТЕГИИ ИНКАПСУЛЯЦИИ

Стратегии инкапсуляции ОЛ могут быть разделены на три основные категории: макроинкапсуляция, микроинкапсуляция и наноинкапсуляция (рис. 2). Наиболее перспективными признаются первые две.

Макроинкапсуляция – это заключение нескольких тысяч ОЛ в макрокапсульное устройство более 1000 мкм в диаметре. В зависимости от места трансплантации макроустройства можно разделить на внесосудистые и внутрисосудистые.

Внутрисосудистая макроинкапсуляция обычно включает размещение множества ОЛ в полых полупроницаемых волокнах, которые затем напрямую соединяются с сосудистой сетью хозяина посредством анастомозов. Несмотря на многообещающие исследования с использованием внутрисосудистых устройств, исследователи сообщают о серьезных проблемах с эмболизацией и образованием кровяных сгустков, что не позволяет FDA (Food and Drug Administration) одобрить данные системы для клинических испытаний [42].

Внесосудистая макроинкапсуляция обычно включает в себя размещение множества ОЛ в простых диффузионных камерах, которые не требуют создания внутрисосудистых шунтов. Подобные устройства часто помещаются в брюшную полость или под кожу, откуда могут быть извлечены и восстановлены в случае повреждений.

Внесосудистые макроустройства имеют форму трубчатых или плоских диффузионных камер. Трубочатое устройство является слабым в структурном отношении и может подвергаться разрывам, а также требует большого количества ОЛ для засеивания [43]. Плоские устройства являются структурно более устойчивыми. Например, для устройства Islet Sheet от Islet Sheet Medical (США) было показано, что оно обеспечивает хорошую выживаемость трансплантата как при аллогенной, так и при ксеногенной трансплантации [44, 45]. Основным недостатком устройства Islet Sheet является ограниченная диффузия кислорода, приводящая к гипоксии и некрозу центральных групп, имплантированных ОЛ.

Проблема ограниченной диффузии кислорода преодолевается несколькими подходами к конструированию макроустройств. Например, макроустройство TheraCyte™ снабжено внешней мембраной, способствующей неоваскуляризации [46]. ОЛ, инкапсулированные в устройствах TheraCyte™, выживали в течение длительного периода времени как в моделях алло-, так и ксенотрансплантации [47]. Модифицированная версия устройства TheraCyte™, а именно система Encaptra® (устройство EN250), разработанная компанией ViaCyte (США), в настоящее время проходит испытания на безопасность в рамках клинического испытания II фазы [48].

Проблема гипоксии может быть решена и с помощью искусственно насыщаемого кислородом устройства β -Air Bio-artificial Pancreas (BAP), разработанного Beta-O2 Technologies Ltd (Израиль) [49]. Это устройство состоит из полупроницаемой камеры, содержащей ОЛ, погруженные в альгинатный гидрогель, и дополнительного отсека, который обеспечивает ежедневную подачу кислорода через внешнюю

систему зондов [50]. Предварительные исследования с небольшими размерами устройств BAP, имплантированных свиньям с диабетом, показали, что функция инкапсулированных аллогенных ОЛ сохранялась, а уровень глюкозы в крови снижался до нормальных значений в течение нескольких месяцев [51].

В экспериментах *in vitro* в состав гидрогелей, содержащих ОЛ, были добавлены перфторуглероды и пероксид кальция (CaO_2) для увеличения скорости диффузии O_2 в системе гидрогеля [52]. Это также может быть перспективным решением для стратегий преодоления гипоксии ОЛ в макроустройствах.

Микроинкапсуляция – это включение одного или нескольких ОЛ в микрокапсулы размером от 200 до 1500 мкм (рис. 3).

Эта технология обладает несколькими преимуществами по сравнению с макроинкапсуляцией. Во-первых, микрокапсулы, как правило, имеют сферическую форму, обеспечивая тем самым большее отношение площади поверхности к объему и увеличение транспорта кислорода и питательных веществ,

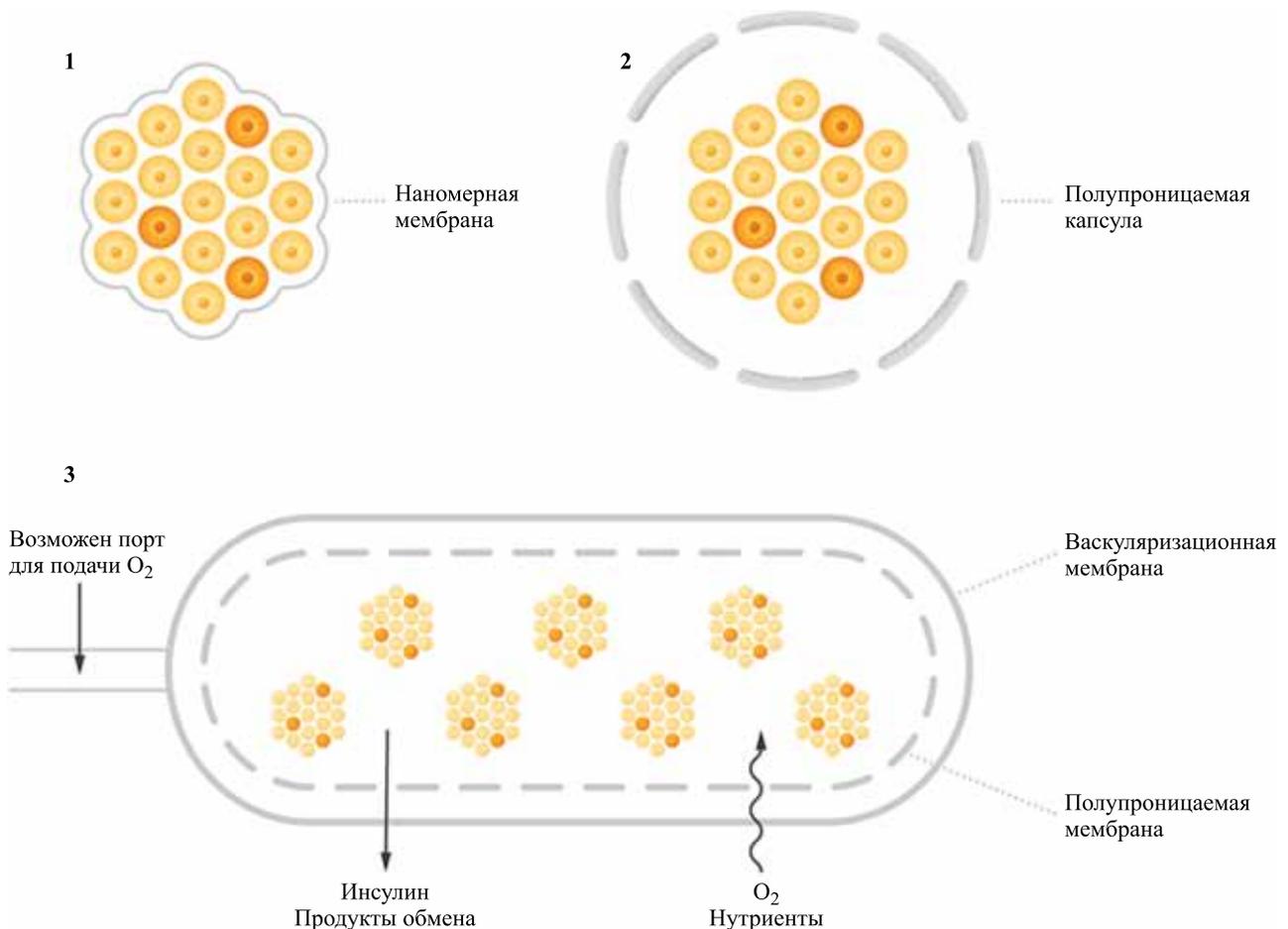


Рис. 2. Основные стратегии инкапсуляции ОЛ [14]: наноинкапсуляция (1), микроинкапсуляция (2), макроинкапсуляция (3)

Fig. 2. The main strategies for encapsulation of IL [14]: nanoencapsulation (1), microencapsulation (2), macroencapsulation (3)

необходимых для выживания ОЛ. Во-вторых, микрокапсулы являются механически стабильными и более простыми в производстве, что дает свободу изменять такие параметры, как размер капсулы, ее проницаемость и толщину. В-третьих, они могут быть имплантированы с использованием минимально инвазивной процедуры, а гладкая сферическая геометрия сводит к минимуму иммунную реакцию на инородное тело. Основным недостатком является сложность извлечения микрокапсул из места трансплантации.

Необходимость обеспечения максимальной выживаемости клеток и сохранения их нормальной жизнедеятельности накладывает следующие ограничения на условия проведения процедуры микроинкапсулирования ОЛ:

- исключение применения органических растворителей;
- проведение процедуры в водном растворе, изотоничном относительно цитозоля клеток (в среде физиологического раствора в присутствии фосфатного буфера);
- при поддержании pH между 7,2 и 7,5;
- при температуре от комнатной до 40 °С (в идеале – при 37 °С в атмосфере насыщенного водными парами 5% углекислого газа);
- для равномерного распределения клеток или ОЛ и предотвращения седиментации раствор должен быстро образовывать гель.

Все это существенно сужает круг предполагаемых для использования материалов, а приведенным условиям хорошо соответствуют рассмотренные выше полимерные гидрогели. Наиболее популярным природным полимером для микроинкапсуляции ОЛ является альгинат натрия, способный в присутствии двухвалентных ионов быстро образовывать гидрогели при нейтральном pH и умеренных температурах [53, 54].

На примере альгината натрия рассмотрим, с какими основными проблемами сталкиваются исследователи при микроинкапсуляции ОЛ. В литературе выделяется несколько факторов, имеющих решающее значение в приживаемости микрокапсул с ОЛ.

Чистота альгината является одним из основных факторов, влияющих на биосовместимость: альгинаты, полученные из природных источников, содержат иммуногенные загрязнители (белки, полифенолы, эндотоксины) [55], что часто приводит к плохой выживаемости трансплантата из-за возникновения ПФР [56]. Микрокапсулы, полученные из недостаточно очищенных коммерческих альгинатов, активируют иммунную систему и индуцируют высвобождение воспалительных цитокинов IL-1β, TNF-α и IL-6 из мышинных и человеческих моноцитов и макрофагов [57]. Одно из исследований было направлено на скрининг по выявлению примесей, и было установлено, что коммерческий альгинат, помеченный как «ультрачистый», все еще содержит

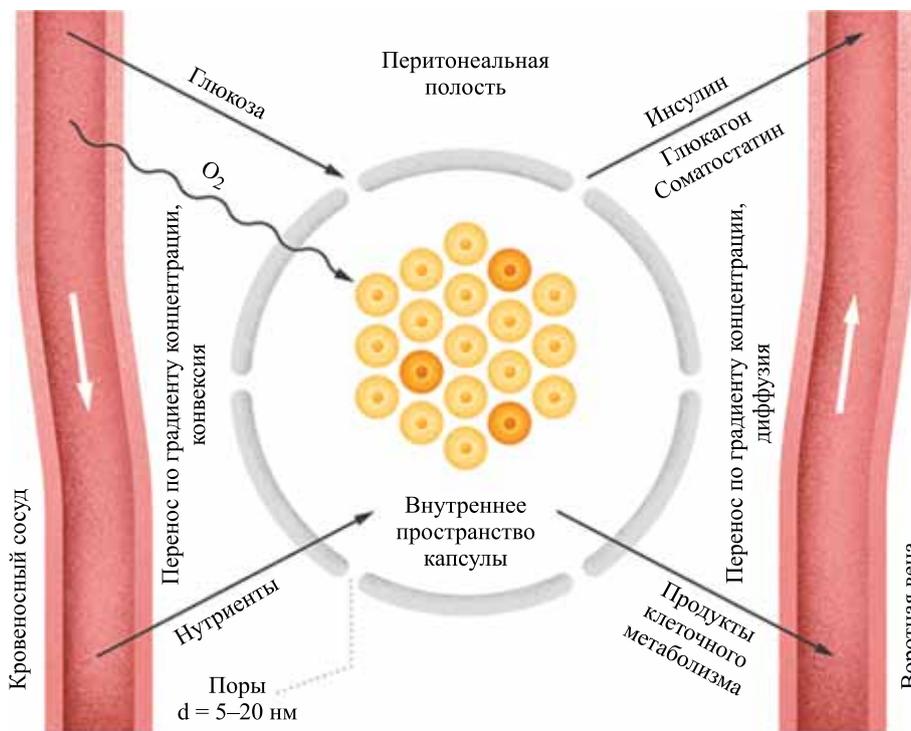


Рис. 3. Модель строения микрокапсулированного ОЛ и выполняемые ею функции

Fig. 3. Model of the structure of microencapsulated IL and its functions

примеси, такие как пептидогликан и липотейхоевая кислота [58]. Этими же авторами была предложена разработка скринингового анализа идентификации патоген-ассоциированных молекулярных структур в альгинатных полимерах [58].

Состав альгината также играет важную роль в определении биосовместимости, поскольку соотношение G/M сильно влияет на физико-химические свойства микрокапсул. Микрокапсулы, изготовленные из альгината с высоким содержанием G, более стабильны по сравнению с альгинатом с высоким содержанием M, тогда как микрокапсулы из альгината с высоким содержанием M могут обеспечивать избирательную проницаемость для иммуноглобулинов и иммунных клеток, обеспечивая тем самым лучшую иммунзащиту [59]. Тем не менее в некоторых исследованиях сообщалось, что альгинатные микрокапсулы с высоким M являются более иммуногенными, что приводит к ПФР [60], в то время как в других исследованиях сообщается о противоположном эффекте [61].

Помимо соотношения G/M вязкость и молекулярная масса (ММ) альгината также играют важную роль в определении биосовместимости. В работе S. Schneider et al. было продемонстрировано, что микрокапсулы, приготовленные из альгинатов с низкой ММ, вызывают ПФР, и подчеркивалась необходимость удаления низкомолекулярных фракций во время процедуры очистки для повышения биосовместимости [62].

Еще одним немаловажным фактором являются геометрия и размеры капсулы. Традиционные микрокапсулы с ОЛ – это сферы фиксированного диаметра 700–1500 мкм. По этому вопросу существует несколько противоположных мнений. Показано, что мелкие микрокапсулы порядка 250–350 мкм биосовместимы и способствуют меньшему ПФР по сравнению с традиционными (500–800 мкм) при трансплантации крысам [63] и обезьянам [64]. С другой стороны, O. Veiseh et al. было показано, что более крупные альгинатные микрокапсулы диаметром 1500 мкм обладают лучшей биосовместимостью и значительно снижают ПФР по сравнению с 500-мкм капсулами при ксенотрансплантации обеих групп в C57BL/6 мышей и приматов [65]. Авторы также продемонстрировали, что ОЛ, инкапсулированные в более крупные 1500-мкм капсулы, оставались жизнеспособными, имели более высокую кинетику инсулина и обеспечивали лучший гликемический контроль в условиях ксенотрансплантации со значительно меньшим количеством ПФР по сравнению с более мелкими микрокапсулами в течение 180 дней.

Наноинкапсуляция – это покрытие одного ОЛ биополимерным материалом с формированием структур размером 70–150 мкм. Наиболее распространенным методом наноинкапсуляции является

последующее осаждение (ПО) противоположно заряженных биоматериалов на поверхность ОЛ (наноэкранирование).

Разработаны различные покрытия для ПО с индивидуальными физико-химическими свойствами. Naque et al. провели ксенотрансплантацию ОЛ приматов, инкапсулированных ПО с использованием 3 полимеров, мышам с иммуносупрессией. Инкапсуляция показала равномерное наноэкранирование полимеров на ОЛ без потери жизнеспособности и функции клеток [66]. Park et al. трансплантировали ОЛ с наноэкранированным гепарином приматам, было показано уменьшение мгновенных кровяных воспалительных реакций при использовании подобного наноэкранирования [67]. Другая группа использовала ультратонкую гепарин-полимерную нанопленку в качестве платформы, которая позволяет включать биологические медиаторы для модификации поверхности ОЛ [68].

КЛЕТКИ ОЛ В СОСТАВЕ КАПСУЛ

Кроме обеспечения высокой степени выживаемости клеток ОЛ на большом промежутке времени с сохранением их способности производить инсулин существует еще и проблема нехватки донорских здоровых, жизнеспособных β -клеток.

Аллогенные клетки ОЛ с успехом применяются в качестве донорского материала при лечении СД с 2000 г. Однако еще в 1994 г. P. Soon-Shiong et al. [69] провели первое успешное испытание с микрокапсулированными ОЛ в альгинат-поли-L-лизине: аллогенные ОЛ были пересажены внутрибрюшинно пациенту с СД 1-го типа, что привело к снижению уровня глюкозы в крови на протяжении 9 месяцев. После этого еще 2 группы исследователей – R.C. Calafiore et al. [70] и В.Е. Touch et al. [71] предприняли попытки трансплантации микрокапсулированных в модифицированных альгинатах аллогенных ОЛ, однако снижение уровня глюкозы в обоих случаях было недостаточным.

Ксеногенные клетки ОЛ свиньи являются перспективным источником трансплантируемых человеку ОЛ по какой-либо из причин: сходства инсулина свиньи и человека, высокой плодовитости свиной, наличия эффективных и точных методов генетической модификации свиной [72].

Наиболее широко используются ОЛ от взрослых донорских самок или кластеры островковых клеток новорожденных (Newborns islet clusters cells, NICC); известны эксперименты с островками плода свиньи, а также с зачатками ПЖ от эмбрионов [73].

В настоящее время выделяют три основные стратегии для повышения жизнеспособности и продле-

ния функционирования ОЛ свиней в организме реципиента:

- 1) трансплантация свободных ОЛ свиньи по протоколам иммуносупрессии и толерантности;
- 2) инкапсуляция ОЛ свиньи, и в этом случае глобальная иммуносупрессия не требуется;
- 3) генетическая модификация ОЛ свиньи и последующее их использование с применением усовершенствованной низкотоксичной иммуносупрессии.

Однако существуют риски использования свиных ОЛ: в первую очередь, свиные эндогенные ретровирусные последовательности (PERV), которые могут активироваться после ксенотрансплантации [74].

Во-вторых, существует риск развития сверхострой иммунологической реакции отторжения из-за человеческих антигенов Gal (Галактоза-1,3-Галактоза), реагирующих на дисахарид мембраны клеток свиньи. Связывание антител с антигенами Gal приводит практически к немедленной активации системы комплемента с последующим разрушением трансплантата. Для преодоления сверхострой реакции иммунологического отторжения было создано несколько групп трансгенных свиней:

- 1) нокаутных по Gal;
- 2) с трансгенной экспрессией в клетках ОЛ человеческого белка, регулирующего систему комплемента (hCD46);
- 3) с трансгенной экспрессией LEA29Y (высокоаффинный вариант ингибитора Т-клеточной стимуляции CTLA-4Ig) под контролем свиного гена инсулина [75].

Возможно, что двойное сочетание ингибиторов иммуносупрессии – инкапсуляция ОЛ от трансгенных свиней сможет обеспечить эффективную защиту трансплантата без необходимости применения сильных иммунодепрессивных агентов [76].

Клетки-спутники сокультивируются в одном макро- или микрообъекте с клетками ОЛ. В качестве поддерживающих иммуномодулирующих «клеток-компаньонов» широко изучены клетки Сертоли: совместная трансплантация неинкапсулированных ОЛ с клетками Сертоли оказалась полезной для повышения выживаемости трансплантата в моделях алло- [77], ксено- [78] и ауто трансплантации [79]. Кроме того, совместная инкапсуляция ОЛ с клетками Сертоли, выделяющими иммуносупрессивные факторы, улучшает выживаемость ксенотрансплантата [80].

Иммуномодулирующие свойства МСК широко известны и использовались в нескольких исследованиях для повышения выживаемости ОЛ и улучшения результатов трансплантации [81, 82]. Кроме того, преимуществом совместного инкапсулирования ОЛ с МСК, по некоторым данным, является повышение секреции инсулина [83].

Генетически модифицированные клетки также были использованы для повышения выживаемости ОЛ: совместная инкапсуляция ОЛ с биоинженерными клетками Сертоли мыши (ТМ4), продуцирующими IGF-II (инсулиноподобный фактор роста – II), улучшает выживаемость β -клеток и обеспечивает лучший гликемический контроль [84].

Альтернативные источники β -клеток. Помимо вышеперечисленных источников донорских β -клеток активно разрабатываются методы по получению нормально функционирующих инсулин-продуцирующих клеток из различных клеточных популяций человека [85] с целью получения специфичных для пациента клеточных продуктов.

Плюрипотентные стволовые клетки (ПСК) – эмбриональные СК (ЭСК) и индуцированные плюрипотентные СК (ИПСК) – в основном рассматриваются в качестве продукта для клеточной терапии. Использование клеток-предшественников ПЖ, полученных из ЭСК человека, для лечения пациентов с СД 1-го типа находится в стадии эксперимента: клетки инкапсулируются в макросистему Encaptra® [86].

Были разработаны протоколы дифференцировки ИПСК с дополнительными этапами, оптимизированными коктейлями из индуцирующих факторов и химических веществ, с использованием 3D-методов культивирования, которые позволили получить клеточные кластеры, морфологически и функционально сходные с островковыми клетками ПЖ [87].

Мезенхимные стволовые клетки. Использование МСК при СД возможно двумя способами: дифференцировкой в инсулинпродуцирующие клетки [88] и прямым введением недифференцированных МСК [139]. МСК жировой ткани при культивировании в средах, содержащих фактор роста фибробластов, способны экспрессировать маркер Is11, необходимый для образования островковых клеток ПЖ [89]. МСК пуповинной крови человека содержат гены, необходимые для дифференцировки в эндокринную ткань ПЖ (Is11, PDX1, Pax4 и Ngn3) [90], поэтому высвобождают инсулин и С-пептид в ответ на стимуляцию глюкозой *in vitro* и *in vivo*.

Прямое перепрограммирование для получения β -клеток подразумевает использование технологии интеграции ДНК (в большинстве случаев с помощью вирусных векторов) в клетки различного типа, которая приводит к созданию β -клеток, минуя их возвращение в плюрипотентное состояние. В качестве исходного материала для прямого перепрограммирования используют протоковые клетки ПЖ, ацинарную ткань, α -клетки и другие.

Показано, что комбинация трех регуляторов развития β -клеток – NGN3, PDX1 и MAFA – может эффективно превращать ацинарные клетки ПЖ взрослой мыши в β -подобные клетки при помощи аденовирусного вектора [91].

Проведенные исследования показали, что желудочно-кишечные эпителиальные клетки также могут быть трансформированы в β -подобные клетки. Клетки из антрального отдела желудка, по-видимому, особенно подвержены такой трансформации. В отдельном исследовании условное удаление Foxo1 из Ngn3 + кишечных эндокринных клеток-предшественников приводило к образованию инсулин-продуцирующих клеток в кишечнике [92].

Другие примеры перепрограммирования мышечных клеток включают цитокин-опосредованное превращение ацинарных клеток в инсулин-экспрессирующие, превращение протоковых клеток в инсулин-экспрессирующие путем делеции FBW7 и превращение гепатоцитов в инсулин-продуцирующие клетки с помощью TGIF2 [93]. Экстремальная потеря β -клеток может спонтанно превращать δ - и α -клетки ПЖ в β -клетки [94].

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ОКРУЖЕНИЯ КАПСУЛ

В искусственно созданной системе инкапсулирующих устройств отсутствует сформированная капиллярная сеть, поэтому решение вопроса о стабильной трофике и оксигенации трансплантированных клеток является необходимым для их выживания. A. Pileggi et al. инициировали предварительную васкуляризацию путем имитации физиологической реакции организма на инородное тело: катетер был введен подкожно и удален через 4 недели [95]. Преваскуляризации участка для трансплантации также можно добиться, предварительно обработав участок трансплантации ангиогенными факторами [96].

Еще одним из подходов является встраивание ангиогенных факторов в структуру клеточных капсул, например, фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) в ПЭГ [97]. G. Marchioli et al. сконструировали микрокапсулы из гепаринизированного поликапролактона и также наблюдали усиление ангиогенеза в области трансплантата [98].

Инкапсуляция клеток-спутников совместно с ОЛ также может приводить к усилению васкуляризации капсул. Например, использование МСК жировой ткани или костного мозга [99].

Кроме того, было предпринято несколько попыток улучшить оксигенацию на участке трансплантации капсул, в том числе генерировать кислород вблизи микрокапсул с помощью фотосинтеза [100] или электрохимического генератора [101]. К сожалению, эти генерирующие кислород системы не могут производить достаточно кислорода, необходимого в клинических условиях.

Одним из механизмов защиты организма от проникновения во внутреннее пространство является фиброзное разрастание вокруг инородного предме-

та [102]. В микрокапсулах уменьшенный диаметр и большее отношение площади поверхности к объему способствуют улучшению диффузии, что косвенно подтверждается более быстрой реакцией микроинкапсулированных островков на изменения глюкозы в кровотоке [103].

МЕСТО ТРАНСПЛАНТАЦИИ В ОРГАНИЗМЕ РЕЦИПИЕНТА

Идеальный участок для трансплантации должен иметь такие особенности, как низкое иммунное воздействие, простота извлечения имплантированных капсул, доступ к сосудистой сети реципиента с возможностью неоваскуляризации имплантированного трансплантата и достаточное пространство для размещения желаемого количества имплантированных микрокапсул [104]. Неинкапсулированные ОЛ обычно вводятся в печень через воротную вену. Инфузия в воротную вену микроинкапсулированных ОЛ невозможна из-за их размеров. Микроинкапсулированные ОЛ обычно вводят в брюшную полость.

Однако при трансплантации микрокапсул в брюшную полость также существуют негативные факторы влияния: недостаточная реваскуляризация, высокая иммуногенность, хронический гипоксический стресс, что обуславливает необходимость большего количества инкапсулированных ОЛ для нормализации уровня глюкозы по сравнению с неинкапсулированными ОЛ [105]. Было показано преимущество трансплантации инкапсулированных ОЛ в созданную хирургическим путем сальниковую сумку на моделях грызунов с диабетом, что приводило в результате к долгосрочной нормогликемии [106]. Еще одним перспективным местом трансплантации ОЛ является капсула почки. Исследования на крупных животных показали, что у двух из семи обезьян *Synomolgus* С-пептид обнаруживается в крови через 60 дней после трансплантации микрокапсулированных ОЛ свиньи под капсулу почки [107]. Вместе с тем почечная капсула сильно васкуляризирована, и возможное к использованию пространство ограничивает введение большого объема трансплантата.

Другим альтернативным участком, который широко используется для трансплантации инкапсулированных ОЛ, является подкожное пространство.

Исследования показали, что ксенотрансплантация инкапсулированных ОЛ в брюшную полость мышам линии C57BL/6 приводит к сильному ПФР через 3 недели после трансплантации. Однако при трансплантации тех же инкапсулированных ОЛ подкожно ПФР значительно уменьшался [108]. Таким образом, подкожная трансплантация микроинкапсулированных ОЛ может быть принята в качестве стратегии для уменьшения ПФР и повышения выживаемости ОЛ,

если проблема плохого снабжения кислородом окажется решаемой.

ПРОВОДИМЫЕ В МИРЕ КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИНКАПСУЛИРОВАННЫХ ОЛ

Сравнительно небольшое количество систем инкапсуляции было использовано в клинических исследованиях. Несмотря на то что все системы показали безопасность для пациентов, эффективность их функционирования оказалась различной [109–116].

В создании систем инкапсуляции ОЛ и β -клеток исследователи используют различные подходы: микро- и макроустройства, места и способы трансплантации, алло- и ксенотрансплантаты.

Первоначально клинические испытания были сосредоточены на аллогенных ОЛ, однако селективный иммунный барьер микрокапсул позволяет безопасно использовать и свиные ОЛ как альтернативный источник клеток. Компанией Living Cell Technologies (LCT) было проведено крупное клиническое исследование с использованием ОЛ свиней, инкапсулированных в альгинат-поли-L-орнитин, которые были названы Diabecell®. Восемь пациентов получали различные дозы ОЛ (от 5000 до 10 000 IEQ на кг массы тела), у шести из них наблюдалось появление пониженного уровня экзогенного инсулина сроком до восьми месяцев [117].

Как упоминалось ранее, устройства макроинкапсуляции в большей степени ограничивают трансфузию кислорода к клеткам. Поэтому одна из модификаций – устройство VAR – призвана решить эту проблему с помощью встроенного многоразового кислородного баллона. В исследовании I фазы оценивали безопасность и эффективность имплантации устройства β Al₂O₃, содержащего аллогенные ОЛ ПЖ человека, пациентам с сахарным диабетом 1-го типа. Четырем пациентам были пересажены 1–2 устройства VAR, каждое из которых содержало 1800–4600 островковых эквивалентов на кг массы тела, и наблюдали в течение 3–6 месяцев с регулярным восстановлением запаса кислорода. Хотя β -клетки выжили в устройстве, наблюдались только мельчайшие уровни циркулирующего C-пептида без какого-либо влияния на метаболический контроль. В окружении капсулы наблюдали ПФР, а восстановленные устройства показывали притупленный инсулиновый ответ и образование амилоида в эндокринной ткани [118].

Компания ViaCyte разработала систему макроинкапсуляции Encaptra®, которая в отличие от всех конкурентов имеет в своем составе ИПСК, а не ОЛ. ViaCyte в настоящее время проводит многоцентровое клиническое исследование фазы I/II с применением технологии макроинкапсуляции и клеточным про-

дуктом VC-01™ для оценки безопасности и эффективности работы системы в течение 2 лет [114].

В отличие от Encaptra® клеточный продукт Sernova Cell Pouch не является иммуноизолирующим. Специфика его трансплантации направлена на предварительную васкуляризацию подкожного участка перед введением клеток через канал. Устройство, формирующее канал, вводится под кожу на 30 дней, чтобы обеспечить сосудистую интеграцию. Затем ряд стержней удаляют, чтобы заполнить сформированные каналы инкапсулированными ОЛ. Предполагается, что подобное стимулирование микроциркуляторного русла может значительно повысить выживаемость инкапсулированных островков за счет увеличения трофики- и газообмена. Однако 3-летнее клиническое исследование фазы I/II с использованием этого устройства было прекращено в 2016 году после набора трех пациентов [110].

Заключение ОЛ в тромбиново-плазменном геле несколько отличается от стандартов инкапсуляции: аллогенные ОЛ ресуспендируют в аутологичной плазме и лапароскопически распределяют по поверхности сальника: он имеет плотную васкуляризованную поверхность и легко доступен. Кроме того, рекомбинантный человеческий тромбин клинического класса используется для клеточной адгезии. Этот метод был применен для одной пациентки с восстановлением эугликемии и последующей независимостью от инсулина в течение 12 месяцев [119].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Новые разработки в области биоактивной инкапсуляции ОЛ, которые позволят избежать иммуносупрессии трансплантата и добиться длительной функциональной активности островковых клеток, на сегодняшний день крайне необходимы в России и мировом сообществе. Технологии инкапсуляции β -клеток и ОЛ, включающие нано-, микро-, и макроинкапсуляцию, представляют собой перспективные подходы к лечению СД 1-го типа, поскольку обеспечивают трансплантацию клеточных ресурсов без иммуносупрессивных агентов и позволяют использовать альтернативные источники доноров.

Основные проблемы, которые необходимо решить для эффективной трансплантации инкапсулированных ОЛ, связаны с оксигенацией трансплантата, воспалительным ответом, биосовместимостью материала, а также местом и способом оптимальной трансплантации. Долгосрочный успех стратегий инкапсуляции может быть затруднен ПФР и ограниченной выживаемостью инкапсулированных островков, особенно после внутрибрюшинной имплантации. В каждой области инкапсуляции все еще существуют ограничения, которые препятствуют их широкому клиническому применению: макроустройства легко извлекаемы, однако в большей степени способствуют

ПФР и в меньшей – нормальной оксигенации и трофике клеток. Микро- и нанокапсулы труднее извлечь из организма реципиента, однако клетки находятся в них в более удовлетворительных условиях.

Помимо вышеперечисленного существует и проблема нехватки донорских здоровых, жизнеспособных β -клеток. Ксенотрансплантация ОЛ свиньи в настоящее время является наиболее продвинутой альтернативой трансплантации ПЖ или аллотрансплантации ОЛ в мире, тем более что последние достижения в области генной инженерии привели к пересмотру возможности использования органов, выращенных у свиней. При технологии CRISPR-Cas9 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) [120] пул из 62 известных ретровирусов свиней может быть удален из клеток кожи свиньи, которые в принципе могут быть востребованы и для получения ИПСК, а затем генетически «чистые» свиньи могут использоваться в качестве доноров островковых клеток [121]. Следует отметить, что ксенотрансплантация в России запрещена.

В целом прогресс в науке о биоматериалах, технологиях изготовления, более безопасных стратегиях имплантации, стимуляции ангиогенеза и клеточной биологии, а также новые альтернативные источники ОЛ могут позволить перевести технологии инкапсуляции β -клеток в медицинскую реальность.

Работа выполнена при поддержке Министерства здравоохранения РФ (государственное задание № АААА-А20-120022590096-6 по теме «Создание технологии инкапсуляции островков поджелудочной железы для компенсации абсолютных инсулин-дефицитных состояний»).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- Rojas J, Bermudez V, Palmar J, Martínez MS, Olivar LC, Nava M, Tomey D et al. Pancreatic Beta Cell Death: Novel Potential Mechanisms in Diabetes Therapy. *J Diabetes Res.* 2018; 2018: 1–19. doi: 10.1155/2018/9601801.
- Aghazadeh Y, Nostro MC. Cell Therapy for Type 1 Diabetes: Current and Future Strategies. *Curr Diab Rep.* 2017; 17 (6): 37. doi: 10.1007/s11892-017-0863-6.
- Primavera R, Razavi M, Kevadiya BD, Wang J, Iykonta A, Mascolo DD, Decuzzi P et al. Enhancing islet transplantation using a biocompatible collagen-PDMS bioscaffold enriched with dexamethasone-microplates. *Biofabrication.* 2021; 13 (3). doi: 10.1088/1758-5090/abdcac.
- Peloso A, Citro A, Zoro T, Cobianchi L, Kahler-Quezada A, Bianchi CM et al. Regenerative Medicine and Diabetes: Targeting the Extracellular Matrix Beyond the Stem Cell Approach and Encapsulation Technology. *Front Endocrinol.* 2018; 9: 445. doi: 10.3389/fendo.2018.00445.
- Yoshihara E, O'Connor C, Gasser E. Immune-evasive human islet-like organoids ameliorate diabetes. *Nature.* 2020; 586 (7830): 606–611. doi: 10.1038/s41586-020-2631-z.
- Strand BL, Coron AE, Skjak-Braek G. Current and future perspectives on alginate encapsulated pancreatic islet. *Stem Cells Transl Med.* 2017; 6 (4): 1053–1058. doi: 10.1002/sctm.16-0116.
- Vasile C, Pamfil D, Stoleru E, Baican M. New Developments in Medical Applications of Hybrid Hydrogels Containing Natural Polymers. *Molecules.* 2020 Mar 27; 25 (7): 1539. doi: 10.3390/molecules25071539.
- Hu S, de Vos P. Polymeric approaches to reduce tissue responses against devices applied for islet-cell encapsulation. *Front Bioeng Biotechnol.* 2019; 7: 134. doi: 10.3389/fbioe.2019.00134.
- Gazda LS, Vinerean HV, Laramore MA, Hall RD, Carraway W, Smith BH. Pravastatin Improves Glucose Regulation and Biocompatibility of Agarose Encapsulated Porcine Islets following Transplantation into Pancreatectomized Dogs. *J Diabetes Res.* 2014; 2014: 405362. doi: 10.1155/2014/405362.
- Iwata H, Takagi T, Amemiya H. Agarose microcapsule applied in islet xenografts (hamster to mouse). *Transplant Proc.* 1992; 24 (3): 952.
- Sabatini V, Pellicano L, Farina H, Pargoletti E, Annunziata L, Ortenzi MA et al. Design of New Polyacrylate Microcapsules to Modify the Water-Soluble Active Substances Release. *Polymers.* 2021; 13 (809). doi: 10.3390/polym13050809.
- Dupuy B, Gin H, Baquey C, Ducassou D. In situ polymerization of a microencapsulating medium round living cells. *J Biomed Mater Res.* 1988; 22 (11): 1061–1070. doi: 10.1002/jbm.820221109.
- Tun T, Inoue K, Hayashi H, Aung T, Gua Y-J, Doia R et al. A newly developed three-layer agarose microcapsule for a promising biohybrid artificial pancreas: rat to mouse xenotransplantation. *Cell Transplant.* 1996; 5 (5 Suppl 1): 59–63. doi: 10.1016/0963-6897(96)00042-5.
- Jain K, Yang H, Asina SK, Patel SG, Desai J, Diehl C et al. Long-term preservation of islets of Langerhans in hydrophilic macrobeads. *Transplantation.* 1996; 61 (4): 532–536. doi: 10.1097/00007890-199602270-00003.
- Barkai U, Rotem A, de Vos P. Survival of encapsulated islets: More than a membrane story. *World J Transplant.* 2016; 6 (1): 69–90. doi: 10.5500/wjt.v6.i1.69.
- Basta G, Montanucci P, Calafiore R. Microencapsulation of cells and molecular therapy of type 1 diabetes mellitus: The actual state and future perspectives between promise and progress. *J Diabetes Investig.* 2020; 12 (3). doi: 10.1111/jdi.13372.
- Vaithilingam V, Bal S, Tuch BE. Encapsulated Islet Transplantation: Where Do We Stand? *Rev Diabet Stud.* 2017; 14 (1): 51–78. doi: 10.1900/RDS.2017.14.51.
- Simó G, Fernández-Fernández E, Vila-Crespo J, RUIPÉREZ V, Rodríguez-Nogales JM. Research progress in coating techniques of alginate gel polymer for cell en-

- capsulation. *Carbohydr Polym.* 2017; 170: 1–14. doi: 10.1016/j.carbpol.2017.04.013.
19. Ernst AU, Bowers DT, Wang L-H, Shariati K, Plesser MD, Brown NK, Mehrabyan T et al. Nanotechnology in cell replacement therapies for type 1 diabetes. *Adv Drug Deliv Rev.* 2019; 139: 116–138. doi: 10.1016/j.addr.2019.01.013.
20. Bochenek MA, Veiseh O, Vegas AJ. Alginate encapsulation as long-term immune protection of allogeneic pancreatic islet cells transplanted into the omental bursa of macaques. *Nat Biomed Eng.* 2018; 2 (11): 810–821. doi: 10.1038/s41551-018-0275-1.
21. Vaithilingam V, Kollarikova G, Qi M, Lacik I. Effect of prolonged gelling time on the intrinsic properties of barium alginate microcapsules and its biocompatibility. *J Microencapsl.* 2011; 28 (6): 499–507.
22. Qi M, Lacik I, Kollariková G, Strand BL, Formo K, Wang Y, Marchese E et al. A recommended laparoscopic procedure for implantation of microcapsules in the peritoneal cavity of non-human primates. *J Surg Res.* 2011; 168 (1): 117–123. doi: 10.1016/j.jss.2011.01.040.
23. Ellis CE, Korbitt GS. Chitosan-based biomaterials for treatment of diabetes. *Chitosan Based Biomaterials.* 2017; 91–113. doi: 10.1016/B978-0-08-100228-5.00004-3.
24. Kim MJ, Park H-S, Kim J-W, Lee E-Y, Rhee M, You Y-H et al. Suppression of Fibrotic Reactions of Chitosan-Alginate Microcapsules Containing Porcine Islets by Dexamethasone Surface Coating. *Endocrinol Metab (Seoul).* 2021; 36 (1): 146–156. doi: 10.3803/EnM.2021.879.
25. Lin K, Zhang D, Macedo MH, Cui W, Sarmiento B, Shen G. Advanced Collagen-Based Biomaterials for Regenerative Biomedicine. *Advanced Functional Materials.* 2019; 29 (3). doi: 10.1002/adfm.201804943.
26. Silvipriya KS, Kumar KK, Bhat AR, Kumar D, John A, lakshmanan P. Collagen: Animal Sources and Biomedical Application. *JAPS.* 2015; 5 (03): 123–127. doi: 10.7324/JAPS.2015.50322.
27. Lee CH, Singla A, Lee Y. Biomedical applications of collagen. *Int J Pharm.* 2001; 221 (1–2): 1–22. doi: 10.1016/s0378-5173(01)00691-3.
28. Yin C, Chia SM, Quek CH, YuH, Zhuo R-X, Leong KW, Maoad H-Q et al. Microcapsules with improved mechanical stability for hepatocyte culture. *Biomaterials.* 2003; 24 (10): 1771–1780. doi: 10.1016/S0142-9612(02)00580-X.
29. Marinucci L, Lilli C, Guerra M, Belcastro S, Becchetti E, Stabellini G et al. Biocompatibility of collagen membranes crosslinked with glutaraldehyde or diphenylphosphoryl azide: an *in vitro* study. *J Biomed Mater Res A.* 2003; 67 (2): 504–509. doi: 10.1002/jbm.a.10082.
30. Song R, Murphy M, Li C, Ting K, Soo C, Zheng Z. Current development of biodegradable polymeric materials for biomedical applications. *Drug Des Devel Ther.* 2018; 12: 3117–3145. doi: 10.2147/DDDT.S165440.
31. Gill I, Ballesteros A. Bioencapsulation within synthetic polymers (Part 1): sol–gel encapsulated biologicals. *Trends Biotechnol.* 2000; 18 (7): 282–296. doi: 10.1016/s0167-7799(00)01457-8.
32. Klymiuk N, Ludwig B, Seissler J, Reichart B, Wolf E. Current Concepts of Using Pigs as a Source for Beta-Cell Replacement Therapy of Type 1 Diabetes. *Curr Mol Biol Rep.* 2016; 2: 73–82. doi: 10.1007/s40610-016-0039-1.
33. Schneider MC, Barnes CA, Bryant SJ. Characterization of the chondrocyte secretome in photoclickable poly(ethylene glycol) hydrogels. *Biotechnol Bioeng.* 2017; 114 (9): 2096–2108. doi: 10.1002/bit.26320.
34. Carles-Carner M, Saleh LS, Bryant SJ. The effects of hydroxyapatite nanoparticles embedded in a MMP-sensitive photoclickable PEG hydrogel on encapsulated MC3T3-E1 pre-osteoblasts. *Biomed Mater.* 2018; 13 (4). doi: 10.1088/1748-605X/aabb31.
35. Nachlas ALY, Li S, Jha R. Human iPSC-derived mesenchymal stem cells encapsulated in PEGDA hydrogels mature into valve interstitial-like cells. *Acta Biomater.* 2018 Apr 15; 71: 235–246. doi: 10.1016/j.actbio.2018.02.025.
36. Qin X-H, Ovsianikov A, Stampfl J, Liska R. Additive manufacturing of photosensitive hydrogels for tissue engineering applications. *BioNanoMaterials.* 2014; 15 (3–4): 49–70. doi: 10.1515/bnm-2014-0008.
37. Cellesi F, Tirelli NA. New process for cell microencapsulation and other biomaterial applications: thermal gelation and chemical cross-linking in «tandem». *J Mater Sci Mater Med.* 2005; 16 (6): 559–565. doi: 10.1007/s10856-005-0532-1.
38. Jang JY, Lee DY, Park SJ, Byun Y. Immune reactions of lymphocytes and macrophages against PEG-grafted pancreatic islets. *Biomaterials.* 2004; 25 (17): 3663–3669. doi: 10.1016/j.biomaterials.2003.10.062.
39. Cheung CY, Anseth KS. Synthesis of immunoisolation barriers that provide localized immunosuppression for encapsulated pancreatic islets. *Bioconjug Chem.* 2006; 17 (4): 1036–1042. doi: 10.1021/bc060023o.
40. Lin CC, Metters AT, Anseth KS. Functional PEG–peptide hydrogels to modulate local inflammation induced by the pro-inflammatory cytokine TNFalpha. *Biomaterials.* 2009; 30 (28): 4907–4914. doi: 10.1016/j.biomaterials.2009.05.083.
41. Dimitrioglou N, Kanelli M, Papageorgiou E, Karatzas T, Hatziavramidis D. Paving the way for successful islet encapsulation. *Drug Discov Today.* 2019; 24 (3): 737–748. doi: 10.1016/j.drudis.2019.01.020.
42. Hwang PTJ, Shah DK, Garcia JA, Bae CY, Lim D-J, Huiszoon RC et al. Progress and challenges of the bioartificial pancreas. *Nano Converg.* 2016; 3 (1): 28. doi: 10.1186/s40580-016-0088-4.
43. Song S, Roy S. Progress and challenges in macroencapsulation approaches for type 1 diabetes (T1D) treatment: Cells, biomaterials, and devices. *Biotechnol Bioeng.* 2016; 113 (7): 1381–13402. doi: 10.1002/bit.25895.
44. Gamble A, Pepper AR, Bruni A, Shapiro AMJ. The journey of islet cell transplantation and future development. *Islets.* 2018; 10 (2): 80–94. doi: 10.1080/19382014.2018.
45. Lamb M, Storrs R, Li S, Liang O et al. Function and viability of human islets encapsulated in alginate sheets: *in vitro* and *in vivo* culture. *Transplant Proc.* 2011; 43 (9): 3265–3266. doi: 10.1016/j.transproceed.2011.10.028.

46. Boettler T, Schneider D, Cheng Y, Kadoya K, Brandon EP, Martinson L et al. Pancreatic tissue transplanted in therapy encapsulation devices is protected and prevents hyperglycemia in a mouse model of immunemediated diabetes. *Cell Transplant*. 2016; 25 (3): 609–614. doi: 10.3727/096368915X688939.
47. Lysy PA, Corritore E, Sokal EM. New Insights into Diabetes Cell Therapy. *Curr Diab Rep*. 2016; 16: 38. doi: 10.1007/s11892-016-0729-3.
48. Bartlett ST, Markmann JF, Johnson P, Korsgren O, Hering BJ, Scharp D et al. Report from IPITA-TTS Opinion Leaders Meeting on the Future of β -Cell Replacement. *Transplantation*. 2016; 100 (Suppl 2): S1–44. doi: 10.1097/TP.0000000000001055.
49. Cañibano-Hernández A, Burgo LSD, Espona-Nogueira A, Ciriza J, Pedraz JL. Current advanced therapy cell-based medicinal products for type-1-diabetes treatment. *Int J Pharm*. 2018; 543 (1–2): 107–120. doi: 10.1016/j.ijpharm.2018.03.041.
50. Ludwig B, Rotem A, Schmid J et al. Improvement of islet function in a bioartificial pancreas by enhanced oxygen supply and growth hormone releasing hormone agonist. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012; 109 (13): 5022–5027. doi: 10.1073/pnas.1201868109.
51. Neufeld T, Ludwig B, Barkai U et al. The efficacy of an immunisolating membrane system for islet xenotransplantation in minipigs. *PLoS One*. 2013; 8 (8). doi: 10.1371/journal.pone.0070150.
52. Gholipourmalekabadi M, Zhao S, Harrison SB, Mozafari M, Seifalian MA. Oxygen-generating biomaterials: A new, viable paradigm for tissue engineering? *Trends Biotechnol*. 2016; 34 (12): 1010–1021. doi: 10.1016/j.tibtech.2016.05.012.
53. Rausa RA, Nawawi FWMW, Nasaruddin RR. Alginate and alginate composites for biomedical applications. *AJPCR*. 2021; 16 (3): 280–306. doi: 10.1016/j.ajps.2020.10.001.
54. Pandolfi V, Pereira U, Dufresne M, Legallais C. Alginate-Based Cell Microencapsulation for Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *Curr Pharm Des*. 2017; 23 (26): 3833–3844. doi: 10.2174/1381612823666170609084016.
55. Fernando IPS, Lee WW, Han EJ, Ahn G. Alginate-based nanomaterials: Fabrication techniques, properties, and applications. *Chemical Engineering Journal*. 2020; 391. doi: 10.1016/j.cej.2019.123823.
56. Mallett AG, Korbitt GS. Alginate modification improves long-term survival and function of transplanted encapsulated islets. *Tissue Eng Part A*. 2009; 15 (6): 1301–1309. doi: 10.1089/ten.tea.2008.0118.
57. Ashimova A, Yegorov S, Negmetzhanov B, Hortelano G. Cell Encapsulation Within Alginate Microcapsules: Immunological Challenges and Outlook. *Front Bioeng Biotechnol*. 2019; 7: 380. doi: 10.3389/fbioe.2019.00380.
58. Paredes-Juarez GA, de Haan BJ, Faas MM, de Vos PA. Technology platform to test the efficacy of purification of alginate. *Materials (Basel)*. 2014; 7 (3): 2087–2103. doi: 10.3390/ma7032087.
59. De Groot M, Schuur TA, van Schilfgaarde R. Causes of limited survival of microencapsulated pancreatic islet grafts. *J Surg Res*. 2004; 121 (1): 141–150. doi: 10.1016/j.jss.2004.02.018.
60. Mitchell A, Johnson B. Reactive polymers and microcapsules. *McMaster*: 2020.
61. De Vos P, de Haan B, van Schilfgaarde R. Effect of the alginate composition on the biocompatibility of alginate-polylysine microcapsules. *Biomaterials*. 1997; 18 (3): 273–278. doi: 10.1016/s0142-9612(96)00135-4.
62. Schneider S, Feilen PJ, Kraus O, Haase T, Sagban TA, Lehr H-A et al. Biocompatibility of alginates for grafting: impact of alginate molecular weight. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol*. 2003; 31 (4): 383–394. doi: 10.1081/bio-120025409.
63. Robitaille R, Pariseau JF, Leblond FA, Lamoureux M, Lepage Y, Hallé JP. Studies on small (<350 microm) alginate-poly-L-lysine microcapsules. III. Biocompatibility Of smaller versus standard microcapsules. *J Biomed Mater Res*. 1999; 44 (1): 116–120. doi: 10.1002/(sici)1097-4636(199901)44:1<116::aid-jbm13>3.0.co;2-9.
64. Lum ZP, Krestow M, Tai IT, Vacek I, Sun AM. Xenografts of rat islets into diabetic mice. An evaluation of new smaller capsules. *Transplantation*. 1992; 53 (6): 1180–1183. doi: 10.1097/00007890-199206000-00002.
65. Veiseh O, Doloff JC, Ma M, Vegas AJ, Tam HH, Bader AR et al. Size- and shape-dependent foreign body immune response to materials implanted in rodents and non-human primates. *Nat Mater*. 2015; 14 (6): 643–651. doi: 10.1038/nmat4290.
66. Haque MR, Kim J, Park H, Lee HS, Lee KW, Al-Hilal TA et al. Xenotransplantation of layer-by-layer encapsulated nonhuman primate islets with a specified immunosuppressive drug protocol. *J Control Release*. 2017; 258: 10–21. doi: 10.1016/j.jconrel.2017.04.021.
67. Park H, Haque MR, Park JB, Lee KW, Lee S, Kwon Y et al. Polymeric nano-shielded islets with heparin-polyethylene glycol in a non-human primate model. *Biomaterials*. 2018; 171: 164–177. doi: 10.1016/j.biomaterials.2018.04.028.
68. Lou S, Zhang X, Zhang J, Deng J, Kong D, Li C. Pancreatic islet surface bioengineering with a heparin-incorporated starPEG nanofilm. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2017; 78: 24–31. doi: 10.1016/j.msec.2017.03.295.
69. Soon-Shiong P, Heintz RE, Merideth N, Yao QX, Yao Z, Zheng T et al. Insulin independence in a type 1 diabetic patient after encapsulated islet transplantation. *Lancet*. 1994; 343 (8903): 950–951. doi: 10.1016/s0140-6736(94)90067-1.
70. Calafiore R, Basta G, Luca G, Lemmi A, Montanucci MP, Calabrese G et al. Microencapsulated pancreatic islet allografts into nonimmunosuppressed patients with type 1 diabetes: First two cases. *Diabetes Care*. 2006; 29 (1): 137–138. doi: 10.2337/diacare.29.1.137.
71. Touch BE, Keogh GW, Williams LJ, Wu W, Foster JL, Vaithilingam V et al. Safety and viability of microencapsulated human islets transplanted into diabetic humans. *Diabetes Care*. 2009; 32 (10): 1887–1889. doi: 10.2337/dc09-0744.

72. *Graham ML, Schuurman H-J*. Pancreatic islet xenotransplantation. *Drug Discovery Today: Disease Models*. 2017; 23: 43–50. doi: 10.1016/j.ddmod.2017.11.004.
73. *Nagaraju S, Bottino R, Wijkstrom M, Trucco M, Cooper DKC*. Islet xenotransplantation: what is the optimal age of the islet-source pig? *Xenotransplantation*. 2015; 22 (1): 7–19. doi: 10.1111/xen.12130.
74. *Пеллегрини С, Сорди В, Пьемонти Л*. Замещение β -клеток поджелудочной железы при сахарном диабете. *Сахарный диабет*. 2013; (3): 11–20. *Pellegrini C, Sordi B, Piemonti L*. Pancreatic β -cell replacement in diabetes mellitus. *Diabetes*. 2013; (3): 11–20.
75. *Klymiuk N, van Buerck L, Bahr A, Offers M, Kessler B, Wuensch A et al*. Xenografted islet cell clusters from INSLEA29Y transgenic pigs rescue diabetes and prevent immune rejection in humanized mice. *Diabetes*. 2012; 61 (6): 1527–15232. doi: 10.2337/db11-1325.
76. *Ludwig B, Ludwig S*. Transplantable bioartificial pancreas devices: current status and future prospects. *Langenbecks Arch Surg*. 2015; 400 (5): 531–540. doi: 10.1007/s00423-015-1314-y.
77. *Korbitt GS, Elliott JF, Rajotte RV*. Co-transplantation of allogeneic islets with allogeneic testicular cell aggregates allows long-term graft survival without systemic immunosuppression. *Diabetes*. 1997; 46 (2): 317–322. doi: 10.2337/diab.46.2.317.
78. *Dufour JM, Rajotte RV, Kin T, Korbitt GS*. Immunoprotection of rat islet xenografts by cotransplantation with sertoli cells and a single injection of antilymphocyte serum. *Transplantation*. 2003; 75 (9): 1594–1596. doi: 10.1097/01.TP.0000058748.00707.88.
79. *Korbitt GS, Suarez-Pinzon WL, Power RF, Rajotte RV, Rabinovitch A*. Testicular Sertoli cells exert both protective and destructive effects on syngeneic islet grafts in non-obese diabetic mice. *Diabetologia*. 2000; 43 (4): 474–480. doi: 10.1007/s001250051331.
80. *Luca G, Calafiore R, Basta G, Ricci M, Calvitti M, Neri L et al*. Improved function of rat islets upon comicroencapsulation with Sertoli's cells in alginate/poly-Lornithine. *AAPS PharmSciTech*. 2001; 2 (3). doi: 10.1208/pt020315.
81. *Rasmusson I*. Immune modulation by mesenchymal stem cells. *Exp Cell Res*. 2006; 312 (12): 2169–2179. doi: 10.1016/j.yexcr.2006.03.019.
82. *Longoni B, Szilagyi E, Quaranta P, Paoli GT, Tripodi S, Urbani S et al*. Mesenchymal stem cells prevent acute rejection and prolong graft function in pancreatic islet transplantation. *Diabetes Technol Ther*. 2010; 12 (6): 435–446. doi: 10.1089/dia.2009.0154.
83. *Kerby A, Jones ES, Jones PM, King AJ*. Cotransplantation of islets with mesenchymal stem cells in microcapsules demonstrates graft outcome can be improved in an isolated-graft model of islet transplantation in mice. *Cytotherapy*. 2013; 15 (2): 192–200. doi: 10.1016/j.jeyt.2012.10.018.
84. *Jourdan G, Dusseault J, Benhamou PY*. Co-encapsulation of bioengineered IGF-II-producing cells and pancreatic islets: effect on beta-cell survival. *Gene Therapy*. 2011; 18: 539–545. doi: 10.1038/gt.2010.166.
85. *Babiker NE, Gassoum A, Abdelraheem NE, Arbab MA, ALDeaf SAH, El-Sheikh MAA et al*. The progress of stem cells in the treatment of diabetes mellitus type 1. *Progress in Stem Cell*. 2017; 1: 175–188.
86. *Ilic D, Devito L, Miere C, Codognotto S*. Human embryonic and induced pluripotent stem cells in clinical trials. *Br Med Bull*. 2015; 116: 19–27. doi: 10.1093/bmb/ldv045.
87. *Zhou Q, Melton DA*. Pancreas regeneration. *Nature*. 2018; 557 (7705): 351–358. doi: 10.1038/s41586-018-0088-0.
88. *Dang LT-T, Bui AN-T, Pham VM, Phan NK, Pham PV*. Production of islet-like insulin-producing cell clusters *in vitro* from adiposederived stem cells. *Biomedical Research and Therapy*. 2015; 2 (1): 184–192. doi: 10.7603/s40730-015-0003-3.
89. *Борусов МА, Петракова ОС, Гвазава ИГ, Калистратова ЕН, Васильев АВ*. Клеточные подходы к лечению инсулинзависимого диабета. *Acta Nature (русскаяязычная версия)*. 2016; 8 (3): 34–48. *Borisov MA, Petrakova OS, Gvazava IG, Kalistratova EN, Vasiliev AV*. Cellular approaches to the treatment of insulin-dependent diabetes. *Acta Nature (Russian version)*. 2016; 8 (3): 34–48.
90. *Hashemian SJ, Kouhnavard M, Nasli-Esfahani E*. Mesenchymal stem cells: rising concerns over their application in treatment of type one diabetes mellitus. *J Diabetes Res*. 2015; 2015: 675103. doi: 10.1155/2015/675103.
91. *Li W, Cavelti-Weder C, Zhang Y, Clement K, Donovan S, Gonzalez G et al*. Long-term persistence and development of induced pancreatic β cells generated by lineage conversion of acinar cells. *Nat Biotechnol*. 2014; 32 (12): 1223–1230. doi: 10.1038/nbt.3082.
92. *Ariyachet C, Tovaglieri A, Xiang G, Lu J, Shah MS, Richmond CA et al*. Reprogrammed stomach tissue as a renewable source of functional β cells for blood glucose regulation. *Cell Stem Cell*. 2016; 18 (3): 410–421. doi: 10.1016/j.stem.2016.01.003.
93. *Cerda-Esteban N, Naumann H, Ruzittu S, Mah N, Pongrac IM, Cozzitorto C et al*. Stepwise reprogramming of liver cells to a pancreas progenitor state by the transcriptional regulator Tgif2. *Nature Communications*. 2017; 8: 14127. doi: 10.1038/ncomms14127.
94. *Chera S, Baronnier D, Ghila L, Cigliola V, Jensen JN, Gu G et al*. Diabetes recovery by age-dependent conversion of pancreatic δ -cells into insulin producer. *Nature*. 2014; 514 (7523): 503–507. doi: 10.1038/nature13633.
95. *Pileggi A, Molano RD, Ricordi C, Zahr E, Collins J, Valdes R et al*. Reversal of diabetes by pancreatic islet transplantation into a subcutaneous, neovascularized device. *Transplantation*. 2006; 81 (9): 1318–1324. doi: 10.1038/nature13633.
96. *Pepper AR, Gala-Lopez B, Pawlick R, Merani S, Kin T, Shapiro AMJ*. A prevascularized subcutaneous deviceless site for islet and cellular transplantation. *Nat Biotechnol*. 2015; 33 (5): 518–523. doi: 10.1038/nbt.3211.
97. *Phelps EA, Templeman KL, Thule PM, Garcia AJ*. Engineered VEGF-releasing PEG-MAL hydrogel for pancreatic islet vascularization. *Drug Deliv Transl Res*. 2015; 5 (2): 125–136. doi: 10.1007/s13346-013-0142-2.

98. Marchioli G, Luca AD, Koning E. Hybrid polycaprolactone/alginate scaffolds functionalized with VEGF to promote de novo vessel formation for the transplantation of islets of Langerhans. *Adv Healthc Mater*. 2016; 5 (13): 1606–1616. doi: 10.1002/adhm.201600058.
99. Phelps EA, Headen DM, Taylor WR. Vasculogenic bio-synthetic hydrogel for enhancement of pancreatic islet engraftment and function in type 1 diabetes. *Biomaterials*. 2013; 34 (19): 4602–4611. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.03.012.
100. Veriter, S, Gianello P, Igarashi Y, Beaurin G, Ghyse-linck A, Aouassar N et al. Improvement of subcutaneous bioartificial pancreas vascularization and function by coencapsulation of pig islets and mesenchymal stem cells in primates. *Cell Transplant*. 2014; 23 (11): 1349–1364. doi: 10.3727/096368913X663550.
101. Bloch K, Papismedov E, Yavriyants K, Vorobeychik M, Beer S, Vardi P. Photosynthetic oxygen generator for bioartificial pancreas. *Tissue Eng*. 2006; 12 (2): 337–344. doi: 10.1089/ten.2006.12.337.
102. Barkai U, Weir GC, Colton CK, Ludwig B, Bornstein SR, Brendel MD et al. Enhanced oxygen supply improves islet viability in a new bioartificial pancreas. *Cell Transplant*. 2013; 22 (8): 1463–1476. doi: 10.3727/096368912X657341.
103. Thevenot P, Hu W, Tang L. Surface chemistry influences implant biocompatibility. *Curr Top Med Chem*. 2008; 8 (4): 270–280. doi: 10.2174/156802608783790901.
104. Zhu H, Li W, Liu Z, Li W, Chen N, Lu L et al. Selection of Implantation Sites for Transplantation of Encapsulated Pancreatic Islets. *Tissue Eng Part B Rev*. 2018; 24 (3): 191–214. doi: 10.1089/ten.TEB.2017.0311.
105. Desai T, Shea LD. Advances in islet encapsulation technologies. *Nat Rev Drug Discov*. 2017; 16 (5): 338–350. doi: 10.1038/nrd.2016.232.
106. Muthyala S, Safley S, Gordan K, Barber G, Weber C, Sambanis A. The effect of hypoxia on free and encapsulated adult porcine islets—an *in vitro* study. *Xenotransplantation*. 2017; 24 (1). doi: 10.1111/xen.12275.
107. Dufrane D, Goebels RM, Saliez A, Guiot Y, Gianello P. Six-month survival of microencapsulated pig islets and alginate biocompatibility in primates: proof of concept. *Transplantation*. 2006; 81 (9): 1345–1353. doi: 10.1097/01.tp.0000208610.75997.20.
108. Vaithilingam V, Evans MD, Rowe A, Bean PA, Tuch BE. Co-encapsulation of Target Effector Cells With Mesenchymal Stem Cells Reduces Pericapsular Fibrosis and Improves Graft Survival in a Xenotransplanted Animal Model. *Cell Transplant*. 2016; 25 (7): 1299–1317. doi: 10.3727/096368915X688975.
109. Yang HK, Yoon KH. Current status of encapsulated islet transplantation. *J Diabetes Complications*. 2015; 29 (5): 737–743. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2015.03.017.
110. US National Library of Medicine. ClinicalTrials.gov [Internet] A Phase I/II Study of the Safety and Efficacy of Sernova's Cell Pouch™ for Therapeutic Islet Transplantation. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01652911>.
111. US National Library of Medicine. ClinicalTrials.gov [Internet]. Open-label Investigation of the Safety and Effectiveness of DIABECCELL® in Patients With Type 1 Diabetes Mellitus. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01739829>.
112. US National Library of Medicine. ClinicalTrials.gov [Internet] Safety and Efficacy Study of Encapsulated Human Islets Allograft Transplantation to Treat Type 1 Diabetes. Available from: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00790257>.
113. US National Library of Medicine. ClinicalTrials.gov [https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01379729\(2013\)](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01379729(2013)).
114. US National Library of Medicine. ClinicalTrials.gov [Internet] A Safety, Tolerability, and Efficacy Study of VC-01™ Combination Product in Subjects With Type I Diabetes Mellitus. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02239354>.
115. US National Library of Medicine. ClinicalTrials.gov [Internet] An Open Label, Pilot Investigation, to Assess the Safety and Efficacy of Transplantation of Macroencapsulated Human Islets Within the Bioartificial Pancreas Beta-Air in Patients With Type 1 Diabetes Mellitus. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02064309>.
116. US National Library of Medicine. ClinicalTrials.gov [Internet] Allogeneic Islet Cells Transplanted Onto the Omentum. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02213003>.
117. Tan PL. Company profile: Tissue regeneration for diabetes and neurological diseases at living cell technologies. *Regen Med*. 2010; 5 (2): 181–187. doi: 10.2217/rme.10.4.
118. Carlsson P-O, Espes D, Sedigh A. Transplantation of macroencapsulated human islets within the bioartificial pancreas βAir to patients with type 1 diabetes mellitus. *Am J Transplant*. 2018; 18 (7): 1735–1744. doi: 10.1111/ajt.14642.
119. Baidal DA, Ricordi C, Berman DM, Alvarez A, Padilla N, Ciancio et al. Bioengineering of an intraabdominal endocrine pancreas. *N Engl J Med*. 2017; 376 (19): 1887–1889. doi: 10.1056/NEJMc1613959.
120. Niu D, Wei HJ, Lin L, George H, Wang T, Lee I-H. Inactivation of porcine endogenous retrovirus in pigs using CRISPR–Cas9. *Science*. 2017; 357 (6357): 1303–1307. doi: 10.1126/science.aan4187.
121. Yang L, Güell M, Niu D, George H, Lesha E, Grishin D et al. Genome-wide inactivation of porcine endogenous retroviruses (PERVs). *Science*. 2015; 350 (6264): 1101–1004. doi: 10.1126/science.aad1191.

Статья поступила в редакцию 13.07.2021 г.
The article was submitted to the journal on 13.07.2021

DOI: 10.15825/1995-1191-2021-4-110-118

РОЛЬ АПОПТОТИЧЕСКИХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА ПРИ АКТИВАЦИИ РЕГЕНЕРАЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ В ПЕЧЕНИ

Н.А. Онищенко¹, А.О. Никольская¹, З.З. Гоникова¹, Л.А. Кирсанова¹, М.Ю. Шагидулин^{1, 2}, В.И. Севастьянов¹

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

² ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени

И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация

Цель. На модели адоптивного переноса изучить клеточные механизмы формирования начальной стадии регенерационных процессов в печени при внутрибрюшинном введении здоровому реципиенту апоптотических мононуклеарных клеток костного мозга (ККМ) донора после обширной резекции печени. **Материалы и методы.** На крысах-самцах породы Wistar (n = 40) создавали модель адоптивного переноса здоровому реципиенту апоптотических ККМ (а-ККМ), изъятых у донора после обширной резекции печени. При проведении экспериментов животные были разделены на 5 групп. Четыре опытные группы с внутрибрюшинным введением реципиенту одинаковых доз: свежевыделенных ККМ (группа 1); ККМ, подвергнутых апоптозу в течение 48 часов путем хранения при t = 4–6 °С в растворе фосфатного буфера – PBS (группа 2) или в растворе Кустодиол НТК (группа 3); в группе 4 животным вводили PBS после хранения в нем ККМ. Контролем были животные с введением физиологического раствора (группа 5). Для выбора эффективных режимов индукции апоптоза ККМ, окрашенные 7AAD после инкубации в растворах, анализировали методом проточной цитометрии. Адресный перенос регенерационных сигналов реципиенту оценивали по митотической активности гепатоцитов в печени и канальцевого эпителия в почках, а также по интенсивности микроструктурных изменений в печени через 24, 48 и 72 часа после введения исследуемого материала. **Результаты.** Инкубирование ККМ в PBS и НТК в течение 48 часов при t = 4–6 °С обеспечивает наиболее эффективное накопление а-ККМ в состоянии раннего апоптоза. Показано, что а-ККМ при адоптивном переносе сохраняют способность адресной передачи регуляторных сигналов в печень, поддерживаемых процессом аутофагии. Установлено, что а-ККМ (группы 2 и 3) по сравнению с нативными ККМ (группа 1) при адоптивном переносе усиливают регенерационный потенциал печени за счет выраженного повышения активности процессов аутофагии и направленной инфильтрации печени иммуномодулирующими мононуклеарными клетками. **Заключение.** а-ККМ создают более прочную основу для выработки и осуществления адресной и эффективной регенерационной программы путем усиления процессов аутофагии и иммуномодулирующего воздействия на мононуклеарные клетки – переносчики регенерационных сигналов.

Ключевые слова: апоптоз, аутофагия, клетки костного мозга, печень, резекция, регенерация.

THE ROLE OF APOPTOTIC BONE MARROW CELLS IN ACTIVATION OF LIVER REGENERATION

N.A. Onishchenko¹, A.O. Nikolskaya¹, Z.Z. Gonikova¹, L.A. Kirsanova¹, M.Yu. Shagidulin^{1, 2}, V.I. Sevastianov¹

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

² Sechenov University, Moscow, Russian Federation

Objective: using an adoptive transfer model to study the cellular mechanisms involved in the formation of the initial stage of liver regeneration during intraperitoneal injection of a healthy recipient with apoptotic bone marrow-derived mononuclear cells (BM-MNCs) from a donor after extended liver resection. **Materials and methods.**

Для корреспонденции: Гоникова Залина Залимгериевна. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (966) 188-33-33. E-mail: zalina3392@gmail.com

Corresponding author: Zalina Gonikova. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (966) 188-33-33. E-mail: zalina3392@gmail.com

Male Wistar rats ($n = 40$) were used to create a model of adoptive transfer of apoptotic BM-MNCs (a-BM-MNCs) taken from the donor after extended liver resection to a healthy recipient. During the experiments, the animals were divided into five groups. Four experimental groups with intraperitoneal injection of the same doses to the recipient: freshly isolated BM-MNCs (group 1); BM-MNCs subjected to apoptosis for 48 hours by storage at $t = 4-6\text{ }^{\circ}\text{C}$ in phosphate-buffered saline (PBS) (group 2) or in a Custodiol HTK solution (group 3). In group 4, the animals were injected with PBS after storing BM-MNCs in it. The control animals were animals injected with saline (group 5). For selection of effective modes of apoptosis induction, BM-MNCs stained with 7AAD after incubation in solutions were analyzed by flow cytometry. Targeted transfer of regenerative signals to the recipient was assessed by the mitotic activity of hepatocytes in the liver and tubular epithelium in the kidneys, as well as by the intensity of microstructural changes in the liver 24, 48 and 72 hours after injection of the studied material. **Results.** BMC incubation in PBS and HTK for 48 hours at $t = 4-6\text{ }^{\circ}\text{C}$ provides the most effective accumulation of a-BM-MNCs in early apoptosis. It was shown that a-BM-MNCs retain the ability to target-focused transmission of regulatory signals to the liver supported by autophagy process during adoptive transfer. It was established that a-BM-MNCs (groups 2 and 3) in comparison to native BM-MNCs (group 1) at adoptive transfer increased the regenerative potential of the liver due to pronounced increase in the activity of autophagy processes and directed infiltration of immunomodulatory mononuclear cells in the liver. **Conclusion.** a-BM-MNCs create a stronger basis for development and implementation of a targeted and effective regeneration program by enhancing autophagy processes and immunomodulatory effect on mononuclear cells, which are regenerative signal carriers.

Keywords: apoptosis, autophagy, bone marrow cells, liver, resection, regeneration.

ВВЕДЕНИЕ

Повреждения органов и тканей через механизмы ауторегуляции включают в организме эволюционно выработанные процессы регенерации. Адресный перенос регенерационных сигналов в поврежденные ткани осуществляют мононуклеарные иммунорегуляторные клетки крови, и прежде всего лимфоциты [1–3]. Гемопоэтические и стромальные клетки костного мозга (ККМ) также обладают высоким регенерационным потенциалом. Однако эффект от клинического применения ККМ оказался не столь выраженным и не всегда воспроизводимым [4, 5], что заставило исследователей обратиться к изучению механизмов активации регенерационных процессов ККМ с целью повышения их регуляторной роли.

Первоначальное мнение о влиянии процессов трандифференцировки или слияния (fusion) стволовых/прогениторных ККМ с дифференцированными клетками на регенерацию поврежденной ткани/органа не подтвердилось [6–9]. Активацию регенераторных процессов под воздействием ККМ, а также супернатанта, полученного после их культивирования, стали связывать с действием паракринных факторов, выделяемых этими клетками [10–13].

Дальнейшее изучение альтернативных механизмов индукции восстановительных процессов клетками костномозгового происхождения [14] позволило Thum et al. выдвинуть гипотезу [15], согласно которой за усиление регенераторных процессов при терапии этими клетками ответственны клетки, продуцирующие паракринные факторы в состоянии апоптоза, содержание которых в пуле ККМ колеблется от 5 до 25%.

На первый взгляд, мнение, что умирающие апоптотические клетки способны повысить выживание

других клеток, кажется абсурдным, но вместе с тем такое представление содержит в себе эволюционную оправданность и рационализм, используемые живыми организмами для поддержания своей жизнедеятельности [16–19] и защиты от развития патологических состояний [20–22].

Известно, что именно апоптотические клетки выделяют в организм ростостимулирующие сигналы в виде нановезикул [23], липидов [24], экзосом, микро-РНК и белков [25], которые не только ускоряют восстановительные процессы в организме, но и оказывают иммуномодулирующее воздействие, блокирующее воспалительные реакции, которые, являясь интегральной частью любого повреждения, препятствуют регенерации.

К настоящему времени гипотеза об определяющей регуляторной роли апоптотических клеток костномозгового происхождения в регенерационных процессах является доказанной [26] и была многократно подтверждена преclinical исследованиями на клеточных суспензиях и в опытах на животных с моделированием различных патологических процессов [27].

Между тем ранние изменения в поврежденных органах, возникающие в ответ на индукционное воздействие апоптотических ККМ (а-ККМ), более эффективно регулирующих восстановительные процессы, не были предметом специальных исследований.

Целью настоящего исследования явилось изучение на модели адоптивного переноса клеточных механизмов формирования начальной стадии регенерационных процессов в печени при внутрибрюшинном введении здоровому реципиенту апоптотических мононуклеарных клеток костного мозга (а-ККМ) донора после обширной резекции печени (ОРП).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на крысах самцах породы Wistar весом 250–300 г ($n = 40$).

Способность а-ККМ регулировать и адресно доставлять регенерационные сигналы в ткань поврежденного органа (печень) изучали методом адоптивного переноса [1]. Для этого у донора создавали экспериментальную модель ОРП -70–75%, которая, как известно, сопровождается активацией механизмов гипертрофической регенерации с выраженной митотической активностью в оставшейся части органа [28]. Крысы с ОРП составили донорскую группу ($n = 15$). У крыс-доноров забирали костный мозг через 12 часов после резекции печени (указанный интервал необходим для появления в костном мозге морфогенетически активных клеток) и получали из него мононуклеарную (гемопозитическую) фракцию ККМ для последующего однократного внутрибрюшинного введения этих клеток интактным (неоперированным) крысам-реципиентам ($n = 20$) в 4 опытных группах, различающихся по способу активации апоптоза.

Использовали свежeweделенные несортированные мононуклеарные ККМ донора в дозе $3,0\text{--}3,5 \times 10^7$ клеток на крысу, (группа 1, $n = 5$), а также мононуклеарные апоптотические ККМ (а-ККМ) в той же дозе, активированные путем инкубации в растворе фосфатного буфера – PBS (группа 2, $n = 5$) или в консервирующем ион-сбалансированном растворе Кустодиол – НТК (группа 3, $n = 5$) при температуре $4\text{--}6\text{ }^\circ\text{C}$ в течение 48 часов.

В группе 4 использовали кондиционированную среду – раствор фосфатного буфера – PBS после 48 часов хранения в нем ККМ ($n = 5$). Контролем служили интактные крысы с введением 1 мл физиологического раствора (группа 5, $n = 5$).

Для выбора режимов и сроков активации апоптоза мононуклеарных ККМ было проведено сравнительное изучение динамики развития обратимого и необратимого апоптоза ККМ при инкубации в растворе фосфатно-солевого буфера (PBS) фирмы «ПанЭко» (Россия) и в консервирующем растворе Кустодиол (раствор НТК-гистидин-триптофан-кетоглутарат) фирмы «Др. Франц-Келлер Хеми» (Германия) при разных температурах ($18\text{--}22\text{ }^\circ\text{C}$ и $4\text{--}6\text{ }^\circ\text{C}$) и различных сроках инкубации (6, 18, 24, 48 и 72 часа).

При указанных сроках и температурных режимах хранения мононуклеарные ККМ сохраняют жизнеспособность и поддерживают свой структурно-функциональный гомеостаз за счет эволюционно выработанного механизма – аутофагии – адаптивной структурно-функциональной и энергетической перестройки собственных метаболических резервов, которая сопровождается постепенным развитием

раннего обратимого, а затем позднего необратимого апоптоза клеток.

Для выявления раннего апоптоза и позднего апоптоза/некроза ККМ при инкубации клеток в течение указанных сроков использовали набор FITC Annexin V Apoptosis Detection Kit with 7-AAD (BioLegend, США). Клетки суспендировали в 100 мкл буфера связывания Аннексина V в пределах 1×10^7 клеток/мл и смешивали с 5 мкл FITC-конъюгированного Annexin V и 7-AAD (краситель 7 аминоктомицин D проникает в ядра только нежизнеспособных клеток и интерколирует в двойную спираль ДНК). Позитивно окрашенные, т. е. нежизнеспособные, мононуклеарные клетки в используемом пуле ККМ при исследовании с помощью 7-AAD должны составлять не более 7–10% [29]. После инкубации при комнатной температуре в течение 15 мин в темноте к смесям добавляли 400 мкл связующего буфера Annexin V. Окрашенные клетки затем анализировали с помощью проточного цитометра Beckman Coulter Cytomics FC 500 с надлежащими настройками прибора.

Способность к усилению адресного (печень) переноса регенерационных сигналов мононуклеарными а-ККМ оценивали по выраженности пролиферативной активности гепатоцитов в печени по сравнению с канальцевым эпителием почек (контроль адресного воздействия). Также оценивали выраженность мононуклеарной клеточной инфильтрации этих органов (макрофагами и лимфоцитами) у интактных крыс-реципиентов через 24, 36, 48 и 72 часа после введения им донорских свежeweделенных и а-ККМ.

В указанные сроки иссекали печень и почки у крыс-реципиентов, готовили из них гистологические препараты, окрашенные гематоксилином и эозином. Используя микроскоп фирмы Leica DML5 (Германия), проводили гистологический анализ препаратов и определяли в 30 полях зрения количество митотически делящихся клеток, а затем рассчитывали митотический индекс (МИ) в промилле (‰).

Достоверность различия исследуемых показателей в сравниваемых группах оценивали с помощью параметрического критерия Стьюдента при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований влияния составов инкубационных растворов, сроков и температурных режимов инкубации в них ККМ на активацию раннего (обратимого) и необратимого апоптоза/некроза клеток представлены на рис. 1 и 2. Из рис. 1 видно, что при комнатной температуре инкубации ($t = 18\text{--}22\text{ }^\circ\text{C}$) мононуклеарных ККМ в растворах НТК и PBS через 18 и 24 часа преобладают клетки в состоянии позднего апоптоза, процентное содержание которых превышает допустимый уровень [29].

В то же время хранение ККМ в тех же растворах при $t = 4\text{--}6\text{ }^\circ\text{C}$ тормозило развитие в клетках позднего

апоптоза и повышало в динамике хранения (к 48 и 72 ч) содержание ККМ в состоянии раннего (обратимого) апоптоза, которое было достоверно более выраженным через 48 и 72 часа для клеток в растворе НТК – $44,8 \pm 10,9\%$, $51,84 \pm 12,2\%$ против $29,5 \pm 7,1\%$ и $38,6 \pm 10,8\%$ в растворе PBS (рис. 2). Так как после 48 часов хранения ККМ в растворах НТК и PBS в них было выявлено наиболее высокое содержание клеток в состоянии раннего обратимого апоптоза, а содержание ККМ в состоянии позднего апоптоза не превышало 7–10% ($p < 0,02$), то регуляторные возможности именно этих клеток были изучены нами

в разных группах опытов при моделировании адоптивного переноса.

Во всех исследуемых группах и на всех исследуемых сроках после введения клеток реципиенту достоверные изменения митотической активности гепатоцитов в печени и клеток канальцевого эпителия в почках (контроль тканеспецифичности адоптивного переноса) отсутствовали.

Значения митотического индекса (МИ) для печени и почек на сроках 36, 48 и 72 часа в группах 1–4 не превышали $0,02 \pm 0,01\%$ (0–2 митоза на 30 полей зрения) и так же, как в группе 5, не отличались от

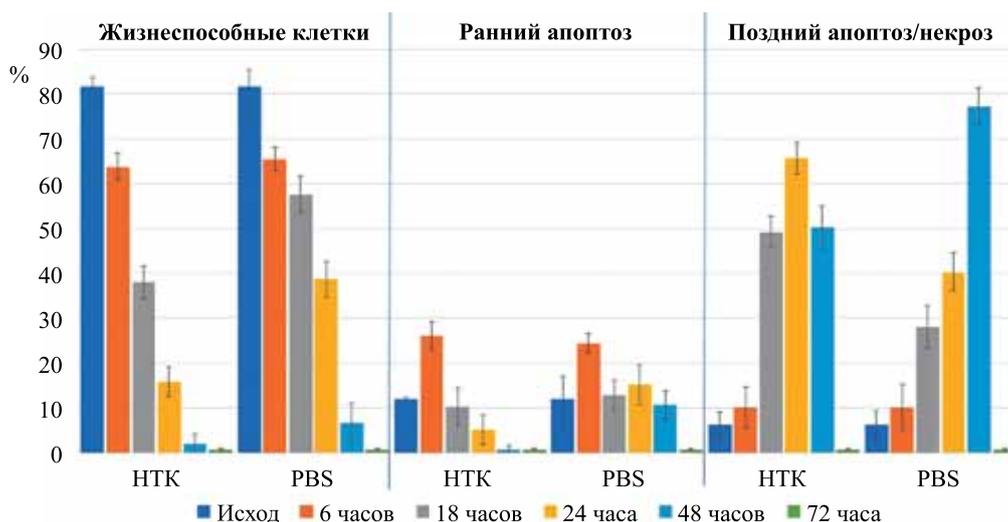


Рис. 1. Динамика изменения содержания жизнеспособных клеток, клеток в состоянии раннего апоптоза и позднего апоптоза/некроза в процессе инкубирования ККМ в растворах PBS и Кустодиол (НТК) при $t = 18–22$ °C

Fig. 1. Dynamics of changes in the content of viable cells, cells in the state of early apoptosis and late apoptosis/necrosis during incubation of BMC in PBS and Custodiol (HTK) solutions at $t = 18–22$ °C

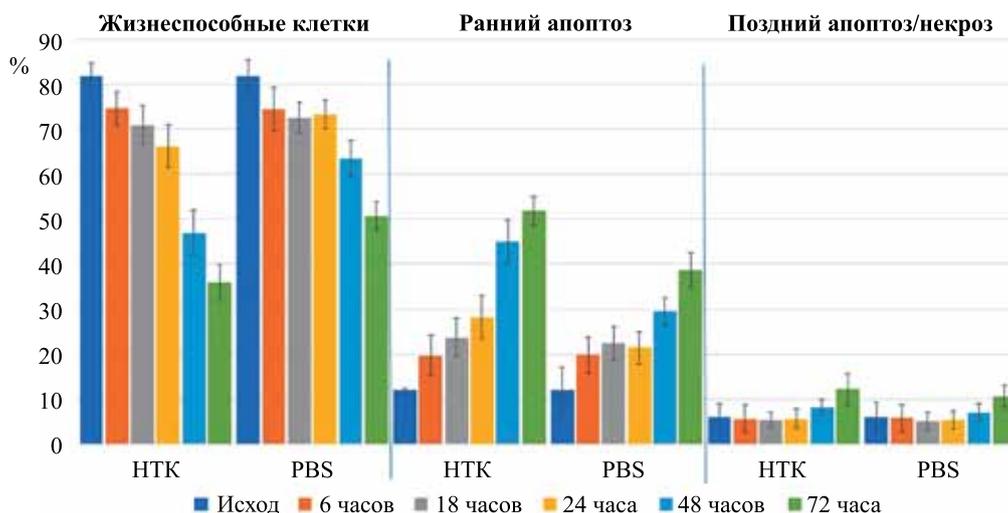


Рис. 2. Динамика изменения содержания живых клеток, клеток в состоянии раннего апоптоза и позднего апоптоза/некроза в процессе инкубирования ККМ в растворах PBS и Кустодиол (НТК) при $t = 4–6$ °C

Fig. 2. Dynamics of changes in the content of living cells, cells in the state of early apoptosis and late apoptosis/necrosis during incubation of BMC in a solution of PBS and Custodiol (HTK) at $t = 4–6$ °C

исходных значений. На рис. 3 представлена гистологическая картина ткани печени крыс-реципиентов на различных сроках после введения а-ККМ, инкубированных в растворе Кустодиол (группа 3). Ожидаемого подъема митотической активности гепатоцитов в печени крыс-реципиентов с применением апоптотически индуцированного донорского материала после ОРП (на разных сроках после его введения) нами не было обнаружено.

В то же время известно, что после введения лимфоцитов селезенки донора, предварительно активированных ОРП, в организме интактного реципиента достоверно возрастает митотическая активность не только гепатоцитов, но и клеток Купфера [1]. В связи с этим мы ожидали аналогичный эффект для гепатоцитов печени реципиента и при введении а-ККМ донора после ОРП.

Между тем, исходя из современных представлений о регенерации, полученный нами результат (отсутствие митозов) не является удивительным. На ранних этапах после воздействия повреждения для запуска регенерационного процесса в сохранившихся клетках поврежденного органа происходит направленная мобилизация энергетических и метаболических резервов клеток с развитием их аутофагии, которая предопределяет эффективность последующего восстановительного процесса [30–33].

Ранее методом морфоцитометрии нами было также показано, что в ткани печени крыс на самых ранних сроках (до 48 часов) после ОРП происходит мобилизационное увеличение клеточной плотности, снижение массы печени, уменьшение площадей гепатоцитов, их ядер и цитоплазмы [34], и эти факты подтверждают важную индукционную роль ауто-

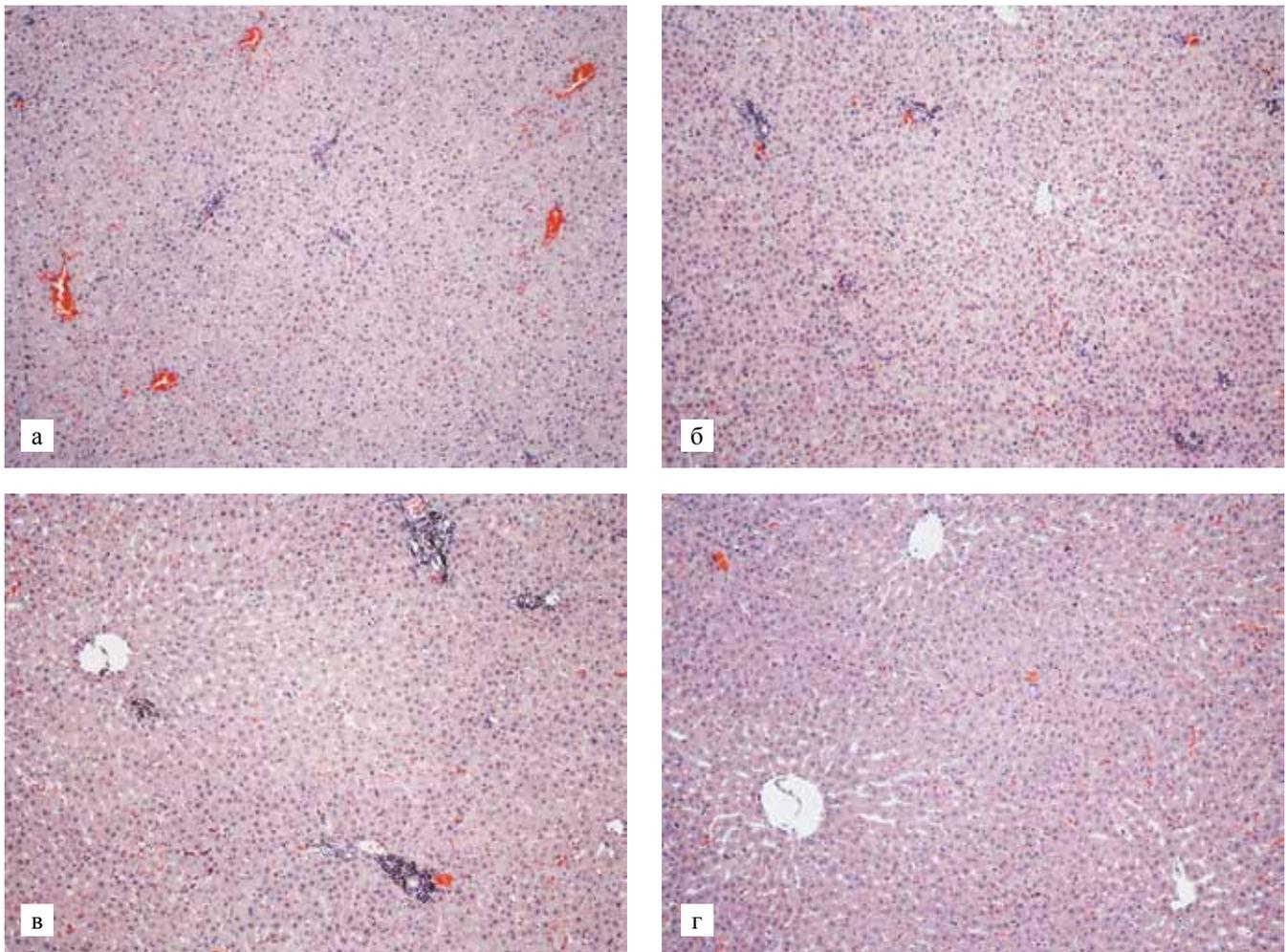


Рис. 3. Гистологическая структура ткани печени на различных сроках после введения а-ККМ (группа 3): а – 24 часа, б – 36 часов, в – 48 часов, г – 72 часа. Отсутствие митотической активности гепатоцитов на всех сроках наблюдения. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$

Fig. 3. Histological structure of liver tissue at various times after administration of a-BMC (group 3): а – 24 hours, б – 36 hours, в – 48 hours, г – 72 hours. Mitotic activity of hepatocytes at the all periods of observation is absent. Staining with hematoxylin and eosin, magnification $\times 100$

фагии и раннего обратимого апоптоза для запуска эффективного регенерационного процесса.

В экспериментах на модели адоптивного переноса мы получили лишь косвенные доказательства того, что α -ККМ в отличие от свежесыведенных ККМ на ранних сроках дополнительно усиливают процесс аутофагии клеток печени. Известно, что аутофагии отводится также роль клеточной автономной защитной системы, которая в процессе деградации измененных клеточных белков высвобождает рецепторы, в том числе собственные DAMPs (Damage-associated molecular patterns), что проявляется усилением иммуногенности ткани и более выраженным усилением ее клеточной инфильтрации, что мы и наблюдали в нашей работе (см. ниже).

Из литературы известно о появлении выраженной митотической активности гепатоцитов в печени крыс-реципиентов после введения им донорских

лимфоцитов селезенки. Отсутствие аналогичного эффекта в наших опытах после введения крысам-реципиентам ККМ мы связываем с существующей в организме клеточной специализацией. Она выражается в том, что при формировании регенерационного процесса ККМ, по-видимому, выполняют роль аккумулятора и преобразователя регенерационных сигналов, а исполнителями этого процесса уже выступают зрелые активно мигрирующие информированные лимфоциты периферической иммунной системы – лимфоциты из лимфоузлов и селезенки, но не мононуклеарные ККМ [1–4].

Анализ гистологических препаратов образцов печени и почек реципиентов (рис. 4) позволил во всех группах опытов с введением донорского материала на сроках 36, 48 часов только в печени, но не в почках, констатировать появление клеточной инфильтрации, которая была наиболее мощно выраженной в группах

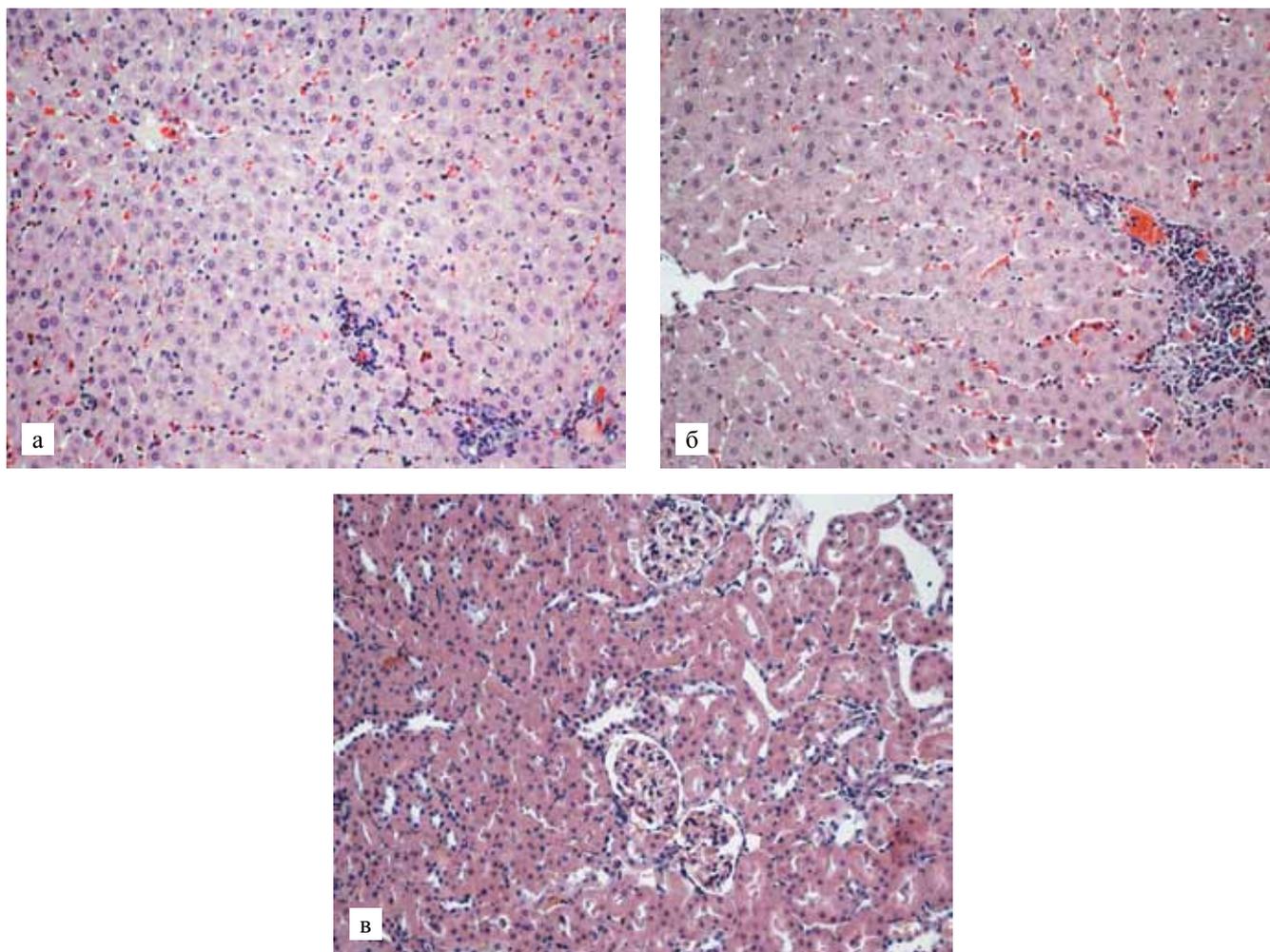


Рис. 4. Гистологическая структура ткани печени (а, б) и почки (в) на различных сроках после введения α -ККМ (группа 3): а – 36 часов, б – 48 часов, в – 48 часов; а, б – выраженная инфильтрация печени мононуклеарными клетками; в – отсутствие клеточной инфильтрации в ткани почек. Окраска гематоксилином и эозином $\times 200$

Fig. 4. Histological structure of the liver (A, B) and the kidney (C) tissue at various times after administration of α -BMC (group 3): а – 36 hours, б – 48 hours, в – 48 hours; а, б – pronounced infiltration of the liver by mononuclear cells; в – the absence of cellular infiltration in the kidney tissue. Staining with hematoxylin and eosin; magnification $\times 200$

с введением а-ККМ (группы 2 и 3), особенно в группе с применением клеток, хранившихся в растворе Кустодиол (НТК) (группа 3). Наиболее выраженная клеточная инфильтрация ткани печени в группе 3 по сравнению с группой 2 свидетельствовала как о дозозависимом регуляторном эффекте а-ККМ, так и о мощном усилении процессов аутофагии и раннего апоптоза при воздействии а-ККМ.

При введении а-ККМ, инкубированных в растворе Кустодиол через 36 и 48 часов, в печени здорового реципиента обнаруживались признаки, характерные для развития воспалительного процесса: наблюдалась инфильтрация клетками портальных трактов и синусоидов, а также диффузная активация синусоидных клеток, свидетельствующая, по-видимому, об активации ретикулоэндотелиальной системы (рис. 4, а, б). Следует отметить также, что среди клеток воспаления преобладали мононуклеары (преимущественно лимфоциты), обильно заполняющие просвет синусоидов. Через 24 и 72 часа после введения а-ККМ, хранившихся в ион-сбалансированном растворе Кустодиол, в печени реципиентов не возникало эффектов, определяемых на светооптическом уровне, и гистологическая картина паренхимы печени в целом не отличалась от таковой у интактного животного (рис. 5), что, по нашему мнению, свидетельствует об импульсном характере регуляторного воздействия а-ККМ на регенерационные процессы. Отсутствие клеточной инфильтрации в почках реципиента на всех исследуемых сроках после введения ККМ подтверждает адресную (тканеспецифическую) направленность регуляторного эффекта свежeweыделенных и а-ККМ.

Из ранее проведенных исследований [35] известно, что мононуклеарные апоптоз-индуцированные клетки обладают не провоспалительным, а иммуномодулирующим эффектом, выделяя в кровь иммунные медиаторы непосредственно или опосредованно через активацию макрофагов и дендритных клеток. Показано также, что введение апоптотических клеток ослабляет воспалительные реакции после их применения, в том числе и в печени при фульминантном гепатите [22], за счет усиления выработки в организме противовоспалительных цитокинов (TGF- β , IL-10) макрофагами и ингибирования продукции провоспалительных цитокинов (TGF- β , TNF- α) [20, 21, 36]. Кроме того, на печени было доказано существование взаимосвязи между прогрессирующим провоспалительным IL-1 β /TNF α -зависимым повреждением печени [37, 38] и сниженной способностью клеток печени к аутофагии, а также существование возможности повышения эффективности регенераторного процесса в печени за счет медикаментозной активации в ней процессов аутофагии [30, 31, 39, 40].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Из полученных результатов следует:

- инкубация ККМ в растворе фосфатного буфера (PBS) и в ион-сбалансированном растворе Кустодиол (НТК) в течение 48 часов при $t = 4-6\text{ }^{\circ}\text{C}$ оптимизирует накопление а-ККМ в состоянии раннего апоптоза;
- апоптоз-индуцированные и интактные ККМ в модели адоптивного переноса на ранних сроках после введения не индуцируют митотическую активность клеток печени;

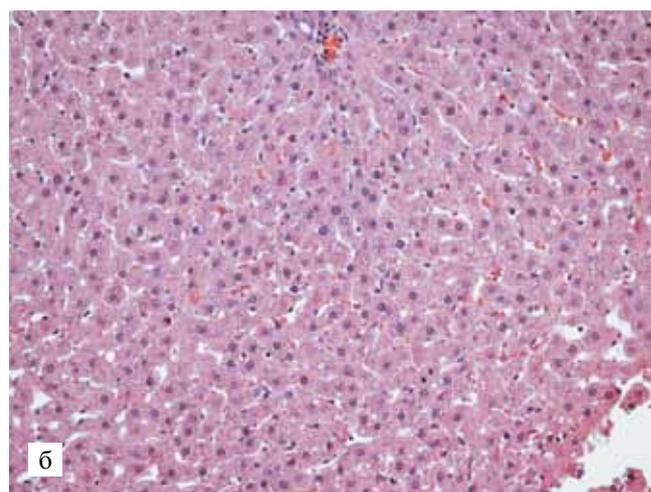
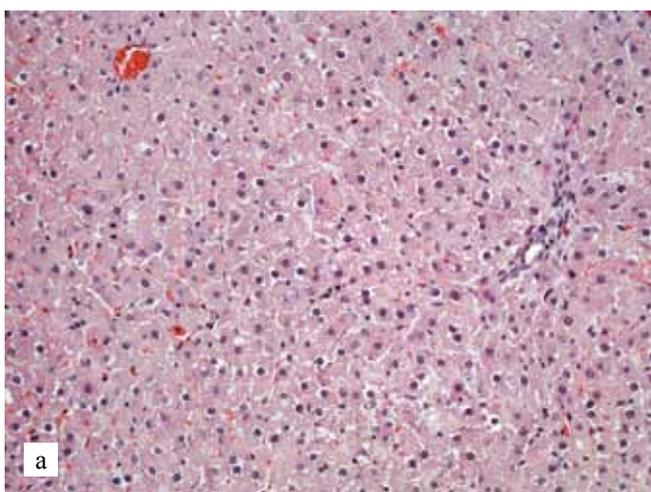


Рис. 5. Гистологическая структура ткани печени (а, б) на различных сроках после введения а-ККМ (группа 3): а – 24 часа, б – 72 часа. Клеточная инфильтрация печени мононуклеарными клетками практически отсутствует. Окраска гематоксилином и эозином $\times 200$

Fig. 5. Histological structure of liver tissue (a, б) at various times after the introduction of a-BMC (group 3): а – 24 hours, б – 72 hours. Cellular infiltration of the liver by mononuclear cells is practically absent. Staining with hematoxylin and eosin; magnification $\times 200$

- а-ККМ в модели адоптивного переноса повышают регенерационный потенциал клеток печени путем усиления в ней процессов аутофагии и направленной инфильтрации иммуномодулирующими (моноклеарными) клетками – переносчиками регенерационных сигналов;
- а-ККМ сохраняют способность адресной (тканеспецифической) передачи регуляторных сигналов, поддерживаемых в организме процессом аутофагии.

Все вышеизложенное дает нам основание считать, что а-ККМ в отличие от интактных ККМ создают в организме более прочный фундамент для выработки и осуществления адресной и эффективной регенерационной программы. В частности а-ККМ после ОРП за счет появления у них более мощного регуляторного стресс-индуцированного потенциала способствуют осуществлению адресной и более мощной активации процесса аутофагии в печени – универсального механизма регуляции процессов адаптации. За счет усиления аутофагии а-ККМ оказывают более выраженное иммуномодулирующее воздействие на иммунорегуляторные клетки, способствуя выработке ими противовоспалительных цитокинов и формированию эффективного регенераторного ответа в поврежденной печени.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Бабаева АГ, Геворкян НМ, Зотиков ЕА. Роль лимфоцитов в оперативном изменении программы развития тканей. М.: Изд. РАМН, 2009. 107. *Babaeva AG, Gevorgyan NM, Zotikov EA. Rol' limfocitov v operativnom izmenenii programmy' razvitiya tkanej. M.: Izd. RAMN, 2009. 107.*
2. Бабаева АГ, Тишевская НВ, Геворкян НМ. О морфогенетических свойствах РНК лимфоидных и стволовых клеток при восстановительных процессах. М.: Рос. акад. наук, Науч.-исслед. ин-т морфологии человека, 2016. 272. *Babaeva AG, Tishevskaya NV, Gevorgyan NM. O morfogeneticheskikh svojstvakh RNK limfoidnykh i stvolovykh kletok pri vosstanovitel'nykh processax. M.: Ros. akad. nauk, Nauch.-issled. in-t morfologii cheloveka, 2016. 272.*
3. Тишевская НВ, Бабаева АГ, Геворкян НМ. Роль лимфоцитарных РНК в межклеточном информационном обмене и регуляции регенеративных процессов. *Росс. физиол. журнал им. И.М. Сеченова.* 2016; 102 (11): 1280–1301. *Tishevskaya NV, Babaeva AG, Gevorgyan NM. Rol' limfocitarnykh RNK v mezhkлетochnom informacionnom obmene i regulyacii regenerativnykh processov. Ross.fiziol zhurnal im. I.M. Sechenova.* 2016; 102 (11): 1280–1301.
4. *Carvalho AB Quintannilha LF, Dias AS et al.* Bone marrow multipotent mesenchymal stem cells do not reduce fibrosis or improve function in a rat model of severe chronic liver injury. *Stem Cells.* 2008; 26: 1307–1314.
5. *Dai LJ, Li HY et al.* The therapeutic potential of bone marrow-derived mesenchymal stem cells on hepatic cirrhosis. *Stem Cell Res.* 2009; 2 (1): 16–25.
6. *Hodgkinson CP, Bareja A, Gomez JA, Dzau VJ.* Emerging concepts in paracrine mechanisms in regenerative cardiovascular medicine and biology. *Circ Res.* 2016; 118: 95–107.
7. *Mansour S, Roy DC, Bouchard V et al.* COMPARE-AMI trial: comparison of intracoronary injection of CD133+ bone marrow stem cells to placebo in patients after acute myocardial infarction and left ventricular dysfunction: study rationale and design. *J Cardiovasc Transl Res.* 2010; 3: 153–159.
8. *Chen SL, Fang WW, Ye F et al.* Effect on left ventricular function of intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cell in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol.* 2004; 94: 92–95.
9. *Murry CE, Soonpaa MH, Reinecke H et al.* Haematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts. *Nature.* 2004; 428: 664–668.
10. *Mirotsoy M, Zhang Z, Deb A et al.* Secreted frizzled related protein 2 (Sfrp2) is the key Akt-mesenchymal stem cell-released paracrine factor mediating myocardial survival and repair. *Proc Natl Acad Sci.* 2007; 104: 1643–1648.
11. *Gnecchi M, Zhang Z, Ni A, Dzau VJ.* Paracrine mechanisms in adult stem cell signaling and therapy. *Circ Res.* 2008; 103: 1204–1219.
12. *Gnecchi M, Danieli P, Malpasso G, Ciuffreda MC.* Paracrine mechanisms of mesenchymal stem cells in tissue repair. *Methods Mol Biol.* 2016; 1416: 123–146.
13. *Korf-Klingebiel M, Kempf T, Sauer T et al.* Bone marrow cells are a rich source of growth factors and cytokines: implications for cell therapy trials after myocardial infarction. *Eur Heart J.* 2008; 29: 2851–2858.
14. *Fadok VA, Bratton DL, Konowal A, Freed PW, Westcott JY, Henson PM.* Macrophages that have ingested apoptotic cells *in vitro* inhibit proinflammatory cytokine production through autocrine/paracrine mechanisms involving TGF-beta, PGE2, and PAF. *J Clin Invest.* 1998; 101: 890–898.
15. *Thum T, Bauersachs J, Poole-Wilson PA, Volk HD, Anker SD.* The dying stem cell hypothesis: immune modulation as a novel mechanism for progenitor cell therapy in cardiac muscle. *J Am Coll Cardiol.* 2005; 46: 1799–1802.
16. *Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR.* Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer.* 1972; 26: 239–257.
17. *Stark MA, Huo Y, Burcin TL, Morris MA, Olson TS, Ley K.* Phagocytosis of apoptotic neutrophils regulates granulopoiesis via IL-23 and IL-17. *Immunity.* 2005; 22: 285–294.

18. Erwig LP, Henson PM. Immunological consequences of apoptotic cell phagocytosis. *Am J Pathol.* 2007; 171: 2–8.
19. Palmer E. Negative selection – clearing out the bad apples from the T-cell repertoire. *Nat Rev Immunol.* 2003; 3: 383–391.
20. Ren Y, Xie Y, Jiang G et al. Apoptotic cells protect mice against lipopolysaccharide-induced shock. *J Immunol.* 2008; 180: 4978–4985.
21. Gray M, Miles K, Salter D, Gray D, Savill J. Apoptotic cells protect mice from autoimmune inflammation by the induction of regulatory B cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007; 104: 14080–14085.
22. Zhang M, Xu S, Han Y, Cao X. Apoptotic cells attenuate fulminant hepatitis by priming Kupffer cells to produce interleukin-10 through membrane-bound TGF- β . *Hepatology.* 2011; 53: 306–316.
23. Sirois I, Raymond MA, Brassard N et al. Caspase-3-dependent export of TCTP: a novel pathway for anti-apoptotic intercellular communication. *Cell Death Differ.* 2011; 18: 549–562.
24. Huang Q, Li F, Liu X et al. Caspase 3-mediated stimulation of tumor cell repopulation during cancer radiotherapy. *Nat Med.* 2011; 17: 860–866.
25. Beer L, Zimmermann M, Mitterbauer A et al. Analysis of the secretome of apoptotic peripheral blood mononuclear cells: impact of released proteins and exosomes for tissue regeneration. *Sci Rep.* 2015; 5: 16662.
26. Ankersmit HJ, Hoetzenecker K, Diel W et al. Irradiated cultured apoptotic peripheral blood mononuclear cells regenerate infarcted myocardium. *Eur J Clin Invest.* 2009; 39: 445–456.
27. Beer L, Mildner M, Gyöngyösi M, Ankersmit HJ. Peripheral blood mononuclear cell secretome for tissue repair Apoptosis. 2016; 21: 1336–1353. doi 10.1007/s10495-016-1292-8.
28. Ельчанинов АВ, Фатхудинов ТХ. Регенерация печени млекопитающих: Межклеточные взаимодействия. М.: Наука, 2020. 126. *Yel'chaninov AV, Fatkhudinov TKh. Regeneratsiya pecheni mlekopitayushchikh: Mezhhkлетochnyye vzaimodeystviya.* М.: Nauka, 2020. 126.
29. Mougél F, Bonnefoy F, Kury-Paulin S et al. Intravenous infusion of donor apoptotic leukocytes before transplantation delays allogeneic islet graft rejection through regulatory T cells. *Diabetes Metab.* 2012; 38: 531–537.
30. Lin CW, Chen YS, Lin CC, Chen YJ, Lee PH, Kuo PL et al. Amiodarone as an autophagy promoter reduces liver injury and enhances liver regeneration and survival in mice after partial hepatectomy. *Sci Rep.* 2015 Oct 30; 5: 15807. doi: 10.1038/srep15807.
31. Cheng Y, Wang B, Zhou H, Dang S, Jin M, Shi Y et al. Autophagy is required for maintenance of liver progenitor cell functionality. *Cell Physiol Biochem.* 2015; 36 (3): 1163–1174.
32. Газизов ИМ, Гумерова АА, Киясов АП. Апоптоз в регенерационном гистогенезе печени после частичной гепатэктомии у крыс. *Гены и клетки.* 2015; 10 (3): 22–26. *Gazizov IM, Gumerova AA, Kiyasov AP. Apoptosis in regenerative histogenesis of the liver after partial hepatectomy in rats. Genes and cells.* 2015; 10 (3): 22–26.
33. Монголол ХП, Плеханов АН. Взаимосвязь апоптоза и регенерации печени при печеночной недостаточности после частичной гепатэктомии в эксперименте. *Acta Biomedica Scientifica.* 2009; 3: 203–206. *Mongolov KhP, Plekhanov AN. Interrelation of apoptosis and liver regeneration in hepatic insufficiency after partial hepatectomy in an experiment. Acta Biomedica Scientifica.* 2009; 3: 203–206.
34. Онищенко НА, Фоменко ЕВ, Никольская АО, Гоникова ЗЗ, Шагидулин МЮ, Балясин МВ и др. К механизму активации восстановительных процессов в печени при использовании общей РНК клеток костного мозга. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2020; XXII (3): 134–142. *Onishchenko NA, Fomenko YeV, Nikol'skaya AO, Gonikova ZZ, Shagidulin MYu, Balyasin MV i dr. K mekhanizmu aktivatsii vosstanovitel'nykh protsessov v pecheni pri ispol'zovanii obshchey RNK kletok kostnogo mozga. Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov.* 2020; XXII (3): 134–142.
35. Saas P, Daguindau E, Perruche S. Concise review: apoptotic cell-based therapies-rationale, preclinical results and future clinical developments. *Stem Cells.* 2016; 34 (6): 1464–1473.
36. Notley CA, Brown MA, Wright GP, Ehrenstein MR. Natural IgM is required for suppression of inflammatory arthritis by apoptotic cells. *J Immunol.* 2011; 186: 4967–4972.
37. Ruart M, Chavarria L, Campreciós G, Suárez-Herrera N, Montironi C, Guixé-Muntet S et al. Impaired endothelial autophagy promotes liver fibrosis by aggravating the oxidative stress response during acute liver injury. *J Hepatol.* 2019 Mar; 70 (3): 458–469. doi: 10.1016/j.jhep.2018.10.015.
38. Shen Y, Malik SA, Amir M, Kumar P, Cingolani F, Wen J et al. Decreased Hepatocyte Autophagy Leads to Synergistic IL-1 β and TNF Mouse Liver Injury and Inflammation. *Hepatology.* 2020 Aug; 72 (2): 595–608. doi: 10.1002/hep.31209.
39. Xue R, Yang J, Jia L, Zhu X, Wu J, Zhu Y, Meng Q. Mitofusin2, as a Protective Target in the Liver, Controls the Balance of Apoptosis and Autophagy in Acute-on-Chronic Liver Failure. *Front Pharmacol.* 2019 May 31; 10: 601. doi: 10.3389/fphar.2019.00601.
40. Lv H, Fan X, Wang L, Feng H, Ci X. Daphnetin alleviates lipopolysaccharide/d-galactosamine-induced acute liver failure via the inhibition of NLRP3, MAPK and NF- κ B, and the induction of autophagy. *Int J Biol Macromol.* 2018 Nov; 119: 240–248. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.07.101.

Статья поступила в редакцию 23.07.2021 г.
The article was submitted to the journal on 23.07.2021

DOI: 10.15825/1995-1191-2021-4-119-131

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЕ ПОКРЫТИЕ ДЛЯ ТКАНЕИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ МАЛОГО ДИАМЕТРА

В.А. Сургученко¹, Е.А. Немец¹, В.Ю. Белов^{1, 2}, В.И. Севастьянов¹

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

² АНО «Институт медико-биологических исследований и технологий», Москва, Российская Федерация

Цель работы: разработка способа модифицирования композитных пористых трубчатых биополимерных каркасов малого диаметра на основе бактериального сополимера поли(3-гидроксибутирата-со-3-гидроксивалерата) и желатина двухслойным биологически-активным покрытием на основе гепарина и лизата тромбоцитов, способствующим адгезии и пролиферации клеточных культур. **Материалы и методы.** Композитные пористые трубчатые биополимерные каркасы с внутренним диаметром 4 мм изготавливали методом электроспиннинга из смеси 1 : 2 (по объему) 10% раствора сополимера поли(3-гидроксибутирата-со-3-гидроксивалерата) и 10% раствора желатина соответственно в гексафтор-2-пропанол. Структуру каркасов стабилизировали парами глутарового альдегида. Каркасы модифицировали биологически-активным покрытием на основе гепарина и лизата тромбоцитов человека. Морфологию поверхности образцов анализировали с применением сканирующей электронной микроскопии. Биологическую безопасность модифицированных каркасов *in vitro* (гемолиз, цитотоксичность) оценивали согласно ГОСТ ISO 10993. Взаимодействие с культурами эндотелиальных клеток человека линии EA.hy926 и мезенхимальных стромальных клеток из жировой ткани человека исследовали с применением витальных красителей. **Результаты.** Разработан способ модифицирования композитных пористых трубчатых биополимерных каркасов малого диаметра, полученных методом электроспиннинга из смеси поли(3-гидроксибутирата-со-3-гидроксивалерата) и желатина, двухслойным биологически-активным покрытием на основе ковалентно иммобилизованного гепарина и лизата тромбоцитов человека. *In vitro* доказано отсутствие цитотоксичности и гемолитической активности образцов модифицированных каркасов. Показано, что разработанное покрытие способствует адгезии и пролиферации мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека на внешней поверхности и эндотелиальных клеток пупочной вены человека линии EA.hy926 на внутренней поверхности композитных пористых трубчатых биополимерных каркасов в условиях *in vitro*. **Заключение.** Полученные результаты позволяют прийти к заключению о возможности использования разработанного покрытия для формирования *in vivo* тканеинженерной конструкции кровеносных сосудов малого диаметра.

Ключевые слова: гепарин, лизат тромбоцитов, биополимерный матрикс, желатин, поли(3-гидроксибутират-со-3-гидроксивалерат), электроспиннинг, сосуды малого диаметра, биологическая безопасность.

BIOACTIVE COATING FOR TISSUE-ENGINEERED SMALL-DIAMETER VASCULAR GRAFTS

V.A. Surguchenko¹, E.A. Nemets¹, V.Yu. Belov^{1, 2}, V.I. Sevastianov¹

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

² Institute of Biomedical Research and Technology, Moscow, Russian Federation

Objective: to develop a method for modifying composite small-diameter porous tubular biopolymer scaffolds based on bacterial copolymer poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) and gelatin modified with a double-layered

Для корреспонденции: Сургученко Валентина Александровна. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (499) 196-26-61. E-mail: valent.egorova@gmail.com

Corresponding author: Valentina Surguchenko. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (499) 196-26-61. E-mail: valent.egorova@gmail.com

bioactive coating based on heparin (Hp) and platelet lysate (PL) that promote adhesion and proliferation of cell cultures. **Materials and methods.** Composite porous tubular biopolymer scaffolds with 4 mm internal diameter were made by electrospinning from a 1 : 2 (by volume) mixture of a 10% solution of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) copolymer, commonly known as PHBV, and a 10% solution of gelatin, respectively, in hexafluoro-2-propanol. The structure of the scaffolds was stabilized with glutaraldehyde vapor. The scaffolds were modified with a bioactive Hp + PL-based coating. The surface morphology of the samples was analyzed using scanning electron microscopy. Biological safety of the modified scaffolds *in vitro* (hemolysis, cytotoxicity) was evaluated based on the GOST ISO 10993 standard. Interaction with cultures of human endothelial cell line (EA.hy926) and human adipose-derived mesenchymal stem cells (hADMSCs) was studied using vital dyes. **Results.** We developed a method for modifying small-diameter composite porous tubular biopolymer scaffolds obtained by electrospinning from a mixture of PHBV and gelatin modified with double-layered bioactive coating based on covalently immobilized Hp and human PL. The modified scaffold was shown to have no cytotoxicity and hemolytic activity *in vitro*. It was also demonstrated that the developed coating promotes hADMSC adhesion and proliferation on the external surface and EA.hy926 on the internal surface of the composite porous tubular biopolymer scaffolds *in vitro*. **Conclusion.** The developed coating can be used for the formation of *in vivo* tissue-engineered small-diameter vascular grafts.

Keywords: heparin, platelet lysate, biopolymer matrix, gelatin, poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate), electrospinning, small-diameter vascular grafts, biological safety.

ВВЕДЕНИЕ

Минимизация процессов тромбоза и гиперплазии интимы является одной из ключевых задач для успешной разработки и применения протезов кровеносных сосудов малого диаметра (ПКС МД) [1–3]. Эндотелизация считается наиболее предпочтительным вариантом оптимизации внутренней поверхности сосудистых протезов [4–6]. Монослой функционально активного эндотелия, аналогичный присутствующему в нативных кровеносных сосудах, обуславливает повышение тромборезистентности и долгосрочную проходимость протеза за счет свойств эндотелиальных клеток синтезировать широкий спектр биологически активных факторов, препятствующих агрегации тромбоцитов, регулирующих избыточную пролиферацию, миграцию и сократительную активность гладкомышечных клеток, гомеостаз и воспаление [7–9].

С целью повышения специфичности взаимодействия с клетками эндотелия (ЭК), клетками-предшественниками эндотелия (эндотелиальными прогениторными клетками, ЭПК) и другими типами клеток, ответственных за регенерацию кровеносных сосудов, а также для достижения быстрой эндотелизации используют различные подходы к модифицированию поверхности ПКС МД [10–15]. Широко применяемым способом модифицирования является использование покрытий на основе белков внеклеточного матрикса, таких как коллаген, его частично гидролизованная форма – желатин, эластин, фибронектин [12, 14, 16], или иммобилизация на поверхности пептидов, имитирующих сайты адгезии. Наиболее известным из семейства подобного рода синтезированных соединений является RGD-пептид (Arg-Gly-Asp), повторяющий адгезивный фрагмент молекулы фибронектина [8, 17, 18]. Инкорпорирование в структуру ПКС МД биологически активных

соединений (БАС), таких как антитела или факторы роста, может способствовать привлечению ЭПК и зрелых ЭК *in situ*. CD34 и рецептор фактора роста сосудистого эндотелия 2 (vascular endothelial growth factor receptor 2, VEGFR-2, CD309), присутствуют на поверхности циркулирующих ЭПК. Антитела к CD31 и VEGFR-2 используют для связывания ЭК [11, 18]. Было обнаружено, что факторы, такие как стромальный фактор 1 (stromalcell-derived factor-1, SDF-1) и гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (granulocyte colony-stimulating actor, G-CSF), усиливают мобилизацию ЭПК из костного мозга [11, 18–21]. Основной фактор роста фибробластов (basic fibroblast growth factor, bFGF) способен стимулировать покоящиеся ЭК, вызывая их пролиферацию и организацию в трубчатые структуры [11, 22].

Наиболее часто для повышения эффективности эндотелизации используют фактор роста эндотелия (vascular endothelial growth factor, VEGF) – высокоспецифичный к ЭК и ЭПК цитокин, активирующий и поддерживающий их миграцию и пролиферацию [22–24]. Одним из существенных недостатков применения факторов роста, в частности VEGF, является быстрая потеря биологической активности и высокая стоимость [22]. Показано, что иммобилизация факторов роста, таких как bFGF, TGF- β 2 (трансформирующий фактор роста β 2, transforming growth factor beta 2) или VEGF через гепарин-связывающий домен, повышает устойчивость к денатурации и ферментативному расщеплению в физиологических условиях, продлевая их биологическую активность [18, 25].

Гепарин (ГП) – гликозаминогликан с хорошо изученными и охарактеризованными антикоагулянтными свойствами, также часто применяется для функционализации биоматериалов и матриксов, предназначенных для контакта с кровью, с целью повышения их тромборезистентности [26]. ГП также

играет важную роль в адгезии и гомеостазе эндотелиальных клеток, улучшает прикрепление к матриксу, обеспечивая трофическую и дифференцировочную клеточную сигнализацию, ингибируя при этом пролиферативную активность гладкомышечных клеток [1]. Совместная иммобилизация гепарина и ангиогенных факторов роста может одновременно подавлять тромбоз и стимулировать эндотелизацию [2]. В то же время перспективным, доступным и недорогим источником факторов роста (bFGF, TGF- β 2, VEGF) может служить лизат тромбоцитов (ЛТ), получаемый из плазмы крови, обогащенной тромбоцитами (ПОТ) [27–30]. ЛТ может стать альтернативой широко используемым рекомбинантным факторам роста, которые ведут к значительному повышению стоимости получаемых изделий, а также могут провоцировать иммуногенные реакции [29].

Ранее нами были разработаны композитные пористые трубчатые биополимерные каркасы малого диаметра на основе бактериального сополимера поли(3-гидроксibuтирата-со-3-гидроксивалерата) (ПГБВ) и желатина с регулируемой скоростью резорбции, обладающие необходимым комплексом физико-механических свойств, характерных для нативных кровеносных сосудов малого диаметра [31]. Однако стабилизация структуры каркаса парами глутарового альдегида приводила к повышению цитотоксичности. Учитывая как свойства ГП, так и богатый набор факторов роста, в т. ч. VEGF и bFGF, содержащийся в ЛТ, нами сделано предположение, что биофункционализация поверхности разработанных нами ранее трубчатых каркасов путем иммобилизации ГП в сочетании с биологически активным покрытием на основе ЛТ может способствовать устранению цитотоксичности, а также приданию каркасу как высокой гемосовместимости, в том числе тромборезистентности, так и специфической аффинности к адгезии эндотелиальных клеток.

Целью данной работы являлась разработка способа модифицирования композитных пористых трубчатых биополимерных каркасов малого диаметра на основе бактериального сополимера поли(3-гидроксibuтирата-со-3-гидроксивалерата) и желатина двухслойным биологически-активным покрытием на основе гепарина и лизата тромбоцитов, способствующим процессу эндотелизации поверхности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изготовление композитных пористых трубчатых биополимерных каркасов

Композитные пористые трубчатые биополимерные каркасы (КПТБ-каркасы) с внутренним диаметром 4 мм изготавливали методом электроспиннинга из смеси 1 : 2 (по объему) 10% раствора сополимера поли(3-гидроксibuтирата-со-3-гидроксивалерата) (ПГБВ, Sigma-Aldrich, США) и 10% раствора же-

латина кислой обработки (Gelatin from porcine skin Type A, Sigma-Aldrich, США) соответственно в 1,1,1,3,3,3-гексафтор-2-пропаноле (ГФИП, «P&M-Invest», Россия), на установке для электроспиннинга NANON-01A («МЕСС СО», Япония) при напряжении между электродами 25 кВ, скорости подачи раствора 2 мл/ч, расстоянии до коллектора 100 мм, скорости вращения стержня-подложки 1000 об/мин, с использованием иглы 27G. После окончания процесса нанесения раствора образцы каркасов сушили в термостате при температуре 37 °С в течение 2 ч с последующим вакуумированием при остаточном давлении 10–20 мм рт. ст. и температуре 37 °С в течение 24 ч.

Стабилизация структуры КПТБ-каркасов

Структуру КПТБ-каркасов стабилизировали парами глутарового альдегида (ГА) в замкнутой емкости без прямого контакта образцов с 25% раствором ГА при комнатной температуре в течение 48 ч. После окончания процесса фиксации образцы тщательно промывали в трех сменах дистиллированной воды и высушивали в течение 24 ч при комнатной температуре.

Нанесение биологически активного покрытия

Иммобилизацию гепарина (ГП) (Sigma-Aldrich, США) осуществляли инкубацией образцов КПТБ-каркасов в водном растворе антикоагулянта с концентрацией 1 мг/мл (150–200 ед/мл) в течение 2 ч при комнатной температуре, в результате чего происходило ковалентное связывание аминокрупп ГП с непрореагировавшими альдегидными группами ГА. Несвязанный ГП удаляли трехкратной отмыжкой в дистиллированной воде. Полученные гепаринизированные каркасы подвергали стерилизации гамма-излучением в дозе 1,5 МРад.

Необходимый объем раствора лизата тромбоцитов человека (ЛТч, Ренам, Россия) получали разведением сухого (лиофилизованного) ЛТч в соотношении 1 : 9 раствором Хенкса, не содержащим ионы Ca^{2+} и Mg^{2+} (HBSS, Gibco® by Life Technologies™, СК). Стерилизацию раствора лизата осуществляли фильтрованием через мембранный фильтр с диаметром пор 0,22 мкм. Стерильные гепаринизированные образцы обрабатывали раствором ЛТч в асептических условиях в течение 1 ч при 37 °С непосредственно перед экспериментом. Связывание положительно заряженных факторов роста, содержащихся в ЛТч, с отрицательно заряженным ГП носит полиионный характер.

Морфология поверхности КПТБ-каркасов

Структуру поверхности модифицированных образцов КПТБ-каркасов анализировали на сканирующей

щем электронном микроскопе (СЭМ) JSM-6360LA («JEOL», Япония) при ускоряющем напряжении 5 кВ и увеличении $\times 100$ –1000. Для создания проводящего покрытия напыляли золото.

Культуры клеток

Культуры фибробластов мышцы линии NIH/3T3 (ATCC®CRL-1658™) и эндотелиальных клеток пупочной вены человека (ЭКч) линии EA.hy926 (The human umbilical vein cell line EA.hy926, ATCC®CRL-2922™) из коллекции ATCC (American Type Culture Collection) перед использованием хранили в жидком азоте при температуре -196 °С. После разморозки фибробласты NIH/3T3 и ЭКч EA.hy926 высевали в стандартные культуральные флаконы площадью 25 или 75 см² (CELLSTAR® Greiner Bio-One, Германия) и культивировали в соответствующей полной ростовой среде (ПРС) DMEM с высоким содержанием глюкозы (4,5 г/л, DMEM high glucose с HEPES, «ПанЭко», Россия) с добавлением 10% телячьей сыворотки (ТС, Biosera, Германия) или эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС, HyClone, США), антибиотика и антимикотика Anti-Anti (Gibco® by Life Technologies™, СК) и 2 мМ аланил-глутамин («ПанЭко», Россия) в CO₂-инкубаторе при стандартных условиях: 37 °С, во влажной атмосфере, содержащей $(5 \pm 1)\%$ CO₂. Перед экспериментом клетки удаляли с поверхности культурального пластика с помощью диссоциирующего реагента TrypLE™ Express Enzyme (Gibco® by Life Technologies™, СК) и готовили суспензию с необходимой концентрацией клеток.

Культура мезенхимальных стромальных клеток, изолированных из жировой ткани человека (МСК ЖТч), была получена в отделе биомедицинских технологий и тканевой инженерии ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России по ранее разработанной методике [32]. Перед использованием МСК ЖТч хранили в жидком азоте при температуре -196 °С. После разморозки МСК ЖТч высевали в стандартные культуральные флаконы площадью 75 см² (CELLSTAR® Greiner Bio-One, Германия) и культивировали в полной ростовой среде (ПРС) DMEM/F12 («ПанЭко», Россия) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС, HyClone, США), 10 мкг/мл основного фактора роста фибробластов человека (FGF-2, Peprotech, AF-100-18B, США), антибиотика и антимикотика Anti-Anti (Gibco® by Life Technologies™, СК), 1 мМ HEPES (Gibco® by Life Technologies™, СК) и 2 мМ аланил-глутамин («ПанЭко», Россия) в CO₂-инкубаторе при стандартных условиях: 37 °С, во влажной атмосфере, содержащей $(5 \pm 1)\%$ CO₂. Перед экспериментом клетки удаляли с поверхности культурального пластика с помощью диссоциирующего реагента TrypLE™ Express Enzyme (Gibco® by Life Technologies™, СК) и готовили суспензию с необходимой концентрацией

клеток. В экспериментах использовали клетки V–VI пассажей. Разными авторами показано, что МСК ЖТ используют как самостоятельный клеточный компонент при разработке тканеинженерных сосудистых протезов малого диаметра [33, 34], также МСК ЖТ поддерживают жизнеспособность ЭК и способствуют васкуляризации тканеинженерных конструкций сосудов малого диаметра *in vivo* [35], что явилось обоснованием применения данной культуры клеток в нашей работе.

Исходное количество клеток в суспензии определяли на автоматическом счетчике клеток (TC20™ Automated Cell Counter, BIORAD, Сингапур) с одновременным анализом жизнеспособности по исключению красителя трипанового синего (BIORAD, # 145-0013, Сингапур).

Гемолиз

Исследование гемолитического действия модифицированных КПТБ-каркасов проводили на экстрактах из образцов с использованием эритроцитарной массы крови кроликов согласно межгосударственному стандарту ГОСТ ISO 10993-4-2011 [36]. Экстракты готовили в соответствии с рекомендациями ГОСТ ISO 10993-1-2011 [37]. В качестве экстрактанта (модельной среды) использовали 0,9% раствор натрия хлорида, время экстракции составляло 72 ч при 37 °С. Отрицательным контрольным образцом служил 0,9% раствор натрия хлорида, положительным контрольным образцом, вызывающим 100% гемолиз – дистиллированная вода. Для оценки гемолитического действия одного образца использовали кровь от трех кроликов.

Кровь, содержащую 3,8% цитрата натрия (в соотношении 1 : 9), полученную от кроликов породы шиншилла с соблюдением биоэтических принципов обращения с животными, утвержденных Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (2005 г.), и в соответствии с Правилами лабораторной практики, утвержденными приказом Минздрава России № 708 от 23.08.2010 г. об экспериментальных животных, центрифугировали при 900 об/мин в течение 10 мин для получения эритроцитарной массы. 10% взвесь эритроцитов, полученную разведением трехкратно отмытой эритроцитарной массы (1 : 9 0,9% раствором хлорида натрия), добавляли к исследуемым экстрактам из образцов модифицированных КПТБ-каркасов, а также к отрицательному контрольному образцу и положительному контрольному образцу и инкубировали в течение 1 ч при температуре (37 ± 2) °С, после чего центрифугировали в течение 20 мин при 2000 об/мин. Надосадочную жидкость отделяли и проводили измерение оптической плотности с помощью спектрофотометра Stat Fax 4500 (Awareness

Technology, США) на длине волны 540 нм. Процент гемолиза вычисляли по формуле:

$$\frac{E_{\text{оп}} - E_{\text{к}}}{E_{100}} \times 100, \quad (1)$$

где $E_{\text{оп}}$ – оптическая плотность исследуемого образца; $E_{\text{к}}$ – оптическая плотность отрицательного контрольного образца; E_{100} – оптическая плотность образца со 100% гемолизом.

Величина гемолиза во всех образцах крови должна составлять менее 2%.

ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ

Цитотоксичность фрагментов модифицированных КПТБ-каркасов в условиях *in vitro* оценивали согласно межгосударственному стандарту ГОСТ ISO 10993-5-2011 на культуре фибробластов мыши линии NIH/3T3 методом прямого контакта [38]. Отрицательным контрольным образцом служила поверхность культурального пластика (КП, CELLSTAR® Greiner Bio-One, Германия), положительным контрольным образцом – стандарт цинка одноэлементный водный 10 мг/мл (Sigma-Aldrich, США). Все процедуры проводили в асептических условиях.

Для исследования цитотоксического эффекта фибробласты высевали в культуральные 24-луночные плоскодонные планшеты (CELLSTAR® Greiner Bio-One, Германия) в концентрации $7-12 \times 10^4$ клеток на лунку и инкубировали в течение 24 ч при 37 °С во влажной атмосфере, содержащей $(5 \pm 1)\%$ CO₂, до образования $(80 \pm 10)\%$ монослоя, после чего исследуемые фрагменты матриц помещали непосредственно на поверхность монослоя фибробластов. Визуально культуру оценивали с помощью бинокулярного флуоресцентного инвертированного микроскопа Nikon Eclipse TS100 (Япония).

Метаболическую активность фибробластов после контакта с фрагментами матриц оценивали через 24 ч с помощью реагента PrestoBlue™ HS Cell Viability Reagent (Invitrogen™ by Thermo Fisher Scientific, США) согласно протоколу, рекомендуемому производителем. В лунки, содержащие исследуемые образцы, отрицательный контрольный и положительный контрольный образцы, добавляли 10% витального реагента PrestoBlue™, после чего планшет инкубировали в течение 3 ч при 37 °С во влажной атмосфере, содержащей $(5 \pm 1)\%$ CO₂. PrestoBlue™ – витальный краситель, в состав которого входит индикатор окислительно-восстановительных процессов резазурин. Жизнеспособные пролиферирующие клетки восстанавливают резазурин при участии митохондриальных дегидрогеназ, цитохромов и дегидрогеназ, находящихся в цитоплазме клетки, до резозурина [39], вследствие чего происходит изменение цвета реагента с индиго на розовый. Изменение поглощения среды регистрировали

Таблица 1

Степень ответной реакции клеток

Cell response rate

Шкала цитотоксичности	Интерпретация результата
0	Не цитотоксично
1	Легкая цитотоксичность
2	Средняя цитотоксичность
3	Значительная цитотоксичность

с использованием ридера для микропланшетов Spark 10M (Tecan, Австрия) с программным обеспечением Spark Control™ Magellan V1.2.20 на длинах волн 570 и 600 нм. Процент восстановленного PrestoBlue™ характеризует метаболическую активность клеток. Относительная разница в процентах между метаболической активностью клеток в отрицательном контрольном образце и после контакта с исследуемыми образцами характеризует цитотоксичность исследуемого образца и вычисляется по формуле:

$$\frac{117,216 \times A_{570 \text{ Обр.}} - 80,586 \times A_{600 \text{ Обр.}}}{117,216 \times A_{570}^0 - 80,586 \times A_{600}^0} \times 100\%, \quad (2)$$

где 117,216 и 80,586 – значения молярных коэффициентов экстинкции для окисленной формы витального реагента PrestoBlue™ на длинах волн 600 и 570 нм соответственно; $A_{570 \text{ Обр.}}$ и $A_{600 \text{ Обр.}}$ – поглощение исследуемого образца на длинах волн 570 и 600 нм соответственно; A_{570}^0 и A_{600}^0 – поглощение отрицательного контрольного образца на длинах волн 570 и 600 нм соответственно.

Анализ результатов проводили с помощью оценочной шкалы степени ответной реакции клеток после непосредственного контакта с образцами согласно ГОСТ ISO 10993-5-2011 (табл. 1).

Отрицательный контрольный образец должен соответствовать степени реакции 0 (отсутствие цитотоксичности), положительный контрольный образец – 3 (значительная цитотоксичность, практически полностью разрушенный монослой). Степень ответной реакции исследуемого образца должна соответствовать степени реакции 0.

Культивирование ЭКч линии EA.hy926 и МСК ЖТч на поверхности КПТБ-каркасов

Исследуемые стерильные образцы модифицированных КПТБ-каркасов предварительно разрезали вдоль, расправляли, помещали на дно культурального плоскодонного 24-луночного планшета (CELLSTAR® Greiner Bio-One, Германия) соответствующей стороной (внутренней или внешней) и фиксировали стерильными силиконовыми кольцами. ЭКч линии EA.hy926 и МСК ЖТч засевали в асептических условиях на внутреннюю и внешнюю стороны образцов соответственно. Исходная плотность посева на

исследуемые образцы и КП составляла 4×10^4 кл/см² для культуры ЭКч линии EA.hy926 и 3×10^4 кл/см² для культуры МСК ЖТч. Поскольку исследуемые образцы получены методом электроспиннинга и являются трехмерными, использовать двухмерную поверхность КП в качестве контрольного образца было бы некорректно. В данных экспериментах поверхность КП использовали для контроля морфологии и адекватного роста исследуемых культур клеток. После посева 24-луночные планшеты с образцами культивировали в CO₂-инкубаторе при стандартных условиях в течение 24 и 96 ч или 24, 96 и 168 ч, после чего проводили соответствующие исследования.

Оценка жизнеспособности

Для оценки жизнеспособности и визуализации количества ЭКч линии EA.hy926 и МСК ЖТч на поверхности модифицированных КПТБ-каркасов использовали набор Live/Dead® Viability/Cytotoxicity Kit (Molecular Probes® by Life Technologies™, США) согласно протоколу, рекомендуемому производителем. Метод заключается в двойном флуоресцентном окрашивании, с одновременным определением живых и мертвых клеток посредством связывания красителей: бромистого этидия (ethidium bromide homodimer, EthD-1) и ацетоксиметил кальцеина (calcein acetoxymethyl, calcein AM). EthD-1 является маркером мертвых клеток, проникая через поврежденную плазматическую мембрану и связываясь с нуклеиновыми кислотами, дает ярко-красное флуоресцентное свечение (возб./эмиссия ~495 нм/~635 нм). Calcein AM, проникая в жизнеспособные клетки, подвергается воздействию внутриклеточных эстераз, превращаясь в кальцеин, дающий ярко-зеленое однородное флуоресцентное свечение (возб./эмиссия ~495 нм/~515 нм). В исследуемые лунки добавляли раствор фосфатного буфера Дюльбекко, содержащего 2 мкМ calcein AM и 4 мкМ EthD-1, через 15 мин результаты окрашивания визуализировали с помощью бинокулярного инвертированного флуоресцентного микроскопа Nikon Eclipse TS100 (Япония), оснащенного цифровой фотокамерой Digital Sight DS-Vil (Nikon, Япония). Фотографирование исследуемых и контрольных образцов в процессе культивирования ЭКч линии EA.hy926 и МСК ЖТч проводили через 24 и 96 ч после посева.

Оценка метаболической активности и количества клеток

Метаболическую активность ЭКч линии EA.hy926 и МСК ЖТч на поверхности образцов матриц оценивали через 24, 96 и 168 ч с помощью реагента PrestoBlue™ HS Cell Viability Reagent (Invitrogen™ by Thermo Fisher Scientific, США), согласно протоколу, рекомендуемому производителем. В лунки,

содержащие исследуемые образцы и бесклеточный контрольный образец (ПРС, не содержащая клеток), добавляли 10% витального реагента PrestoBlue™, после чего планшет инкубировали в течение 3 ч при 37 °С во влажной атмосфере, содержащей $(5 \pm 1)\%$ CO₂. Изменение поглощения среды регистрировали с использованием ридера для микропланшетов, как было описано ранее, на длинах волн 570 и 600 нм. Процент восстановленного PrestoBlue™ характеризует метаболическую активность клеток и вычисляется по формуле:

$$\frac{117,216 \times A_{570 \text{ Обр.}} - 80,586 \times A_{600 \text{ Обр.}}}{155,677 \times A_{600} - 14,652 \times A_{570}} \times 100\%, (3)$$

где 117,216 и 80,586 – значения молярных коэффициентов экстинкции для окисленной формы витального реагента PrestoBlue™ на длинах волн 600 и 570 нм соответственно; 155,677 и 14,652 – значения молярных коэффициентов экстинкции для восстановленной формы витального реагента PrestoBlue™ на длинах волн 570 и 600 нм соответственно; $A_{570 \text{ Обр.}}$ и $A_{600 \text{ Обр.}}$ – поглощение исследуемого образца на длинах волн 570 и 600 нм соответственно; A'_{570} и A'_{600} – поглощение бесклеточного контрольного образца на длинах волн 570 и 600 нм соответственно.

Количество ЭКч линии EA.hy926 и МСК ЖТч на поверхности образцов каркасов оценивали с помощью калибровочных кривых, линейных в полулогарифмических координатах до концентрации клеток $0,8 \times 10^5$ в случае ЭКч линии EA.hy926 и 1×10^5 в случае МСК ЖТч (VI пассаж). Для построения калибровочной кривой выбранный тип клеток высевали в плоскодонные 24-луночные культуральные планшеты (CELLSTAR® Greiner Bio-One, Германия) с плотностью посева $1-20 \times 10^4$ кл/см². Через 24 ч в лунки, содержащие необходимое количество клеток и бесклеточный контрольный образец, добавляли витальный реагент PrestoBlue™, инкубировали планшет в течение 3 ч при 37 °С во влажной атмосфере, содержащей $(5 \pm 1)\%$ CO₂ и регистрировали изменение поглощения среды. Процент восстановленного PrestoBlue™, определенный по формуле (3), наносили на график по оси Y, по оси X откладывали соответствующее количество клеток.

Статистическая обработка

Количественную и статистическую обработку полученных данных проводили с помощью приложения Microsoft Excel 2007. Все результаты представлены в виде среднего значения \pm стандартное отклонение. Различия считали достоверными при $p < 0,05$ при количестве образцов (n) от 3 до 5.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 представлена структура КПТБ-каркаса. Поперечный срез (рис. 1, а) демонстрирует выражен-

ную высокопористую структуру. Толщина стенки составляет ~500 мкм. Внутренний и внешний слой каркаса (см. рис. 2, б, в) имеют сходную организованную из не упорядоченно расположенных волокон толщиной преимущественно от 0,8 до 2,0 мкм, размер пор – 10–25 мкм.

Данные проведенного исследования гемолитической активности позволяют сделать вывод, что испытанные образцы модифицированных биоактивным покрытием на основе ГП и ЛТч КПТБ-каркасов не

оказывают гемолитического действия (процент гемолиза 0,07%) и соответствуют допустимым значениям (процент гемолиза менее 2%), удовлетворяющим требованиям, предъявляемым к медицинским изделиям согласно ГОСТ ISO 10993-4-2011.

В табл. 2 представлены значения, характеризующие метаболическую активность фибробластов линии NIH/3T3 после прямого контакта с образцами модифицированного КПТБ-каркаса относительно отрицательного (не цитотоксичного)

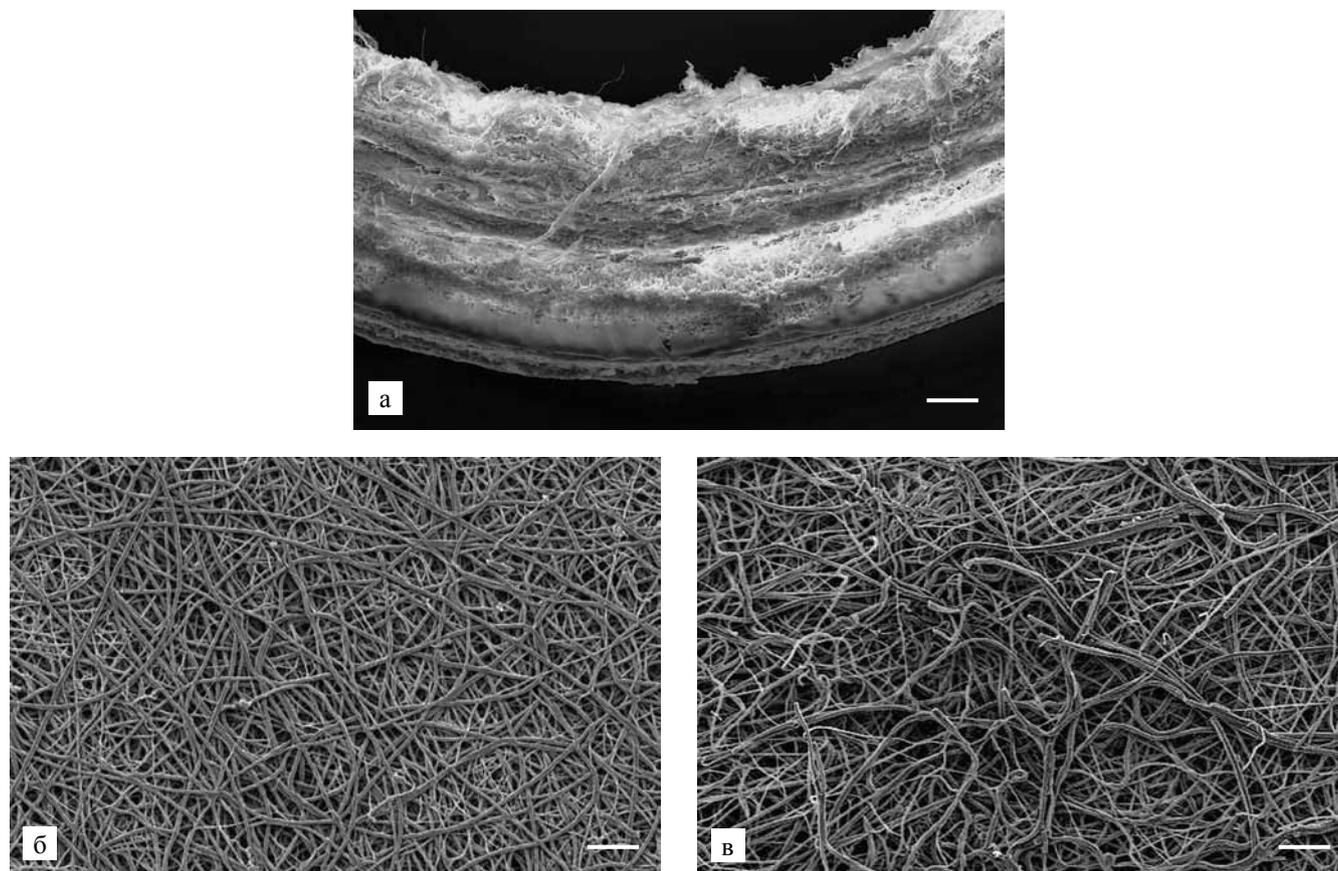


Рис. 1. Структура КПТБ-каркаса с двухслойным покрытием, $d = 4$ мм: а – поперечный срез ($\times 100$. Бар 100 мкм); б – внутренняя поверхность ($\times 1000$. Бар 10 мкм); в – внешняя поверхность ($\times 1000$. Бар 10 мкм)

Fig. 1. The structure of composite porous tubular biopolymer (CPTB) scaffold modified with double-layered coating, $d = 4$ mm: а – cross section (Magnification $\times 100$. Bar 100 μm); б – inner surface (Magnification $\times 1000$. Bar 10 μm); в – outer surface (Magnification $\times 1000$. Bar 10 μm)

Таблица 2

Процент жизнеспособных фибробластов линии NIH/3T3 относительно отрицательного контрольного образца после контакта с модифицированными образцами КПТБ-каркасов
Percentage of viable NIH/3T3 fibroblast cell line relative to a negative control sample after contact with the modified samples of CPTB scaffolds

Образец	% жизнеспособных клеток относительно отрицательного контрольного образца	Степень ответной реакции клеток
Модифицированный (ГП)	$95,55 \pm 2,06$	0
Модифицированный (двухслойное биоактивное покрытие ГП + ЛТч)	$97,83 \pm 1,67$	0
Положительный контрольный образец	$9,87 \pm 0,73$	3

контрольного образца (КП). Образец не оказывает цитотоксического действия, если метаболическая активность фибробластов относительно отрицательно-го контрольного образца остается выше 90%. После

контакта клеток с образцами, модифицированными ГП или ГП с ЛТч, относительная метаболическая активность фибробластов выше 90%, что свидетельствует об отсутствии цитотоксического действия.

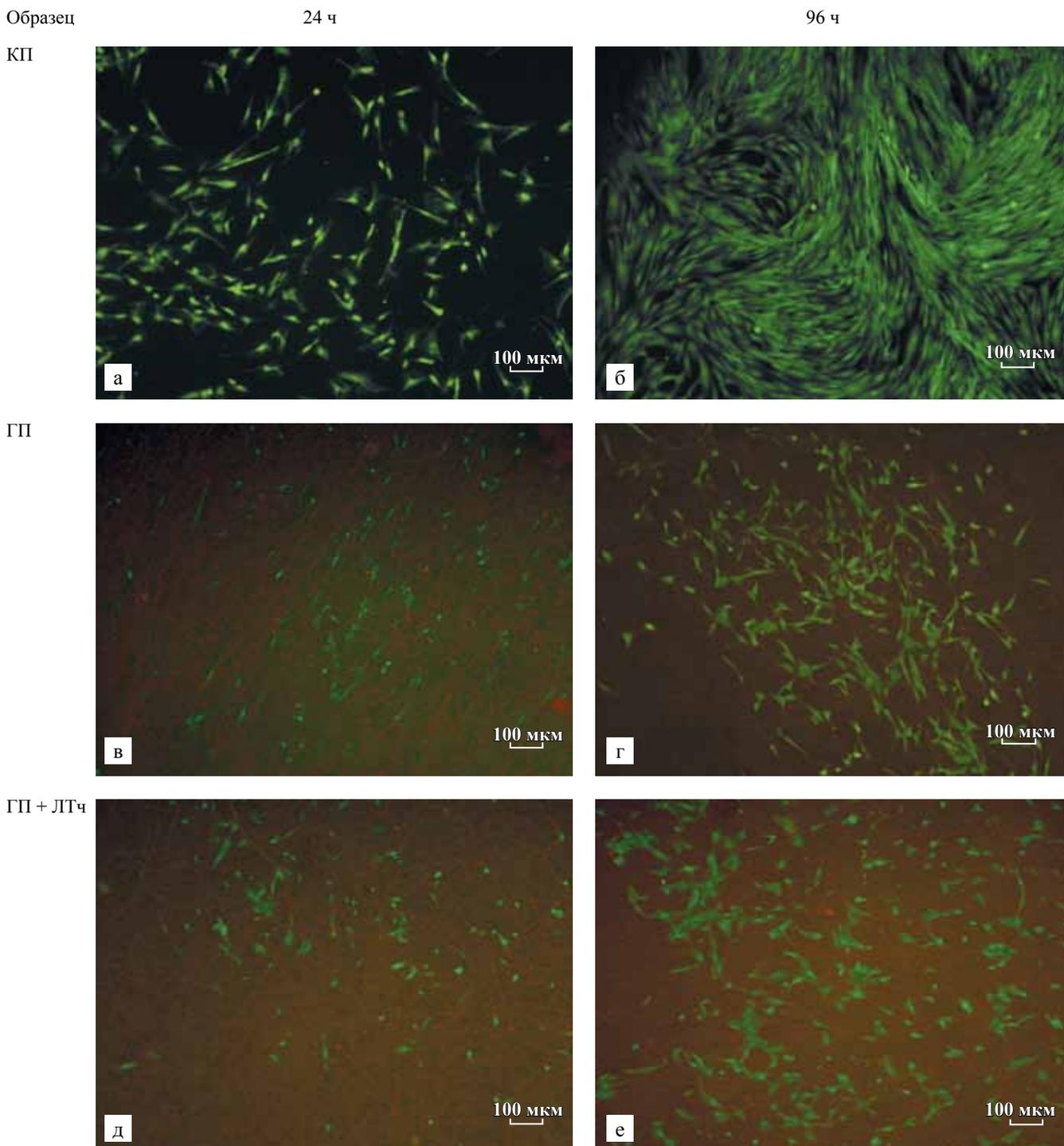


Рис. 2. Культура МСК ЖТч (VI пассаж) на внешней поверхности модифицированных КПТБ-каркасов: а, б – КП, 24 и 96 ч соответственно; в, г – каркасы с модифицирующим покрытием на основе ковалентно иммобилизованного ГП, 24 и 96 ч соответственно; д, е – каркасы с модифицирующим покрытием на основе лизата тромбоцитов человека, 24 и 96 ч соответственно. Окрашивание Live/Dead® Viability/Cytotoxicity Kit. ×10. Бар 100 мкм

Fig. 2. The culture of hADMSCs (VI passage) on the outer surface of the modified CPTB scaffolds: а, б – Cell culture polystyrene, 24 and 96 h, respectively; в, г – Scaffolds with covalently immobilized heparin coating, 24 and 96 h, respectively; д, е – Scaffolds with modifying coating on the basis of human platelet lysate, 24 and 96 h, respectively. Live/Dead® Viability/Cytotoxicity Kit. Magnification ×10. Bar 100 μm

Ранее нами было показано, что КПТБ-каркасы на основе ПГБВ и желатина, стабилизированные в парах ГА без применения дополнительной обработки, проявляют значительную цитотоксичность (степень реакции 3) [31].

На рис. 2 приведены фотографии культуры МСК ЖТч (VI пассаж) на поверхности КП и внешней поверхности модифицированных КПТБ-каркасов через 24 и 96 ч после посева.

Через 24 ч на поверхности всех модифицированных КПТБ-каркасов наблюдается сравнимое количество адгезированных и распластанных МСК ЖТч. Через 96 ч культивирования МСК ЖТч на поверхности КП формируют монослой. На исследуемых же образцах количество МСК ЖТч заметно возрастает, но не достигает монослоя, все клетки жизнеспособны и распластаны, что также подтверждает ранее полученные данные об отсутствии цитотоксичности модифицированных образцов. На рис. 3 представлены результаты исследования пролиферации МСК ЖТч на внешней поверхности модифицированных КПТБ-каркасов. Через 24 ч количество МСК ЖТч на внешней поверхности модифицированных ГП и покрытием на основе ГП и ЛТч образцов отличается незначительно ($11,8 \pm 0,6 \times 10^3$ и $15,1 \pm 1,3 \times 10^3$ кл соответственно). К концу срока культивирования, через 168 ч, количество МСК ЖТч на внешней поверхности исследуемых образцов с модифицирующим покрытием на основе ГП и ЛТч увеличивается в 3 раза ($42,5 \pm 2,8 \times 10^3$ кл), в то время как количество МСК ЖТч на внешней поверхности гепаринизированных матриц увеличивается всего в 1,3 раза ($16,5 \pm 0,7 \times 10^3$ кл). Таким образом, модифицирующее покрытие на основе лизата тромбоцитов способствует адгезии и пролиферации МСК ЖТч на внешней поверхности КПТБ-каркасов. Модифицирующее покрытие на основе одного лишь ковалентно иммобилизованного ГП относительно культуры МСК ЖТч в большей степени способствует адгезии, чем пролиферации данного типа клеток.

На рис. 4 и 5 представлены результаты исследования взаимодействия модифицированной внутренней поверхности КПТБ-каркасов с культурой эндотелиальных клеток человека линии EA.hy926 через 24 и 96 ч после посева. Через 24 ч на поверхности каркасов, модифицированных ГП с ЛТч, наблюдается большее количество адгезированных и распластанных эндотелиальных клеток по сравнению с образцами, модифицированными только ГП. Через 96 ч культивирования на образце, модифицированном только ГП, наблюдается отсутствие пролиферации и значительное количество нежизнеспособных клеток. В то же время на образцах, модифицированных двухслойным покрытием, формируется монослой жизнеспособных клеток. Заметим, что аналогичный эффект наблюдается для КП. Из рис. 5 следует, что

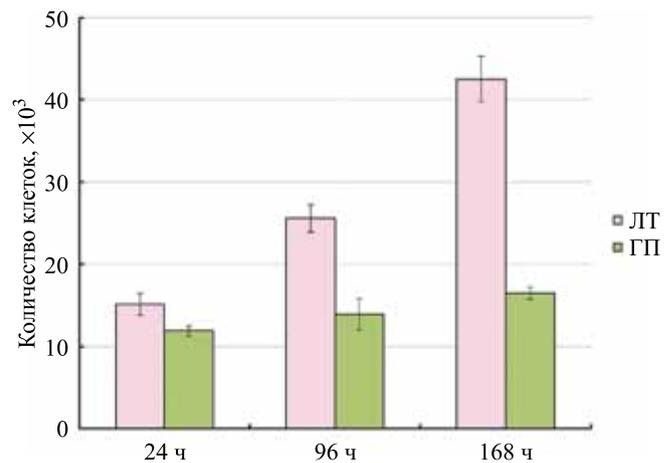


Рис. 3. Пролиферация МСК ЖТч (VI пассаж) на внешней поверхности КПТБ-каркасов, модифицированных покрытиями на основе ковалентно иммобилизованного ГП и ГП с ЛТч

Fig. 3. hADMSCs (VI passage) proliferation on the outer surface of CPTB scaffolds modified with covalently immobilized heparin and heparin with human platelet lysate coatings

модифицирующее биоактивное покрытие на основе иммобилизованного ГП и ЛТч способствует адгезии, распластыванию и стимулирует пролиферацию эндотелиальных клеток линии EA.hy926 *in vitro* на внутренней поверхности КПТБ-каркасов в силу достаточно большого содержания факторов роста, содержащихся в лизате тромбоцитов, включая VEGF: количество ЭК через 168 ч увеличивается в 2,4 раза. Полученные нами результаты косвенно подтверждаются данными литературы. S.M. Oliveira et al. было показано, что нанопокрывание на основе ЛТ активизирует эндотелиальные клетки и способствует ангиогенезу (формированию микротрубочек) в присутствии сульфированных полисахаридов в трехмерном матриксе [29].

Возможно, гепаринизация поверхности в условиях данного эксперимента не способствует эндотелизации *in vitro*. Это, на наш взгляд, связано с тем, что хотя гепарин способен связывать факторы роста, присутствующие в сывороточном компоненте среды, их концентрации явно недостаточно, чтобы поддерживать пролиферацию эндотелиальных клеток. Несмотря на то что ГП играет важную роль в адгезии и гомеостазе эндотелиальных клеток [1], R.J. Smith Jr. et al. показали, что при имплантации бесклеточных протезов кровеносных сосудов, модифицированных ГП, а также ГП + VEGF, в аорту мышей, через 4 недели имплантации образцы хоть и были полностью эндотелизированы, состав стенки протезов для образцов с разным покрытием значительно отличался [40]. В протезах, модифицированных только ГП, слой эндотелиальных и гладкомышечных клеток не были ярко выраженными и оказались сформированы

не типично для нативных сосудов, в то время как в образцах, модифицированных ГП + VEGF, присутствовали четко разделенные внутренний и средний слои, сходные по своему строению с нативными со-

судами, а также присутствовал функционирующий эндотелий. То есть модифицирования протеза одним ГП недостаточно для получения адекватно функционирующего тканеинженерного сосуда.

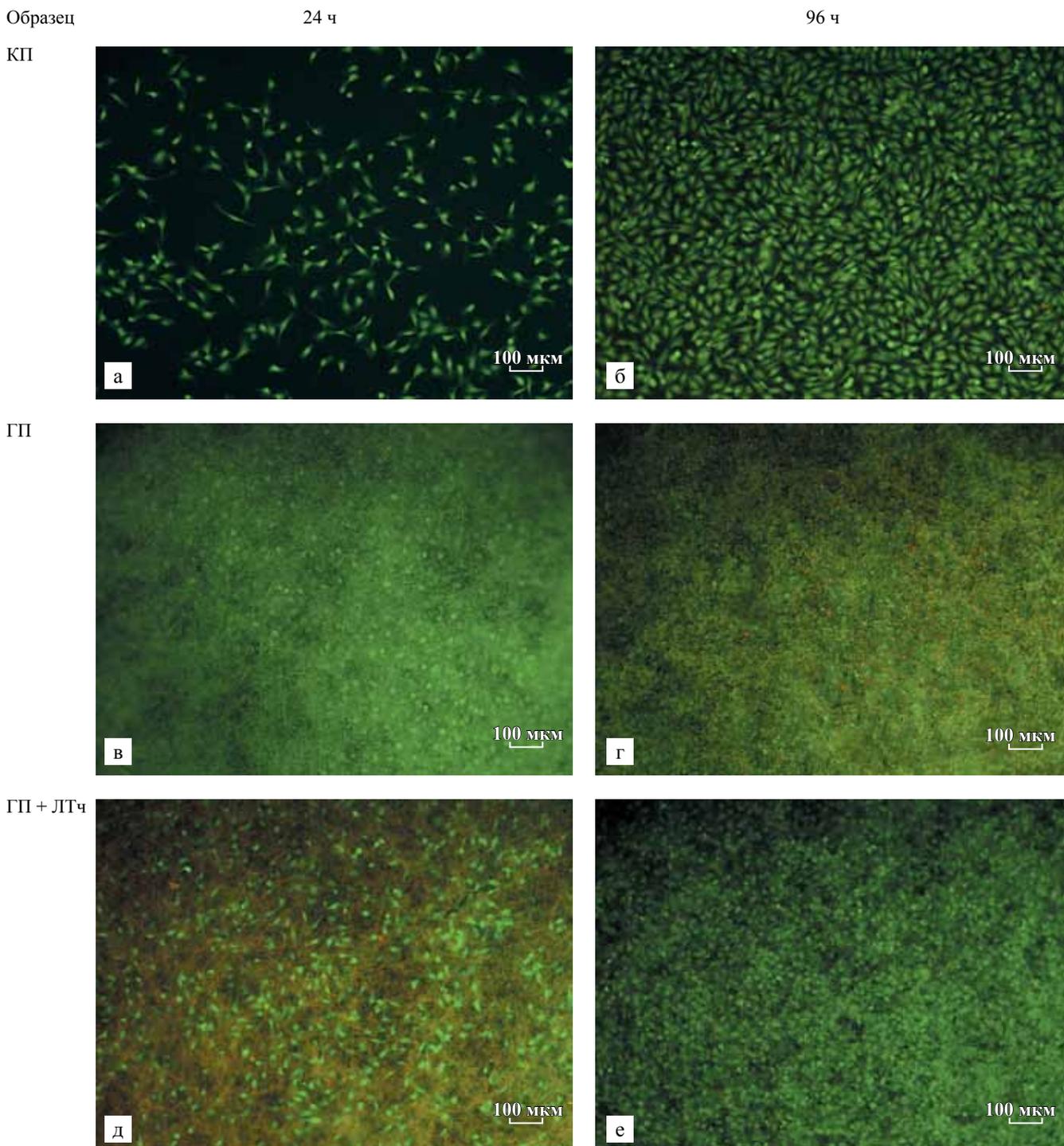


Рис. 4. Культура ЭКч линии EA.hy926 на внутренней поверхности модифицированных КПТБ-каркасов: а, б – КП, 24 и 96 ч соответственно; в, г – матриксы с модифицирующим покрытием на основе ковалентно иммобилизованного ГП, 24 и 96 ч соответственно; д, е – матриксы с модифицирующим покрытием на основе ГП и ЛТч, 24 и 96 ч соответственно. Окрашивание Live/Dead® Viability/Cytotoxicity Kit. ×10. Бар 100 мкм

Fig. 4. Culture of human EA.hy926 endothelial cells on the inner surface of the modified CPTB scaffolds: а, б – Cell culture polystyrene, 24 and 96 h, respectively; в, г – Scaffolds with covalently immobilized heparin coating, 24 and 96 h, respectively; д, е – Scaffolds with modifying coating on the basis of heparin and human platelet lysate, 24 and 96 h, respectively. Live/Dead® Viability/Cytotoxicity Kit. Magnification ×10. Bar 100 μm

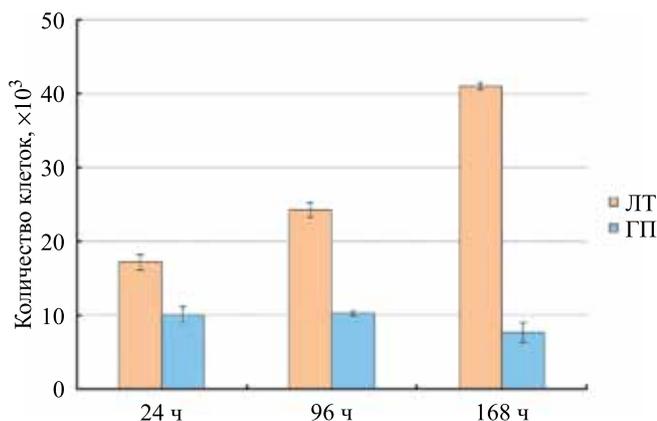


Рис. 5. Пролiferация эндотелиальных клеток линии EA.hy926 на внутренней поверхности модифицированных КПТБ-каркасов

Fig. 5. Human EA.hy926 endothelial cells proliferation on the inner surface of modified CPTB scaffolds

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, для поверхности КПТБ-каркасов малого диаметра, полученных методом электроспиннинга из смеси ПГБВ и желатина, разработан способ модифицирования двухслойным биологически-активным покрытием на основе ковалентно иммобилизованного ГП и ЛТч, компоненты которого образуют с ГП полиионные комплексы. *In vitro* доказано отсутствие цитотоксичности и гемолитической активности образцов модифицированных КПТБ-каркасов. Показано, что разработанное биологически активное покрытие способствует адгезии и пролиферации мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека на внешней поверхности КПТБ-каркасов и эндотелиальных клеток пупочной вены человека линии EA.hy926 на внутренней поверхности КПТБ-каркасов в условиях *in vitro*.

Полученные результаты позволяют прийти к заключению о возможности использования разработанного покрытия для формирования *in vivo* тканеинженерной конструкции кровеносных сосудов малого диаметра.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- Matsuzaki Y, Ulziibayar A, Shoji T, Shinoka T. Heparin-eluting tissue-engineered bioabsorbable vascular grafts. *Appl Sci*. 2021; 11: 4563–4575. <https://doi.org/10.3390/app11104563>.
- Henry JJD, Yu J, Wang A, Lee R, Fang J, Li S. Engineering the mechanical and biological properties of nanofibrous vascular grafts for *in situ* vascular tissue engineering. *Biofabrication*. 2017; 9 (3): 035007. doi: 10.1088/1758-5090/aa834b. PMID: 28817384; PMCID: PMC5847368.
- Pashneh-Tala S, MacNeil S, Claeysens F. The Tissue-Engineered Vascular Graft-Past, Present, and Future. *Tissue Eng Part B Rev*. 2016; 22 (1): 68–100. doi: 10.1089/ten.teb.2015.0100. Epub 2015 Oct 8. PMID: 26447530; PMCID: PMC4753638.
- Ren X, Feng Y, Guo J, Wang H, Li Q, Yang J et al. Surface modification and endothelialization of biomaterials as potential scaffolds for vascular tissue engineering applications. *Chem Soc Rev*. 2015; 44 (15): 5680–5742. doi: 10.1039/c4cs00483c. PMID: 26023741.
- Cai Q, Liao W, Xue F, Wang X, Zhou W, Li Y et al. Selection of different endothelialization modes and different seed cells for tissue-engineered vascular graft. *Bioact Mater*. 2021; 6 (8): 2557–2568. doi: 10.1016/j.bioactmat.2020.12.021. PMID: 33665496; PMCID: PMC7887299.
- Hasan A, Memic A, Annabi N, Hossain M, Paul A, Dokmeci MR et al. Electrospun Scaffolds for Tissue Engineering of Vascular Grafts. *Acta Biomater*. 2014; 10 (1): 11–25. doi: 10.1016/j.actbio.2013.08.022.
- Smith RJ, Nasiri B, Kann J, Yergeau D, Bard JE, Swartz DD et al. Endothelialization of arterial vascular grafts by circulating monocytes. *Nat Commun*. 2020; 11: 1622–1638. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15361-2>.
- Neufurth M, Wang X, Tolba E, Dorweiler B, Schröder HC, Link T et al. Modular Small Diameter Vascular Grafts with Bioactive Functionalities. *PLoS One*. 2015; 10 (7): e0133632. doi: 10.1371/journal.pone.0133632. PMID: 26204529; PMCID: PMC4512703.
- Matsuzaki Y, John K, Shoji T, Shinoka T. The evolution of tissue engineered vascular graft technologies: from preclinical trials to advancing patient care. *Appl Sci (Basel)*. 2019; 9 (7): 1274–1295. doi: 10.3390/app9071274.
- Ardila DC, Liou JJ, Maestas D, Slepian MJ, Badowski M, Wagner WR et al. Surface Modification of Electrospun Scaffolds for Endothelialization of Tissue-Engineered Vascular Grafts Using Human Cord Blood-Derived Endothelial Cells. *J Clin Med*. 2019; 8 (2): 185. doi: 10.3390/jcm8020185. PMID: 30720769; PMCID: PMC6416564.
- Melchiorri AJ, Hibino N, Fisher JP. Strategies and techniques to enhance the *in situ* endothelialization of small-diameter biodegradable polymeric vascular grafts. *Tissue Eng Part B Rev*. 2013; 19 (4): 292–307. doi: 10.1089/ten.TEB.2012.0577. PMID: 23252992; PMCID: PMC3690089.
- Chen FM, Liu X. Advancing biomaterials of human origin for tissue engineering. *Prog Polym Sci*. 2016 Feb 1; 53: 86–168. doi: 10.1016/j.progpolymsci.2015.02.004. PMID: 27022202; PMCID: PMC4808059.
- Mota C, Puppi D, Chiellini F, Chiellini E. Additive manufacturing techniques for the production of tissue engineering constructs. *J Tissue Eng Regen Med*. 2015; 9 (3): 174–190. doi: 10.1002/term.1635. PMID: 23172792.
- Schmedlen RH, Elnjeirami WM, Gobin AS, West JL. Tissue engineered vascular grafts. *Tissue engineering: principles and practices*. ed. by JP Fisher, AG Mikos,

- JD Bronzino, DR Peterson. 1st ed. USA: CRC Press Taylor & Francis Group; 2013: 1–9.
15. Mallis P, Kostakis A, Stavropoulos-Giokas C, Michalopoulos E. Future Perspectives in Small-Diameter Vascular Graft Engineering. *Bioengineering*. 2020; 7 (4): 160–200. <https://doi.org/10.3390/bioengineering7040160>.
 16. Han F, Jia X, Dai D, Yang X, Zhao J, Zhao Y et al. Performance of a multilayered small-diameter vascular scaffold dual-loaded with VEGF and PDGF. *Biomaterials*. 2013; 34 (30): 7302–7313. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.06.006. PMID: 23830580.
 17. Kuwabara F, Narita Y, Yamawaki-Ogata A, Kanie K, Kato R, Satake M et al. Novel small-caliber vascular grafts with trimeric peptide for acceleration of endothelialization. *Ann Thorac Surg*. 2012; 93 (1): 156–163; doi: 10.1016/j.athoracsur.2011.07.055. PMID: 22054652.
 18. Антонова ЛВ, Сильников ВН, Ханова МЮ, Королева ЛС, Серпокрялова ИЮ, Великанова ЕА и др. Оценка адгезии, пролиферации и жизнеспособности эндотелиальных клеток пупочной вены человека, культивируемых на поверхности биodeградируемых нетканых матриц, модифицированных RGD-пептидами. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2019; 21 (1): 142–152. Antonova LV, Silnikov VN, Khanova MYu, Koroleva LS, Serpokrilova IYu, Velikanova EA et al. Adhesion, proliferation and viability of human umbilical vein endothelial cells cultured on the surface of biodegradable non-woven matrices modified with RGD peptides. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2019; 21 (1): 142–152. (In Russ.). <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2018-1-96-109>.
 19. Smith RJ, Koobatian MT, Shahini A, Swartz DD, Andreadis ST. Capture of endothelial cells under flow using immobilized vascular endothelial growth factor. *Biomaterials*. 2015 May; 51: 303–312. doi: 10.1016/j.biomaterials.2015.02.025.
 20. Wang K, Chen X, Pan Y, Cui Y, Zhou X, Kong D et al. Enhanced vascularization in hybrid PCL/gelatin fibrous scaffolds with sustained release of VEGF. *Biomed Res Int*. 2015; 2015: 865076. doi: 10.1155/2015/865076. PMID: 25883978; PMCID: PMC4390103.
 21. Lee KW, Johnson NR, Gao J, Wang Y. Human progenitor cell recruitment via SDF-1 α coacervate-laden PGS vascular grafts. *Biomaterials*. 2013; 34 (38): 9877–9885. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.08.082. PMID: 24060423; PMCID: PMC3882008.
 22. Антонова ЛВ, Севостьянова ВВ, Кутихин АГ, Великанова ЕА, Матвеева ВГ и др. Влияние способа модифицирования трубчатого полимерного матрикса биомолекулами bFGF, SDF-1 α и VEGF на процессы формирования *in vivo* тканеинженерного кровеносного сосуда малого диаметра. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2018; 20 (1): 96–109. Antonova LV, Sevostyanova VV, Kutikhin AG, Velikanova EA, Matveeva VG et al. Influence of bFGF, SDF-1 α , or VEGF incorporated into tubular polymer scaffolds on the formation of small-diameter tissue-engineered blood vessel *in vivo*. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2018; 20 (1): 96–109. (In Russ.). <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2018-1-96-109>.
 23. Wan X, Li P, Jin X, Su F, Shen J, Yuan J. Poly(ϵ -caprolactone)/keratin/heparin/VEGF biocomposite mats for vascular tissue engineering. *J Biomed Mater Res A*. 2020; 108 (2): 292–300. doi: 10.1002/jbm.a.36815. PMID: 31606923.
 24. Emechebe GA, Obiweluozor FO, Jeong IS, Park J-K, Park CH et al. Merging 3D printing with electrospun biodegradable small-caliber vascular grafts immobilized with VEGF. *Nanomedicine: NBM* 2020; 30: 102306, <https://doi.org/10.1016/j.nano.2020.102306>.
 25. Spadaccio C, Nappi F, De Marco F, Sedati P, Sutherland FW, Chello M et al. Preliminary *in vivo* evaluation of a hybrid armored vascular graft combining electrospinning and additive manufacturing techniques. *Drug Target Insights*. 2016; 10 (Suppl 1): 1–7. doi: 10.4137/DTI.S35202. PMID: 26949333; PMCID: PMC4772909.
 26. Wight TN. Cell biology of arterial proteoglycans. *Arteriosclerosis*. 1989; 9 (1): 1–20. doi: 10.1161/01.atv.9.1.1. PMID: 2643420.
 27. Santos SCNDS, Sigurjonsson ÓE, Custódio CA, Mano JFCDL. Blood plasma derivatives for tissue engineering and regenerative medicine therapies. *Tissue Eng Part B Rev*. 2018; 24 (6): 454–462. doi: 10.1089/ten.TEB.2018.0008. PMID: 29737237; PMCID: PMC6443031.
 28. Giusti I, D'Ascenzo S, Macchiarelli G, Dolo V. *In vitro* evidence supporting applications of platelet derivatives in regenerative medicine. *Blood Transfus*. 2020; 18 (2): 117–129. doi: 10.2450/2019.0164-19. PMID: 31657710; PMCID: PMC7141937.
 29. Oliveira SM, Pirraco RP, Marques AP, Santo VE, Gomes ME, Reis RL et al. Platelet lysate-based pro-angiogenic nanocoatings. *Acta Biomater*. 2016; 32: 129–137. doi: 10.1016/j.actbio.2015.12.028. PMID: 26708711.
 30. Шанский ЯД, Сергеева НС, Свиридова ИК, Куракозов МС, Кирсанова ВА, Ахмедова СА и др. Исследование лизата тромбоцитов человека как перспективной ростовой добавки для культивирования стволовых и других типов клеток. *Клеточные технологии в биологии и медицине*. 2013; 3: 153–158. Shanskij YD, Sergeeva NS, Sviridova IK, Kirakozov MS, Kirsanova VA, Ahmedova SA et al. Issledovanie lizata trombocitov cheloveka kak perspektivnoj rostovoj dobavki dlja kul'tivirovaniya stvolovyh i drugih tipov kletok. *Kletochnyye tehnologii v biologii i medicine*. 2013; 3: 153–158. (In Russ).
 31. Немец ЕА, Белов ВЮ, Ильина ТС, Сургученко ВА, Панкина АП, Севастьянов ВИ. Композитный пористый трубчатый биополимерный матрикс малого диаметра. *Перспективные материалы*. 2018; 9: 49–59. Nemets EA, Belov VYu, Ilina TS, Surguchenko VA, Pankina AP, Sevastianov VI. Composite porous tubular biopolymer matrix of small diameter. *Perspektivnyye materialy*. 2018; 9: 49–59. (In Russ.). doi: 10.30791/1028-978X-2018-9-49-59.
 32. Егорова ВА, Пономарева АС, Богданова НБ, Абрамов ВЮ, Севастьянов ВИ. Характеристика фенотипа мезенхимальных стволовых клеток из жировой тка-

- ни человека методом проточной цитометрии. *Технологии живых систем*. 2009; 6 (5): 40–46. Egorova VA, Ponomareva AS, Bogdanova NB, Abramov VYu, Sevastianov VI. Characterization of human adipose-derived stem cells phenotype by flow cytometry method. *Tehnologii zhivyyh system*. 2009; 6 (5): 40–46. (In Russ.).
33. Heydarkhan-Hagvall S, Schenke-Layland K, Yang JQ, Heydarkhan S, Xu Y, Zuk PA et al. Human adipose stem cells: a potential cell source for cardiovascular tissue engineering. *Cells Tissues Organs*. 2008; 187 (4): 263–274. doi: 10.1159/000113407. PMID: 18196894.
 34. Zhang X, Simmons CA, Paul Santerre J. Paracrine signalling from monocytes enables desirable extracellular matrix accumulation and temporally appropriate phenotype of vascular smooth muscle cell-like cells derived from adipose stromal cells. *Acta Biomater*. 2020; 103: 129–141. doi: 10.1016/j.actbio.2019.12.006. PMID: 31821896.
 35. Ciucurel EC, Sefton MV. Del-1 overexpression in endothelial cells increases vascular density in tissue-engineered implants containing endothelial cells and adipose-derived mesenchymal stromal cells. *Tissue Eng Part A*. 2014; 20 (7–8): 1235–1252. doi: 10.1089/ten.TEA.2013.0242. PMID: 24151812; PMCID: PMC3993021.
 36. ГОСТ ISO 10993-4-2020 Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 4. Исследования изделий, взаимодействующих с кровью. Дата введения 2021-03-01. М.: Стандартиформ, 2020. GOST ISO 10993-4-2020 Izdelija medicinskie. Ocenka biologicheskogo dejstvija medicinskih izdelij. Chast' 4. Issledovanija izdelij, vzai-
modejstvujushhих s krov'ju. Data vvedeniya 2021-03-01. М.: Standartinform, 2020.
 37. ГОСТ ISO 10993-12-2011 Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 12. Приготовление проб и контрольные образцы. Дата введения 2013-01-01. М.: Стандартиформ, 2014. GOST ISO 10993-12-2011 Izdelija medicinskie. Ocenka biologicheskogo dejstvija medicinskih izdelij. Chast' 12. Prigotovlenie prob i kontrol'nye obrazcy. Data vvedeniya 2013-01-01. М.: Standartinform, 2014.
 38. ГОСТ ISO 10993-5-2011 Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 5. Исследования на цитотоксичность: методы *in vitro*. Дата введения 2013-01-01. М.: Стандартиформ, 2014. GOST ISO 10993-5-2011 Izdelija medicinskie. Ocenka biologicheskogo dejstvija medicinskih izdelij. Chast' 5. Issledovanija na citotoksichnost': metody *in vitro*. Data vvedeniya 2013-01-01. М.: Standartinform, 2014.
 39. Rampersad SN. Multiple applications of alamar blue as an indicator of metabolic function and cellular health in cell viability bioassays. *Sensors*. 2012; 12 (9): 12347–12360. doi: 10.3390/s120912347.
 40. Smith RJ Jr, Yi T, Nasiri B, Breuer CK, Andreadis ST. Implantation of VEGF-functionalized cell-free vascular grafts: regenerative and immunological response. *FASEB J*. 2019; 33 (4): 5089–5100. doi: 10.1096/fj.201801856R. PMID: 30629890; PMCID: PMC6436645.

*Статья поступила в редакцию 8.10.2021 г.
The article was submitted to the journal on 8.10.2021*

DOI: 10.15825/1995-1191-2021-4-132-142

КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ЗАПЛАТ РАЗЛИЧНОЙ ФОРМЫ ПРИ КЛАССИЧЕСКОЙ КАРОТИДНОЙ ЭНДАРТЕРЭКТОМИИ

В.Г. Борисов^{1, 2}, Ю.Н. Захаров^{1, 2}, А.Н. Казанцев³, Ю.И. Шокин², А.В. Евтушенко⁴, Л.С. Барбараш⁴, П.С. Онищенко^{2, 4}, К.Ю. Клышников⁴, Е.А. Овчаренко⁴

¹ Кемеровский государственный университет, Кемерово, Российская Федерация

² Институт вычислительных технологий, Новосибирск, Российская Федерация

³ ГБУЗ «Городская Александровская больница», Санкт-Петербург, Российская Федерация

⁴ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация

Цель исследования: описание метода построения геометрических моделей бифуркации сонной артерии с помощью компьютерного моделирования операций каротидной эндартерэктомии (КЭА) с заплатами различной конфигурации. **Материалы и методы.** Метод использует реконструированные модели здорового сосуда, полученные с помощью предоперационного компьютерного томографического исследования пораженного сосуда конкретного пациента. Течение в сосуде моделируется методом вычислительной гидродинамики с использованием данных ультразвуковой доплеровской велосиметрии пациента. Факторы риска оцениваются по гемодинамическим показателям на стенке сосуда, связанным с WSS. **Результаты.** В работе с помощью предложенного метода исследованы гемодинамические результаты 10 виртуальных операций КЭА с заплатами различной формы на примере реконструированной здоровой артерии конкретного пациента. Смысл имплантации заплаты состоит в том, чтобы в результате операции просвет сосуда не был сужен, поскольку закрытие разреза без заплаты может уменьшить длину окружности просвета сосуда на 4–5 мм, что неблагоприятно сказывается на кровотоке. С другой стороны, слишком широкая заплата создает аневризмоморфную деформацию устья внутренней сонной артерии (ВСА), что не является оптимальным ввиду формирования большой зоны рециркуляции. В рассматриваемом случае установлено, что ширина имплантированной заплаты, приблизительно равная 3 мм, обеспечивает оптимальный гемодинамический результат. Отклонения от этого медианного значения как в большую, так и в меньшую сторону ухудшают гемодинамику, а отсутствие заплаты дает наихудший из рассмотренных результатов. **Заключение.** Предложенная методика компьютерного моделирования способна обеспечить персонализированный подбор заплаты для классической КЭА с низким риском развития рестеноза в отдаленном периоде наблюдения.

Ключевые слова: каротидная эндартерэктомия, классическая каротидная эндартерэктомия, заплата, компьютерное моделирование, заплата.

Для корреспонденции: Казанцев Антон Николаевич. Адрес: 193312, Санкт-Петербург, проспект Солидарности, д. 4. Тел. (908) 947-47-57. E-mail: dr.antonio.kazantsev@mail.ru

Corresponding author: Anton Kazantsev. Address: 4, Solidarity Avenue, St. Petersburg, 193312, Russian Federation. Phone: (908) 947-47-57. E-mail: dr.antonio.kazantsev@mail.ru

COMPUTER MODELING OF DIFFERENT SHAPED PATCHES IN CLASSICAL CAROTID ENDARTERECTOMY

V.G. Borisov^{1, 2}, Yu.N. Zakharov^{1, 2}, A.N. Kazantsev³, Yu.I. Shokin^{1, 2}, A.V. Evtushenko⁴, L.S. Barbarash⁴, P.S. Onishchenko^{2, 4}, K.Yu. Klyshnikov⁴, E.A. Ovcharenko⁴

¹ Kemerovo State University, Kemerovo, Russian Federation

² Federal Research Center for Information and Computational Technologies, Novosibirsk, Russian Federation

³ City Alexandrovskaya Hospital, St. Petersburg, Russian Federation

⁴ Research Institute for Complex Problems of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation

Objective: to construct geometric models of carotid bifurcation and build a computer modeling for carotid endarterectomy (CEA) operations with patches of various configurations. **Materials and methods.** The method uses reconstructed models of a healthy blood vessel obtained from a preoperative computed tomography (CT) study of the affected blood vessel of a particular patient. Flow in the vessel is simulated by computational fluid dynamics using data from the patient's ultrasonic Doppler velocimetry and CT angiography. Risk factors are assessed by hemodynamic indices at the vessel wall associated with Wall Shear Stress (WSS). **Results.** We used the proposed method to study the hemodynamic results of 10 virtual CEA operations with patches of various shapes on a reconstructed healthy artery of a particular patient. The reason for patch implantation was to ensure that the vessel lumen is not narrowed as a result of the surgery, since closing the incision without a patch can reduce the vessel lumen circumference by 4–5 mm, which adversely affects blood flow. On the other hand, too wide a patch creates aneurysmorphic deformation of the internal carotid artery (ICA) mouth, which is not optimal due to formation of a large recirculation zone. In this case, it was found that the implanted patch width of about 3 mm provides an optimal hemodynamic outcome. Deviations from this median value, both upward and downward, impair hemodynamics. The absence of a patch gives the worst of the results considered. **Conclusion:** The proposed computer modeling technique is able to provide a personalized patch selection for classical CEA with low risk of restenosis in the long-term follow-up.

Keywords: classical carotid endarterectomy, computer modeling, patch.

ВВЕДЕНИЕ

Согласно статистике, острое нарушение мозгового кровообращения из-за развития гемодинамически значимого стеноза внутренней сонной артерии (ВСА) является одной из основных причин летальных исходов и длительной инвалидности [1, 2].

Классическая каротидная эндартерэктомия (КЭА) является одним из наиболее распространенных методов лечения этих больных [1, 2].

Однако в результате имплантации заплаты во время данного вмешательства может возникать локальная деформация сосуда, приводящая к изменению гемодинамики потока. Изучение гемодинамических характеристик кровотока на стенке сосуда крайне затруднено *in vitro*, а тем более *in vivo*.

Поэтому вычислительные методы гидродинамики широко используются для оценки гемодинамических эффектов в сосудах персонально-специфической формы [3, 4].

Целью работы является выявление зон наибольшего риска рестеноза в построенных компьютерных моделях при классической КЭА.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исходные данные для математического моделирования

Исходная геометрическая модель сосуда была реконструирована на основе предоперационной компьютерной томографии (КТ) пораженной левой каротидной бифуркации конкретного пациента. На рис. 1, а, представлена пораженная часть области течения сосуда (сонная артерия находится на переднем плане). Сегмент кривой показывает предполагаемое положение стенки сосуда под атеросклеротической бляшкой. Пунктирной линией отмечена внутренняя поверхность бляшки в изображенной проекции.

Исходными данными для моделирования течения являются результаты послеоперационной ультразвуковой доплеровской velocиметрии (УДВ) пациента. Зависимость скорости входного потока от времени построена на основании данных УДВ-исследования общей сонной артерии (ОСА). Соотношение расходов через внутреннюю (ВСА) и наружную (НСА) сонную артерию рассчитывалось с использованием площадей их поперечного сечения и TAPV (усред-

ненная по времени пиковая скорость), которые также были получены по данным УДВ.

Построение геометрических моделей

Реконструированная трехмерная модель здорового сосуда была построена с использованием программного обеспечения SimVascular Updegrove (2016) и Salome Salome (2007). SimVascular использовался для построения сегментов сосудов (рис. 1, б-г). Эти сегменты с помощью скрипта Python нашей собственной разработки были затем импортированы в Salome для построения геометрической модели и

сеток. Реконструированная трехмерная модель сосуда изображена на рис. 1, д. Далее эта модель называется базовой и обозначается через m_0 . Черная линия на стенке сосуда указывает линию разреза для последующей имитации имплантации заплаты.

Упомянутый скрипт также использовался для визуального моделирования результата операции КЭА. С его помощью можно визуально построить линию разреза и контуры заплаты на контурах сегментации сосуда (рис. 2). Информация о нарисованных линиях экспортируется скриптом в файл данных в виде списка значений ширины заплаты на ее пересечениях

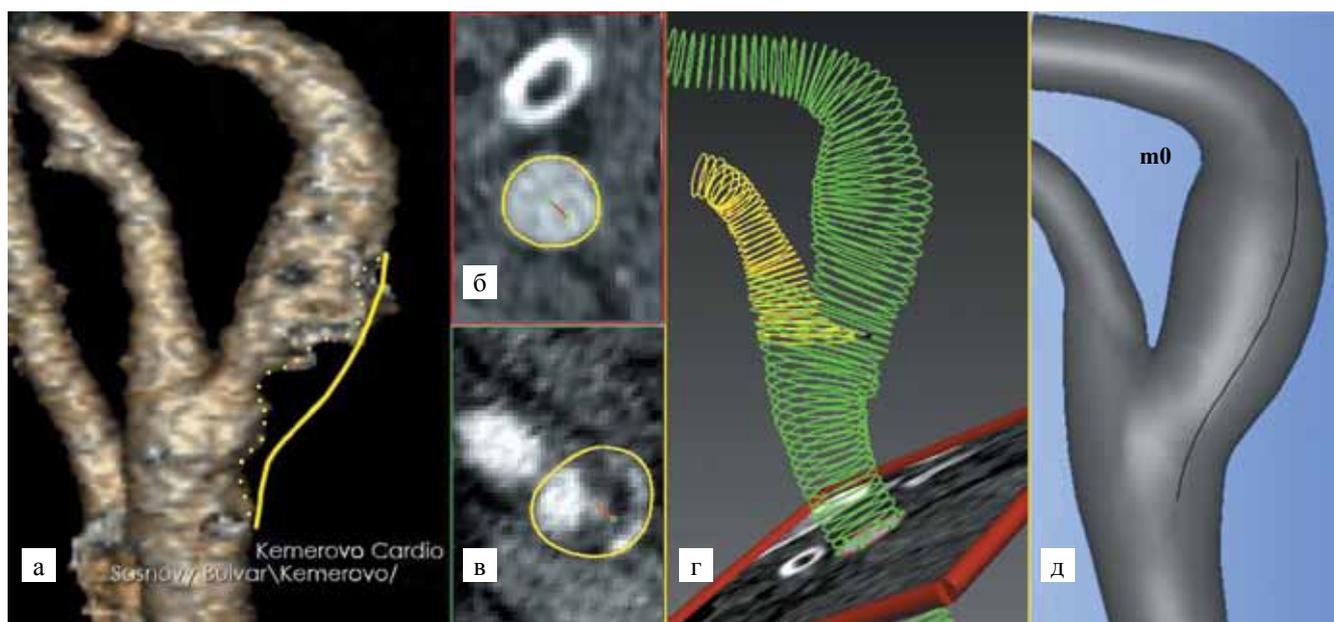


Рис. 1. Компьютерная томография с ангиографией предоперационной области течения в сонных артериях: а – сосуд на переднем плане; б – контур сегментации в здоровой части ОСА; в – контур сегментации в пораженной части ВСА вблизи бифуркации; г – сегментации ОСА-ВСА и НСА; д – геометрическая форма базовой модели m_0 с линией разреза

CTA image of the preoperative flow area in the carotid arteries: а – vessel in the foreground; б – segmentation contour in the healthy part of the CCA; в – segmentation contour in the affected part of the ICA near the bifurcation; г – segmentation of OCA-BCA and HCA; д – geometric shape of the base model m_0 with a cut line

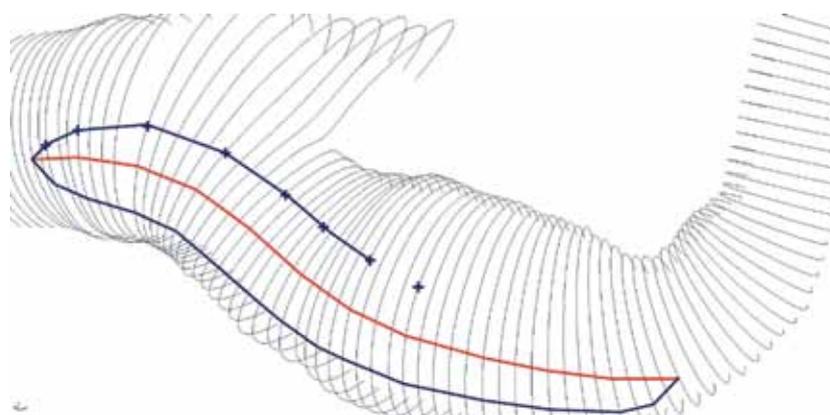


Рис. 2. Процесс визуального построения формы заплаты на контурах сегментации ОСА-ВСА

Fig. 2. The process of visual construction of the patch shape on the OCA-ICA segmentation contours

с контурами сегментации. Затем скрипт использует эти данные для изменения геометрической формы базовой модели, имитируя результат имплантации заплаты.

Модифицированные модели, являющиеся результатами виртуальной КЭА, строились путем увеличения (или уменьшения) периметров всех сегментов модели m_0 , пересекающихся с линией разреза. Это позволяет имитировать любую форму заплаты или закрытие разреза без заплаты. Изменение периметров достигалось путем масштабирования сегментов относительно их геометрических центров в соответствии со значениями, записанными в файле данных. Коэффициент растяжения по умолчанию полагается равным величине относительного приращения периметра, хранящейся в файле, деленной на 2π . Для сегментов, близких по форме к эллипсам с небольшим эксцентриситетом, такой выбор является достаточно точным. При желании для сегментов неправильной формы коэффициент масштабирования может быть откорректирован вручную. Вследствие масштабирования верхние (на рис. 2) части проксимальных контуров ВСА смещались вверх и начинали пересекаться с проксимальными контурами НСА. Для корректировки этого выполнялось небольшое параллельное смещение всех контуров НСА вдоль большей оси дистального контура ОСА. После этого строились геометрическая модель сосуда и расчетные сетки на ней. Сетки затем экспортировались в OpenFoam для численных расчетов.

Для сравнительного анализа описанным выше способом были построены геометрические модели m_1 – m_{10} . Модели m_1 – m_9 имитируют результаты операции КЭА на модели m_0 с имплантацией заплат p_1 – p_9 соответственно (рис. 3). Модель m_{10} (не изоб-

раженная на рис. 3) имитирует закрытие разреза без имплантации заплаты.

Данные по формам заплат приведены в табл. 1, которая содержит значения ширины заплат в их поперечных сечениях вдоль линии разреза. Точка 0 колонки «Расстояние...» таблицы соответствует проксимальному концу линии разреза, точка 3,9 – дистальному. Линия разреза, изображенная на рис. 1, е, одинакова для всех моделей. Как ее длина 3,9 см, так и расположение соответствуют фактическому разрезу, сделанному во время классической КЭА. Модель m_{10} была построена путем уменьшения окружности просвета сосуда вдоль линии разреза. На это указывают отрицательные значения ширины виртуальной заплаты p_{10} в табл. 1.

Заметим, что в табл. 1 приведены приращения периметра сосуда после имплантации, ширина же самой заплаты до имплантации должна быть несколько большей.

Моделирование течения

Скорость течения U и давление p в построенных геометрических моделях описывались с помощью трехмерных нестационарных уравнений Навье–Стокса для вязкой несжимаемой жидкости:

$$\rho \left(\frac{\partial U}{\partial t} + (U \cdot \nabla)U \right) = -\nabla p + \nabla \tau, \quad (1)$$

$$\nabla U = 0,$$

с постоянной плотностью $\rho = 1050 \text{ кг/м}^3$ и динамической вязкостью $\mu = 3,675 \times 10^{-3} \text{ Па}\cdot\text{с}$, где τ – тензор напряжений сдвига. Граничное условие непротекания было задано для U на боковой поверхности области течения, а условия параллельного течения – на

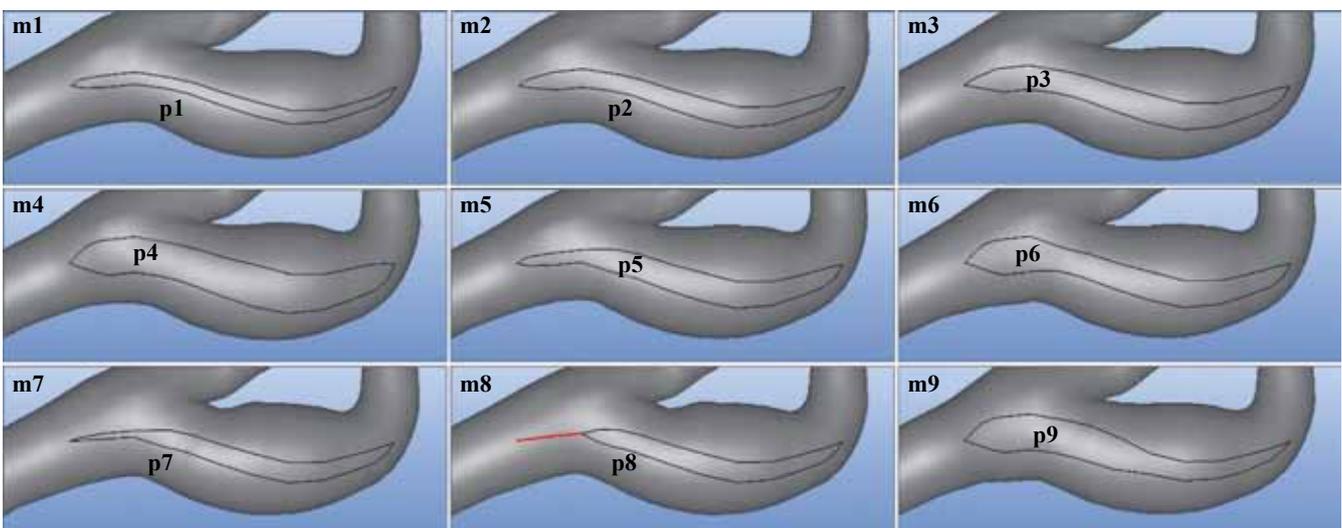


Рис. 3. Формы заплат и сосудов после виртуальной каротидной эндартерэктомии

Fig. 3. Shapes of patches and vessels after virtual carotid endarterectomy

входе и выходах. Границы области течения считались жесткими. Начальное значение скорости выбралось равным константе 0,15 м/с. В качестве граничных условий для p на входе и выходах устанавливалась периодически меняющаяся разность давления, которая создавала периодическое течение, соответствующее постоперационным данным УДВ пациента:

- $T = 1,06$ с – период кардиоцикла;
- $Q = 6,9$ мл/с – объемный расход через ОСА;
- $r = 1,72$ – отношение объемного расхода через ВСА к объемному расходу через НСА.

Метод построения граничных условий заключался в следующем. Сначала был проведен численный расчет, при котором на обоих выходах устанавливалось нулевое давление, а на входе шаг за шагом с интервалом по времени 10 мс строилась подходящая кривая давления. В ходе этого расчета приращения давления на каждом временном шаге выбирались вручную таким образом, чтобы результирующая кривая скорости на входе (рис. 4, а) соответствовала огибающей спектра УДВ в ОСА пациента. По результатам этого расчета было вычислено значение величины r , которое оказалось отличным от целевого значения 1,72. Далее, для корректировки значения r , на выходах вместо нулевого задавалось переменное давление. А именно на выходе НСА задавалась такая же кривая давления, что и для ОСА, только уменьшенная по амплитуде с коэффициентом $k = 0,1$ и с небольшим отставанием по фазе. На выходе ВСА задавалась такая же кривая давления, что и на НСА, только инвертированная относительно оси абсцисс. Тем самым расход через НСА уменьшался, а через ВСА – увеличивался, при этом расход через ОСА практически не менялся. После этого с помощью еще одной серии вспомогательных расчетов значение параметра k (и форма кривой давления, если необходимо) было скорректировано таким образом,

что величины Q и r стали близки к своим целевым значениям.

Численные расчеты и постпроцессинг

Численные расчеты проводились в OpenFoam методом конечных объемов с использованием алгоритма PISO, который наряду с коммерческим программным обеспечением, таким как Ansys Fluent, OpenFoam, является распространенным инструментом для выполнения гидродинамических расчетов и моделирования течения в кровеносных сосудах [4]. В описанных предварительных численных расчетах, выполненных для получения течения, соответствующего данным УДВ, использовались грубые расчетные сетки. После получения удовлетворительных результатов предварительных расчетов были проведены окончательные расчеты на мелких сетках. В результате расчетов были получены динамические поля давления, скорости и градиента скорости в области течения для нескольких сердечных циклов с дискретизацией времени с шагом 10^{-2} с. Информация о параметрах течения и его производных характеристиках извлекалась из результатов расчетов путем постпроцессинга, выполненного в ParaView Ayachit.

Для верификации этих результатов было проведено исследование их независимости от шага сетки. Было установлено, что результаты существенно не изменяются при использовании сеток с числом узлов более 5×10^5 . Размер ячейки сетки на боковой поверхности был установлен равным половине размера ячейки внутри вычислительной области. Это было сделано для повышения точности расчета гемодинамических показателей, которые выражаются через градиент скорости на стенке сосуда. Изучалась также стабилизация периодических колебаний. Как оказалось, процесс пульсовых колебаний можно считать установившимся начиная со второго сердечного цикла [5]. В связи с этим далее предполагается, что

Таблица 1

Значения ширины заплат p_1 – p_{10} вдоль линии разреза
Values of the width of patches p_1 – p_{10} along the cut line

Расстояние вдоль разреза (см)	p_1	p_2	p_3	p_4	p_5	p_6	p_7	p_8	p_9	p_{10}
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,29	0,12	0,16	0,19	0,34	0,13	0,35	0,05	-0,10	0,34	-0,26
0,72	0,14	0,21	0,28	0,42	0,14	0,42	0,07	0,00	0,42	-0,22
1,16	0,13	0,20	0,27	0,39	0,25	0,29	0,18	0,19	0,39	-0,22
1,59	0,14	0,20	0,27	0,40	0,27	0,27	0,20	0,20	0,38	-0,22
2,02	0,15	0,22	0,29	0,43	0,29	0,29	0,22	0,22	0,33	-0,24
2,46	0,16	0,24	0,33	0,47	0,33	0,33	0,24	0,24	0,24	-0,26
2,89	0,15	0,23	0,32	0,45	0,32	0,32	0,23	0,23	0,23	-0,26
3,32	0,13	0,20	0,27	0,39	0,27	0,27	0,20	0,20	0,20	-0,22
3,61	0,12	0,17	0,23	0,34	0,23	0,23	0,17	0,17	0,15	-0,14
3,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

время $t = 0$ соответствует началу систолического нарастания скорости течения во втором кардиоцикле.

Пристеночное напряжение сдвига и гемодинамические показатели

Показатель Wall Shear Stress (WSS) рассчитывался как тангенциальная составляющая t_w тензора сдвиговых напряжений τ на стенке сосуда. Показатели Time Average WSS (TAWSS), Oscillatory Shear Stress Index (OSI) и RRT (относительное время пребывания) рассчитывались по формулам (2) через усредненное значение t_w за один сердечный цикл [24]:

$$TAWSS = \frac{1}{T} \int_0^T \tau_w dt, \quad OSI = \frac{1}{2} \cdot \left(1 - \frac{\left| \int_0^T \tau_w dt \right|}{\int_0^T |\tau_w| dt} \right),$$

$$RRT = \frac{T}{(1 - 2 \cdot OSI) \cdot \int_0^T |\tau_w| dt}. \quad (2)$$

Здесь T – длительность сердечного цикла, а $|\tau_w|$ – евклидова норма вектора t_w . Для количественного сравнения показателей в некоторой зоне σ на стенке сосуда рассчитывались их средние значения по формулам:

$$RRT_\sigma = \frac{1}{S_\sigma} \int_\sigma RRT d\sigma, \quad OSI_\sigma = \frac{1}{S_\sigma} \int_\sigma OSI d\sigma,$$

$$TAWSS_\sigma = \frac{1}{S_\sigma} \int_\sigma |TAWSS| d\sigma, \quad (3)$$

где S – площадь зоны σ . Использовались также безразмерные среднее – I_RRT и логарифмическое максимальное – M_RRT значения показателя RRT для зоны σ , которые вычислялись по формулам:

$$I_RRT = TAWSS_{CCA} \cdot RRT_\sigma,$$

$$M_RRT = \max_\sigma (\ln(RRT \cdot TAWSS_{CCA} + 1)). \quad (4)$$

Здесь $TAWSS_{CCA}$ – усредненное значение TAWSS в цилиндрической части ОСА на расстоянии трех радиусов ОСА от точки разветвления сосуда [24].

Для оценки патологических значений показателя RRT использовались неравенства $TAWSS < 0,4$ Па и $OSI > 0,3$, приведенные в исследовании Harrison (2014) [6]. В этом случае формула (2) дает соответствующее критическое значение $RRT = 6,25$ Па⁻¹. Далее значения RRT, превышающие критическое, будут считать патологическими.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты по течению в базовой модели

Проведен анализ результатов расчетов поля скоростей и гемодинамических показателей для базовой модели $m0$. На рис. 4 изображены некоторые визуализации для следующих значений параметров: $T = 1,06$ с, $Q = 6,9$ мл/с, $r = 1,72$. На рис. 4, а, приведен график модуля вектора скорости в центре проксимального поперечного сечения ОСА.

На рис. 4, б–г, изображены линии тока в моменты времени 0,06; 0,14; 0,6 с соответственно, которые от-

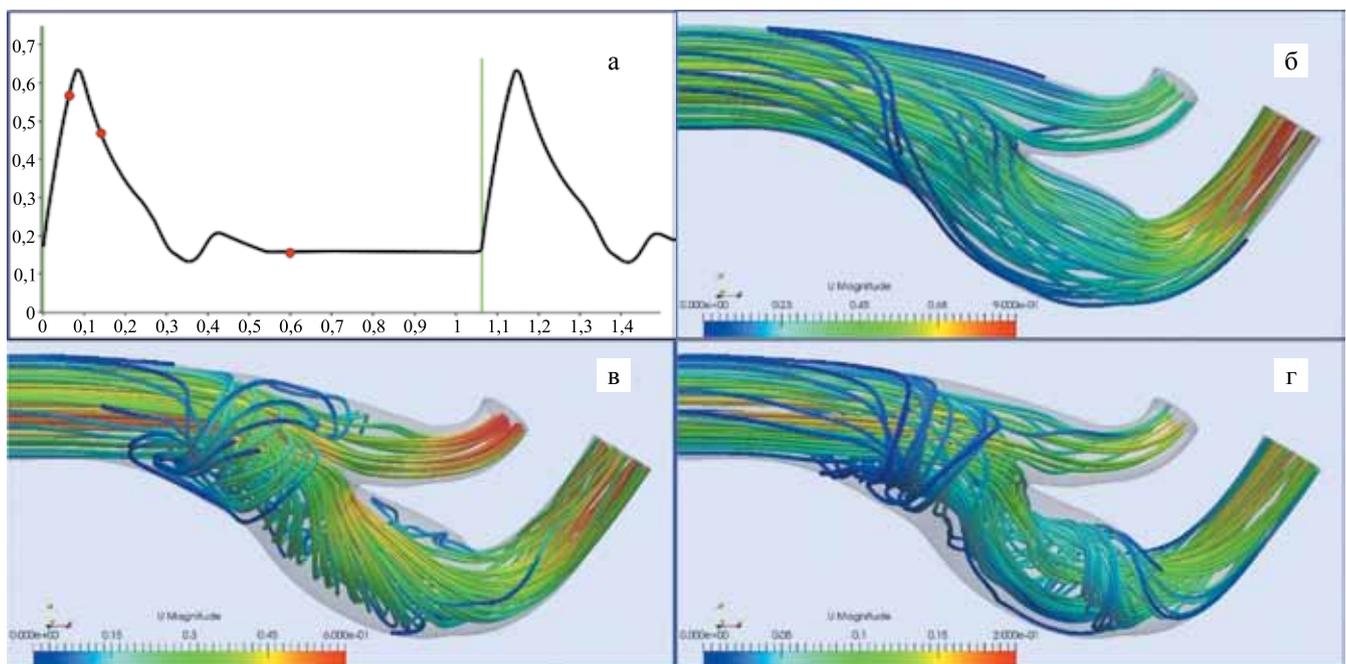


Рис. 4. График скорости в ОСА (а). Линии тока при $t = 0,06$ с (б), $t = 0,14$ с (в), $t = 0,6$ с (г)

Fig. 4. Graph of speed in OCA (a). Streamlines at $t = 0.06$ s (б), $t = 0.14$ s (в), $t = 0.6$ s (г)

мечены точками на рис. 4, а. Изменения цвета вдоль линии тока отражают скорость движения частиц крови в соответствии с предоставленной шкалой.

Также изучалось влияние частоты и амплитуды пульса на распределение гемодинамических показателей на стенке сосуда в зоне его атеросклеротического поражения. В табл. 2 приведены значения T, Q и r для четырех вариантов расчета, обозначенных буквами а-г.

Таблица 2

Параметры течения T (с), Q (мл/с), r (безразмерное) в расчетах а-г

Flow parameters T (s), Q (ml/s), r (dimensionless) in calculations а-г

	T	Q	r
а	1,06	6,90	1,72
б	1,06	6,00	1,78
в	0,7	7,76	1,77
г	0,8	10,65	1,72

Таблица 3

Средние значения индексов в зонах σ1-σ3

Average values of indices in zones σ1-σ3

	RRT _σ (Па ⁻¹)	ln(RRT _σ + 1)	OSI _σ	TAWSS _σ (Па)
σ ₁	287	5,66	0,409	0,047
σ ₂	739	6,61	0,428	0,049
σ ₃	974	6,88	0,453	0,031

На рис. 5, а-г, изображены линии уровня RRT на выбранном участке стенки сосуда, соответствующие одноименным наборам параметров из табл. 2. Линии уровня 0 соответствуют критическому значению $RRT = 6,25 \text{ Па}^{-1}$. Линии уровня 1-3 соответствуют значениям RRT в 2, 4 и 8 раз большим соответственно, чем критическое значение. Цветом отображается значение $\ln(RRT + 1)$ между 0 и 8 в соответствии с прилагаемой шкалой. На рис. 7 показано расположение выбранного участка на стенке сосуда. Рис. 5 демонстрирует, что сколь-нибудь существенного изменения в распределении показателя RRT при вариации параметров течения, приведенных в табл. 2, не происходит.

На рис. 6 изображена в несколько увеличенном виде зона локальных максимумов индекса RRT из рис. 5, а, в сочетании с фазовым портретом векторного поля TAWSS.

Стрелки на рисунке указывают локальное направление поля TAWSS, цвет отражает значение $\ln(RRT + 1)$ в диапазоне [0, 8]. Черные точки – это неподвижные точки поля TAWSS, жирные линии – это сепаратрисы двух седловых точек 2 и 4, тонкие линии представляют собой регулярные траектории.

Три зоны σ1-σ3 (рис. 6) с равными площадями S были выбраны для сравнительной количественной оценки интегральных значений RRT. Центрами этих зон являются стационарные точки 1-3 поля TAWSS. Средние значения индексов, рассчитанных для каждой зоны по формулам (3), приведены в табл. 3.

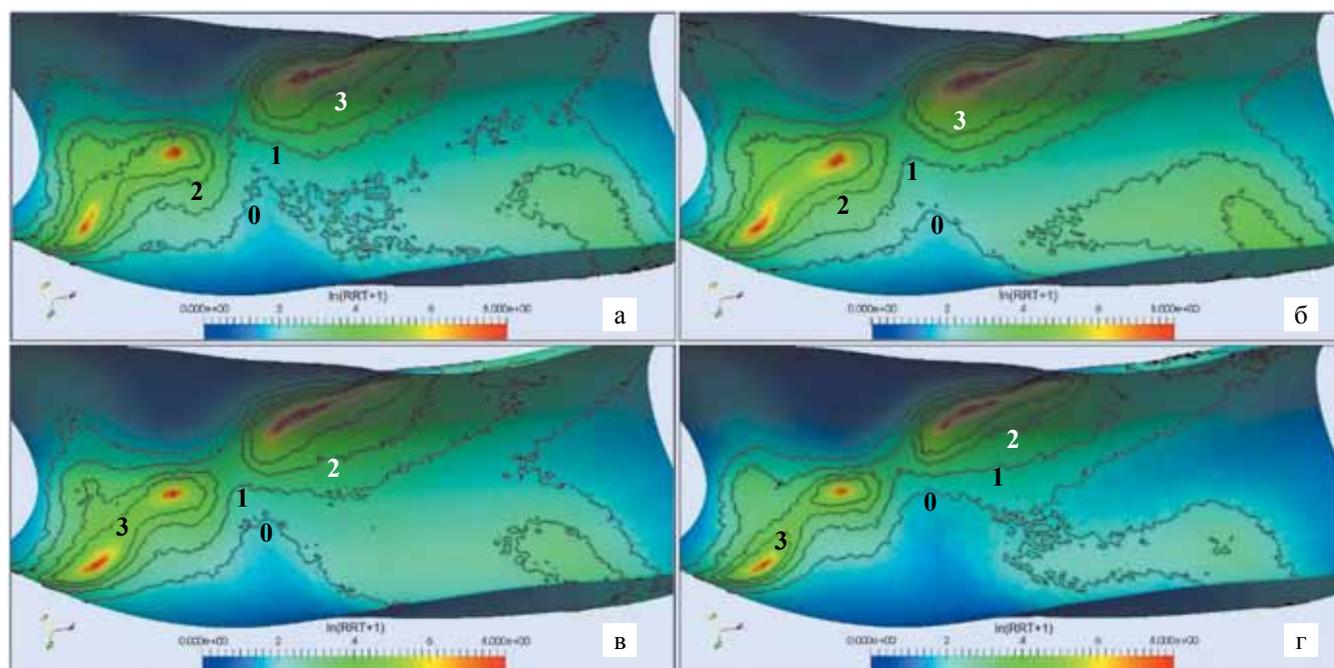


Рис. 5. Линии уровня RRT (Па⁻¹) и распределение ln(RRT + 1) для наборов параметров а-г в табл. 2

Fig. 5. RRT level lines (Pa⁻¹) and ln distribution (RRT + 1) for parameter sets а-г in Table 2

Гемодинамические показатели для моделей m0–m10

Результаты численных расчетов с параметрами течения Q и γ , отличающимися не более чем на 0,7% от результата расчета «а» для базовой модели (см. табл. 2), были получены для моделей m1–m10. Изменения геометрической формы сосуда, вызванные имплантацией виртуальной заплатки, приводят к изменению (в пределах 10%) расчетных значений Q и γ при неизменных граничных условиях. В силу этого для каждой из моделей m1–m10 проводились вспомогательные расчеты для корректировки коэффициента k , чтобы уложиться в интервал $[-0,7\%; 0,7\%]$ изменения параметров Q и γ .

Для получения сравнительных количественных характеристик гемодинамических показателей в каждой модели были выбраны области, где одновременно удовлетворялись оба критерия $TAWSS < 0,4$ Па и $OSI > 0,3$. Эти области для всех моделей состоят из двух зон z_1 и z_2 , первая из которых содержит ста-

ционарные точки 1, 2, вторая – стационарные точки 3, 4 поля TAWSS. На рис. 7 изображены эти зоны для базовой модели. Значения показателей I_{RRT} и M_{RRT} в зонах z_1 и z_2 , рассчитанные по формулам (4) для каждой модели, приведены в табл. 4. В строках таблицы приведены значения I_{RRT} и M_{RRT} для моделей m0–m10 в процентах к соответствующим значениям для базовой модели m0.

ОБСУЖДЕНИЕ

Построение геометрических моделей

Наша задача состояла в реконструкции сегментации исходного здорового сосуда по компьютерной томографии с ангиографией пораженного сосуда. На неповрежденных участках сосуда (рис. 1, б) границы просвета совпадают с его внутренней стенкой, и сегментация в SimVascular может быть выполнена в автоматическом режиме. Однако в зонах атеросклеротического поражения (рис. 1, в) такого совпадения нет, поэтому каждый контур строился с использо-

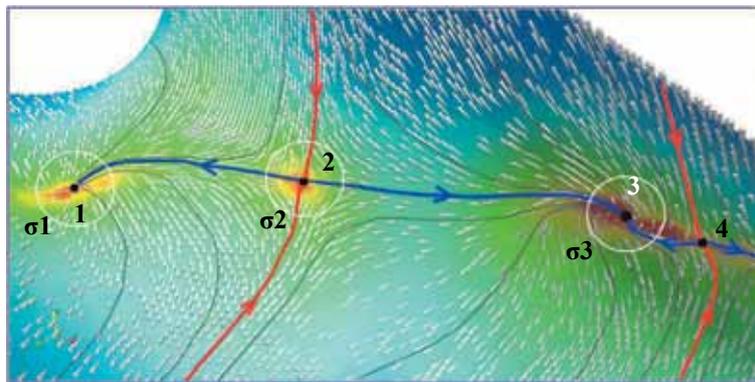


Рис. 6. Топологическая структура поля TAWSS в окрестности его точек покоя (точки 1–4)

Fig. 6. Topological structure of the TAWSS field in the vicinity of its rest points (points 1–4)

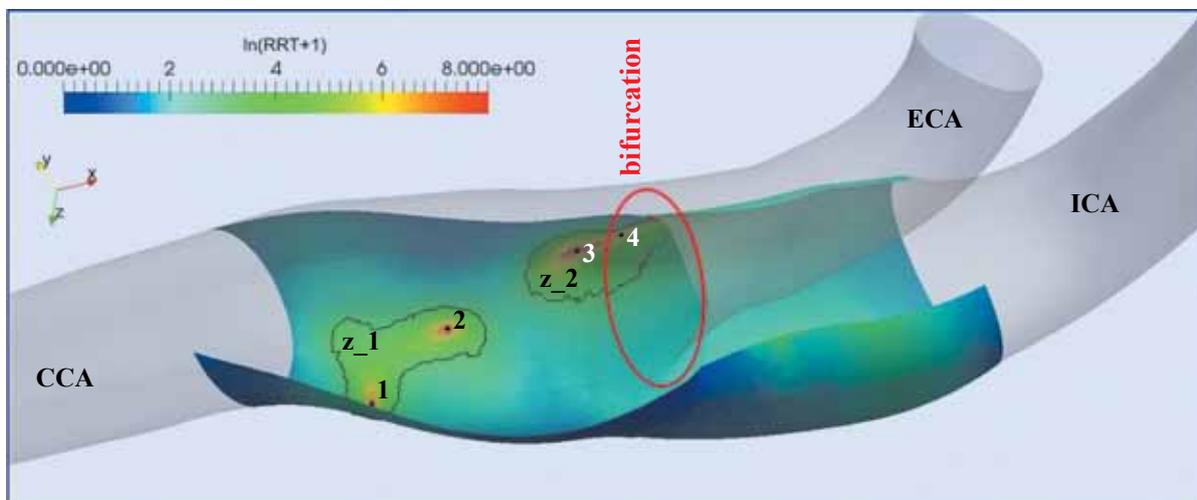


Рис. 7. Зоны z_1 и z_2 и стационарные точки 1–4 поля TAWSS для базовой модели

Fig. 7. Zones z_1 and z_2 and stationary points 1–4 of the TAWSS field for the base model

Таблица 4
Сравнение показателей I_RRT и M_RRT для моделей m0–m10, %

Comparison of I_RRT and M_RRT indicators for m0–m10 models, %

	I_RRT ₁	I_RRT ₂	M_RRT ₁	M_RRT ₂
m0	100	100	100	100
m1	88,8	97,8	78,7	98,7
m2	78,6	94,7	75,9	95,8
m3	71,8	92,9	70,0	96,1
m4	76,1	96,5	74,3	96,8
m5	76,3	96,8	75,2	98,3
m6	75,4	98,1	82,5	97,3
m7	75,9	97,3	74,9	99,8
m8	75,7	97,0	74,2	99,9
m9	77,0	95,7	74,6	98,3
m10	82,0	110,0	81,9	105,9

ванием ручной корректировки с последующим Фурье-сглаживанием. Например, на рис. 1, в, правая часть контура строилась по внешней границе рентгеноконтрастной кальцинированной бляшки. Кроме того, в силу ограниченной разрешающей способности оборудования граница просвета сосуда размыта, следовательно, при ее распознавании присутствует некоторая неопределенность масштабирования. Поэтому площади некоторых распознанных поперечных сечений сравнивались с площадями тех же поперечных сечений, полученных средствами УДВ, вычислялся поправочный коэффициент, а затем все контуры масштабировались в соответствии с этим коэффициентом. В итоге были получены сегментации ОСА-ВСА и НСА (рис. 1, г), по которым строилась базовая модель m0 (рис. 1, д).

Моделирование течения

Моделирование течения выполнялось в предположении, что кровь – это ньютоновская жидкость. Давно установлено, что неньютоновская реология проявляется в основном в сосудах малого диаметра и капиллярах. Поэтому для моделирования течения в сонной артерии, как правило, используется ньютоновская реология [7].

Предположение о жесткой стенке сосуда было принято в данной работе по ряду причин. Во-первых, здоровая сонная артерия располагается в ложе из эластичных и податливых структур из соединительной и жировой ткани, внутри которых и происходит перемещение ее стенки. С появлением кальцинированной атеросклеротической бляшки пульсовые движения стенки сосуда в ее зоне прекращаются из-за отсутствия гибкости. Удаление же бляшки с последующей имплантацией заплаты, тем не менее, не восстанавливает гибкость стенки сосуда в полной

мере, так как податливые окружающие структуры вследствие операционной травмы замещаются ригидной соединительной тканью. Заметим, что отсутствие перемещений сосудистой стенки в ответ на изменение давления внутри сосуда с медицинской точки зрения – это самый неблагоприятный гемодинамический вариант, который и был выбран в работе в качестве модели с наихудшим прогнозом. Во-вторых, исследуемые участки сосуда значительно короче длины пульсовой волны давления, поэтому в случае упругой стенки можно предположить, что они расширяются и сужаются почти синхронно. Поэтому если оценивать амплитуду пульсаций диаметра сосуда в 5%, то амплитуда колебаний пикового значения WSS не будет превышать 15% [8]. Однако для интегральных показателей (2) это пиковое систолическое значение усредняется по всему периоду кардиоцикла, и его влияние на показатели будет кратно меньше. Наконец, введение в модель дополнительных исходных данных, необходимых для расчетов с деформируемой стенкой, таких как ее механические свойства, толщина, требует их точной оценки. В противном случае предполагаемые погрешности в этих данных могут внести неконтролируемую неопределенность в результаты расчетов [8]. По этим причинам предположение о жесткости стенки довольно распространено для сонной артерии.

Анализ результатов для модели m0

Известно, что течение в каротидной бифуркации имеет сложную структуру, оно всегда содержит изменяющиеся во времени зоны рециркуляции и застоя [9]. В нашем случае качественное поведение линий тока, изображенное на рис. 4, б–г, соответствует опубликованным результатам.

Для определения вероятного положения зон инициации атеросклеротических бляшек и их зависимости от параметров кровотока были получены распределения гемодинамических показателей (рис. 5) для четырех вариантов расчета (табл. 2). Из рис. 5 видно, что расположение зон с высокими значениями RRT практически не зависит от изменения параметров T и Q.

На рис. 6 изображен фазовый портрет векторного поля TAWSS, соответствующий набору параметров «а» из табл. 2. В рассматриваемой области поле TAWSS имеет четыре стационарные точки, отмеченные на рис. 6 номерами 1–4. Точки 1 и 3 являются устойчивыми узлами, точки 2 и 4 – седловыми точками (неустойчивыми). Стрелки на рис. 6 соответствуют направлению действия напряжения сдвига на клетки эндотелия. Фазовые траектории поля TAWSS соответствуют путям переноса компонентов крови и химических веществ вдоль стенки сосуда. Расчеты, проведенные также и для наборов параметров б–г

из табл. 2, показали, что топологическая структура векторного поля TAWSS в рассматриваемой области идентична для всех четырех вариантов а–г. Этот факт вместе с результатами, приведенными на рис. 5, позволяет сделать вывод о том, что изменение параметров течения оказывает меньшее влияние на конфигурацию зон риска по сравнению с изменениями геометрической формы сосуда.

Из табл. 3 видно, что с точки зрения ухудшения значений гемодинамических показателей зоны σ_1 – σ_3 расположены в порядке возрастания их нумерации. Заметим, что расположение реальной атеросклеротической бляшки на рис. 1, а, коррелирует с расположением рискованных зон σ_1 – σ_3 на рис. 6. Возникновение бляшки меняет локальную гемодинамику, что приводит к распространению патологических областей и дальнейшему ее росту. Таким образом, можно предположить, что формирование бляшки в здоровом сосуде m_0 начиналось с особых точек поля TAWSS. Наибольшая вероятность возникновения патологических явлений, согласно табл. 3, при прочих равных условиях относится к окрестности σ_3 .

Сравнительный анализ результатов для моделей m_0 – m_{10}

Сравнительные результаты расчетов показателей I_{RRT} и M_{RRT} в зонах z_1 и z_2 для всех моделей приведены в табл. 4. Зоны z_1 и z_2 – это зоны наиболее вероятного возникновения атеросклеротических явлений, большие значения показателей в них означают больший риск рестеноза. В соответствии с табл. 1 заплаты p_1 – p_4 имеют приблизительно постоянную ширину по всей длине, за исключением концов. Заплаты такой формы наиболее часто применяются практикующими хирургами, при этом вопрос о выборе ширины заплаты остается за ними. В мировой литературе не обнаружено каких-либо правил выбора ширины заплаты в том или ином конкретном случае. Однако обсуждается также вопрос о выборе между имплантацией заплаты и закрытием разреза без имплантации заплаты [10]. Данные табл. 4 позволяют сделать вывод, что с точки зрения риска возникновения рестеноза в обеих зонах z_1 и z_2 среди заплат p_1 – p_4 предпочтительнее использовать p_3 . Предпочтительность использования заплаты перед непосредственным закрытием разреза в нашем случае подтверждается данными табл. 4 для модели m_{10} , имитирующей такой вариант операции.

В настоящей работе в отличие от упомянутых выше исследовались также и заплаты неравномерной ширины. Как видно из табл. 1, заплаты p_5 и p_6 были получены из заплаты p_3 путем сужения и расширения ее соответственно в проксимальной части. Оба варианта приводят к ухудшению значений показателей в табл. 4.

Заплаты p_7 и p_8 были получены из p_2 . Заплата p_7 – это p_2 , суженная в своей проксимальной части. Заплата p_8 представляет собой укороченную на 0,7 см p_2 , имплантированную в разрез, с непосредственным закрытием разреза в проксимальной части с уменьшением окружности просвета сосуда на 0,1 см. В обоих случаях наблюдается небольшое улучшение показателей в зоне z_1 и ухудшение в зоне z_2 по сравнению с заплатой p_2 .

Заплата p_9 получена из p_4 сужением ее в дистальной части, и это не приводит к сколь-нибудь существенным изменениям значений показателей в табл. 4.

Таким образом, в нашем случае лучшие результаты демонстрируют заплаты средней ширины без сужений и расширений на концах. Наилучшим вариантом является выбор заплаты p_3 , а наихудшим – закрытие разреза без заплаты.

Обобщая результаты настоящей статьи, следует заметить высокую перспективу представленного метода компьютерного моделирования в персонализированном подборе оптимальной заплаты для имплантации в артериотомное отверстие. Как показали предыдущие исследования, данный способ позволяет не только рассчитать деформацию гемодинамических показателей в каротидной бифуркации, но и предсказать вероятность развития рестеноза в той или иной зоне [11–13]. Продемонстрированный метод в будущем сможет стать основой для индивидуального подхода в выборе размеров и формы заплаты, что сократит число неблагоприятных кардиоваскулярных событий за счет профилактики потери просвета сосуда и повторных инсультов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рассматриваемом случае установлено, что ширина имплантированной заплаты, приблизительно равная 3 мм, обеспечивает оптимальный гемодинамический результат. Отклонения от этого медианного значения как в большую, так и в меньшую стороны ухудшают гемодинамику, а отсутствие заплаты дает наихудший из рассмотренных результатов. Предложенная методика может помочь в экспериментальном подборе заплаты.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Казанцев АН, Тарасов РС, Бурков НН, Шаббаев АР, Лидер РЮ, Миронов АВ. Каротидная эндартерэктомия: трехлетние результаты наблюдения в рамках одноцентрового регистра. *Ангиология и сосудистая хирургия*. 2018; 24 (3): 101–108. Kazantsev AN, Tarasov RS, Burkov NN, Shabaev AR, Leader RYu, Mironov AV. Carotid endarterectomy: three-year follow-up in

- a single-center registry. *Angiology and vascular surgery*. 2018; 24 (3): 101–108. [In Russ, English abstract].
2. Казанцев АН, Тарасов РС, Бурков НН, Волков АН, Грачев КИ, Яхнис ЕЯ и др. Госпитальные результаты чрескожного коронарного вмешательства и каротидной эндартерэктомии в гибридном и поэтапном режимах. *Ангиология и сосудистая хирургия*. 2019; 25 (1): 101–107. Kazantsev AN, Tarasov RS, Burkov NN, Volkov AN, Grachev KI, Yakhnis EYa et al. Hospital results of percutaneous coronary intervention and carotid endarterectomy in hybrid and phased modes. *Angiology and vascular surgery*. 2019; 25 (1): 101–107. [In Russ, English abstract]. doi: 10.33529/angio2019114.
 3. Zhong L, Zhang JM, Su B et al. Application of Patient-Specific Computational Fluid Dynamics in Coronary and Intra-Cardiac Flow Simulations: Challenges and Opportunities. *Front Physiol*. 2018; 9: 742. doi: 10.3389/fphys.2018.00742.
 4. Gijssen F, Katagiri Y, Barlis P et al. Expert recommendations on the assessment of wall shear stress in human coronary arteries: existing methodologies, technical considerations, and clinical applications. *Eur Heart J*. 2019; 40 (41): 3421–3433. doi: 10.1093/eurheartj/ehz551.
 5. Borisov VG, Zakharov YN, Shokin YI et al. Numerical Method for Predicting Hemodynamic Effects in Vascular Prostheses. *Numer Analys*. 2019; 12: 326–337. doi: 10.1134/S1995423919040025.
 6. Harrison GJ, How TV, Poole RJ, Brennan JA, Naik JB, Vallabhaneni SR, Fisher RK. Closure technique after carotid endarterectomy influences local hemodynamics. *J Vasc Surg*. 2014; 60 (2): 418–427. doi: 10.1016/j.jvs.2014.01.069.
 7. Geers AJ, Morales HG, Larrabide I, Butakoff C, Bijlenga P, Frangi AF. Wall shear stress at the initiation site of cerebral aneurysms. *Biomech Model Mechanobiol*. 2017; 16 (1): 97–115. doi: 10.1007/s10237-016-0804-3.
 8. Steinman DA. Image-based computational fluid dynamics modeling in realistic arterial geometries. *Ann Biomed Eng*. 2002; 30 (4): 483–497. doi: 10.1114/1.1467679.
 9. Hoskins PR, Hardman D. Three-dimensional imaging and computational modelling for estimation of wall stresses in arteries. *Br J Radiol*. 2009 Jan; 82 Spec No 1: S3–17. doi: 10.1259/bjr/96847348.
 10. Avrahami I, Raz D, Bash O. Biomechanical Aspects of Closing Approaches in Postcarotid Endarterectomy. *Comput Math Methods Med*. 2018; 2018: 4517652. doi: 10.1155/2018/4517652.
 11. Казанцев АН, Бурков НН, Захаров ЮН, Борисов ВГ, Лидер РЮ, Баяндин МС, Ануфриев АИ. Персонализируемая реваскуляризация головного мозга: метод компьютерного моделирования зоны реконструкции для проведения каротидной эндартерэктомии. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2020; (6): 71–75. Kazantsev AN, Burkov NN, Zakharov YuN, Borisov VG, Lider RYu, Bayandin MS, Anufriev AI. Personalized brain revascularization: a method of computer modeling of the reconstruction area for carotid endarterectomy. *Surgery*. 2020; (6): 71–75. [In Russ, English abstract]. doi: 10.17116/hirurgia202006171.
 12. Казанцев АН, Бурков НН, Борисов ВГ, Захаров ЮН, Сергеева ТЮ, Шабаев АР и др. Компьютерное моделирование гемодинамических показателей в бифуркации сонных артерий после каротидной эндартерэктомии. *Ангиология и сосудистая хирургия*. 2019; 25 (3): 107–112. Kazantsev AN, Burkov NN, Borisov VG, Zakharov YN, Sergeeva Tyu, Shabaev AR et al. Computer modeling of hemodynamic parameters in the bifurcation of the carotid arteries after carotid endarterectomy. *Angiology and Vascular Surgery*. 2019; 25 (3): 107–112. [In Russ, English abstract]. doi: 10.33529/ANGIO2019311.
 13. Казанцев АН, Виноградов РА, Захаров ЮН, Борисов ВГ, Чернявский МА, Кравчук ВН и др. Прогнозирование рестеноза после каротидной эндартерэктомии методом компьютерного моделирования. *Неотложная медицинская помощь. Журнал им. Н.В. Склифосовского*. 2021; 10 (2): 401–407. Kazantsev AN, Vinogradov RA, Zakharov YN, Borisov VG, Chernyavsky MA, Kravchuk VN et al. Prediction of restenosis after carotid endarterectomy by computer simulation. *Emergency medical care. Journal them. N.V. Sklifosovsky*. 2021; 10 (2): 401–407. doi: 10.23934/2223-9022-2021-10-2-401-407.

Статья поступила в редакцию 25.05.2020 г.
The article was submitted to the journal on 25.05.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2021-4-143-150

ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ БИАТРИАЛЬНОЙ МИКСОМЫ

А.С. Иванов, Н.П. Можейко, Г.А. Акопов, М.К. Луговский, О.О. Шелест

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

Миксома сердца является первичной опухолью, гистологически образованной мезенхимальными мультипотентными клетками субэндокарда. Среди всех типов новообразований сердца взрослой группы пациентов доля миксом составляет 50%. Наиболее частым анатомическим расположением миксомы является левое предсердие. Крайне редко миксомы могут располагаться в нескольких камерах сердца. В литературе описано всего около 100 случаев наблюдения пациентов с миксоматозным поражением обоих предсердий. В данной статье коллектив авторов представляет успешный клинический случай лечения молодой пациентки с биатриально расположенной миксомой.

Ключевые слова: миксома сердца, новообразование сердца, опухоль сердца, биатриальная миксома, миксома предсердий, семейная миксома, болезнь Карней, диагностика миксом, история хирургии опухолей сердца.

SURGICAL TREATMENT OF BIATRIAL MYXOMA

A.S. Ivanov, N.P. Mozheiko, G.A. Akopov, M.K. Lugovskiy, O.O. Shelest

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

Cardiac myxoma is a primary tumor histologically formed by multipotent subendocardial mesenchymal cells. Myxomas account for approximately 50% of all cardiac tumors in adults. Myxomas are most commonly located in the left atrium. Very rarely, myxomas can be located in several heart chambers. Only about 100 cases of patients with myxomatous lesions of both atria have been described in the literature. In this paper, we present a successful clinical case of a young patient with biatrial myxomas.

Keywords: cardiac myxoma, cardiac neoplasm, cardiac tumor, biatrial myxoma, atrial myxoma, familial myxoma, Carney complex, myxoma diagnosis, history of heart tumor surgery.

Первое описание опухоли сердца было сделано итальянским анатомом и хирургом эпохи Возрождения Matteo Realdo Colombo. В книге «De re anatomica», изданной в 1559 году учениками анатома после его смерти, дано следующее описание: «In Cardinali Gambaro Brixiano tumorem praedurum, et ad ovi magnitudinem in sinistro cordis ventricolo Romae vidi, ubi illum in affinium gratiam dissecarem». Дословный перевод цитаты гласит: «В Риме я увидел солидную опухоль, большую, как яйцо, в левом желудочке Cardinal Gambaro, аутопсию которого я выполнил для его родственников») [1].

Столетиями опухоли сердца были случайными находками при вскрытиях умерших пациентов. В статье по обзору 150 случаев выявления опухолей сердца на аутопсии, выпущенной в 1951 году, Richard Prichard писал: «Самая часто выявляемая опухоль, миксома, еще никогда не была диагностирована до смерти пациента» [2].

В этом же году Goldberg и коллеги первыми поставили прижизненный диагноз миксомы левого предсердия. Пациентом был мальчик возраста 3,5 года с клиникой остаточной слабости в правой половине тела после приходящего гемипареза. К моменту проведения ангиоэнтеркулографии и

Для корреспонденции: Луговский Максим Константинович. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (926) 590-62-05. E-mail: livertranspl@mail.ru

Corresponding author: Maksim Lugovskiy. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (926) 590-62-05. E-mail: livertranspl@mail.ru

визуализации опухоли пациент уже перенес 4 госпитализации. Кроме слабости в конечностях при физикальном обследовании пациента отмечен отчетливый систолический шум на верхушке сердца. Хирургическое лечение ребенка было отложено ввиду большого риска и ожидания доработки аппарата искусственного кровообращения. Тем не менее 7 месяцев спустя ребенок с клиническими признаками отека легких был оперирован по экстренным показаниям. Операция закончилась неудачей, гистологическая картина резецированной опухоли соответствовала миксому сердца [3]. Кардиоангиография не стала методикой выбора при диагностике опухолей сердца ввиду ряда существенных недостатков. Эта диагностическая процедура проводилась только в крупных медицинских центрах, была высокоинвазивна, болезненна и малодоступна для широкого круга населения. В 1959 году была получена первая эхокардиографическая визуализация внутрисердечной опухоли, что, безусловно, стало прорывом в лечении, значительно упростив диагностику этой болезни [4]. Первые успешные операции по резекции новообразований сердца и перикарда были выполнены на работающем сердце. В 1936 году С. Beck резецировал внутривнутриперикардальную тератому [5]. В 1951 Е. Маеуг доложил об успешной резекции эпикардальной липомы [6]. Все попытки резекций опухолей, локализованных внутри камер сердца, заканчивались смертью больного. Наиболее удачная попытка была предпринята в 1952 году Bahnson. Операция выполнялась в условиях гипотермии. Хирург выполнил правую атриотомию, изолировав поток крови полых вен от правого предсердия, что позволило удалить крупную миксому правого предсердия. К сожалению, пациент погиб спустя 24 дня от трансфузионных осложнений [7]. Безусловным прорывом стало применение аппарата искусственного кровообращения. Это позволило получить необходимое время для резекции новообразования под прямым визуальным контролем. Первую операцию по резекции опухоли в условиях искусственного кровообращения провел один из пионеров мировой кардиохирургии, Clarence Crafoord. В 1954 году к нему была направлена женщина с атипичной клиникой митрального стеноза. Ее беспокоили головокружение, транзиторные ишемические атаки, но был сохранен синусовый ритм сердца, что удивило профессора. Пациентке была выполнена трансторакальная пункция задней стенки левого предсердия 18-сантиметровой иглой. Так описывает свои воспоминания от диагностической процедуры доктор Vjork: «Мы получили очень четкое изображение миксомы, фиксированной на перепончатой части межпредсердной перегородки. Во время диастолы она проваливалась вниз, перекрывая отверстие митрального клапана. Этот случай научил нас проводить дифференциальный диагноз с мик-

сомой сердца при клинике митрального стеноза и сохраненном синусовом ритме сердца». Операция по удалению этой миксомы стала первым случаем применения аппарата искусственного кровообращения в Швеции. Она проводилась в условиях охлаждения пациентки до 28 °С, на фибриллирующем сердце через левый боковой торакотомный доступ. После выполнения атриотомии опухоль была разделена на три части и удалена. Пациентка оставалась на операционном столе до утра следующего дня. Спустя 38 лет она описала свое состояние, как великолепное [8]. Долгое время операции в условиях искусственного кровообращения, гипотермии, на фибриллирующем сердце были «золотым стандартом» кардиохирургии. Спустя некоторое время после этой операции появилось множество публикаций об успешных резекциях внутрисердечных новообразований. В СССР первую операцию по удалению миксомы правого предсердия в условиях искусственного кровообращения провел академик Иван Степанович Колесников в 1962 году [9]. Немного позже, в 1967 году, Yipintsoi et al. описали первый случай успешного удаления биатриальной миксомы [10].

Миксомы являются наиболее часто встречаемой первичной опухолью сердечной ткани у взрослой группы пациентов с распространенностью в генеральной популяции около 0,0017%. Среди всех новообразований сердца доля миксом составляет 50% у старшей возрастной группы и 15% у младшей возрастной группы [11]. Пиковая диагностическая встречаемость приходится на возраст 30–40 лет [12]. Обычно образование крепится на ножке к межпредсердной перегородке со стороны левого предсердия (60–88%). В 3–4 раза реже встречаются миксомы правого предсердия (4–28%). Миксомы нескольких анатомических локализаций составляют 5% всех наблюдений, а биатриальная локализация – всего 2,5% [13]. Биатриальная миксома обычно прикреплена ножкой в зоне овальной ямки межпредсердной перегородки и растет в направлении полостей обоих предсердий [14]. В литературе также описаны случаи локализации миксом на внутренней стенке легочной артерии, желудочках, полых венах, на атриоventрикулярных клапанах [15, 16]. У 5% пациентов выявляется семейная форма заболевания – мультифокальный опухолевый комплекс с аутосомно-доминантным типом наследования. Пациенты этой группы имеют аномальный ДНК-генотип хромосомного набора. Как правило, они молодого возраста [17]. При семейной форме выявлено отсутствие корреляции встречаемости между мужским и женским полом. Значительно чаще, чем при sporadicческой форме, у таких пациентов встречается миксоматозное поражение нескольких камер сердца. Несмотря на идентичность гистологии, частота рецидивирования после хирургической резекции при семейной форме выше и

наблюдается в 21–67% случаев. Выделяют семейный синдром, наследуемый по аутосомному X-сцепленному типу наследованию, названный в честь ирландского врача J Aiden Carney. В этот комплекс входит рецидивирующая миксома сердца, пролиферативная патология органов эндокринной системы, поражения кожи: невусы, пигментные пятна или кожные миксомы. Эндокринные нарушения переменны, обычно представлены одним из следующих пролиферативных нарушений: опухолью коры надпочечников, фиброаденомой молочной железы, аденомой гипофиза, опухолями щитовидной железы, клеток Сертоли семенников у мужчин или их комбинацией [18, 19]. Диагноз «болезнь Carney» с наибольшей вероятностью достоверен при наличии двух или более диагностических находок. Биатриальная миксома может быть частью болезни Carney, поэтому пациенту с таким диагнозом необходима консультация эндокринолога и дерматолога [20].

Размер миксом в среднем варьирует от 1 до 12 см в диаметре, а масса – от 0,6 до 80 г. Средняя масса чаще колеблется в промежутке 50–60 г. Макроскопическая картина миксом разнообразна. Г.И. Цукерман с соавт. (1999) в зависимости от формы опухоли различают три вида миксом: 1) овоидные плотные образования (овальные, яйцевидные, шаровидные); 2) дольчатые образования, состоящие из нескольких крупных долей; 3) ворсинчатые образования (гроздевидные), напоминающие по виду гроздь винограда. По данным литературы, миксомы чаще имеют овальную форму с дольчатым или гладким строением. Цвет опухоли варьирует от белого, желтоватого до темно-коричневого, часто снаружи опухоль покрыта тромботическими массами. Мобильность опухоли зависит от места и площади ее прикрепления, а также количества коллагена межклеточного матрикса в теле и ножке образования. Большинство опухолей имеют короткую широкую ножку, реже встречаются миксомы на широком основании [21]. Гистологически миксомы представлены мезенхимальными мультипотентными клетками-предшественниками субэндокарда, различной формы, расположенными изолированно в межклеточном матриксе, содержащем ретикулярные и коллагеновые волокна, мукополисахариды [11]. Кроме клеток миксом в новообразовании могут также встречаться клетки гладкой мышечной ткани, ретикулоциты и клетки крови. В 10% случаев наблюдений в миксоме можно обнаружить депозиты кальция, железистые структуры [22]. В основании миксомы находятся сосуды, которые связывают опухоль с субэндокардом сердца [23]. Миксомы, как правило, обладают экзофитным ростом [24].

Ранняя диагностика внутрисердечных новообразований представляет большую сложность ввиду частого отсутствия симптомов либо их неспецифичности [25, 26].

Находки при клиническом обследовании пациента с миксомой зависят от размера, локализации и подвижности опухоли. При биатриальной локализации возможны эпизоды эмболии фрагментами опухоли или наслаивающимися на ее поверхности тромботическими массами бассейнов обоих кругов кровообращения. Эмболизация малого круга может сопровождаться клиникой инфаркта легкого с кашлем, кровохарканьем и другими характерными симптомами. Пациенты с состоявшейся эмболизацией большого круга кровообращения имеют неврологическую симптоматику либо могут обратиться с жалобами на болезненность мышц или суставов конечностей, как правило, ишемической этиологии. При аускультации пациентов с подвижной опухолью можно выслушать третий тон сердца, причиной которого является удар или скольжение опухоли по створкам атриовентрикулярного клапана. Крупные массы, обтурирующие просвет правых отделов сердца, могут мимикрировать под клиническую картину синдрома верхней полой вены. Обструкция опухолей левого атриовентрикулярного отверстия обычно сопровождается клиникой транзиторных ишемических атак, острого отека легких, а также может привести к внезапной сердечной смерти [27]. У некоторых пациентов присутствуют иммунно-конституциональные симптомы: лихорадка, потеря массы тела, ожирение, слабость, миалгия и артралгия. Эти симптомы сопровождаются изменениями в общем анализе крови: эритроцитозом, лейкоцитозом или, напротив, гемолитической анемией, тромбоцитопенией, а также повышением СОЭ, гипергаммаглобулинемией. Причиной может быть выработка клетками опухоли или ее метастазами IL-6 [28–30].

Самым широко распространенным методом выявления опухолей сердца является эхокардиография, обладающая 100% чувствительностью при диагностике миксом камер сердца. Транспищеводная эхокардиография позволяет получить наиболее точную информацию о размерах опухоли, месте ее прикрепления, мобильности. При выполнении транспищеводной кардиографии можно обнаружить новообразования, которые не были выявлены при трансторакальном исследовании, мельчайшие опухоли диаметром от 1 до 3 мм [31]. При возможности всем пациентам с выявленным новообразованием сердца необходимо проводить компьютерную и магнитно-резонансную томографию. Полученные данные позволяют оценить структуру опухоли, ее плотность и степень инвазии в окружающие ткани, что важно при проведении дифференциальной диагностики миксом с другими опухолями сердца. Несмотря на то что эхокардиография в настоящее время вытеснила рентген-контрастное исследование сердца, его обязательно выполнять всем пациентам старше сорока лет для диагностики поражения коронарного русла.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

После планового диспансерного осмотра по месту жительства в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» была направлена пациентка 33 лет. Она вела активный образ жизни, работала старшей медицинской сестрой, у нее полностью отсутствовали жалобы на самочувствие. При физикальном обследовании и аускультации не обнаружено никаких диагностических находок. После выполнения эхокардиографии выявлены два внутрисердечных новообразования, прикрепленных к межпредсердной перегородке. Обе опухоли были подвижны, пролабировали внутрь желудочков через соответствующие по локализации атриовентрикулярные клапаны во

время диастолы сердца. Для исключения вторичного опухолевого генеза и выявления метастазов была выполнена компьютерная томография грудной клетки и брюшной полости, которые показали отрицательный результат. Учитывая подвижность выявленной опухоли, вероятность эмболизации фрагментами, пациентка оперировалась в срочном порядке. Перед началом выполнения операции была выполнена трансопищеводная эхокардиография с установлением четкой локализации, уточнением информации о месте прикрепления опухоли и ее размерах (рис. 1). В данном случае опухоль была локализована биатриально, крепилась на межпредсердной перегородке в области овальной ямки. Размеры части, располага-

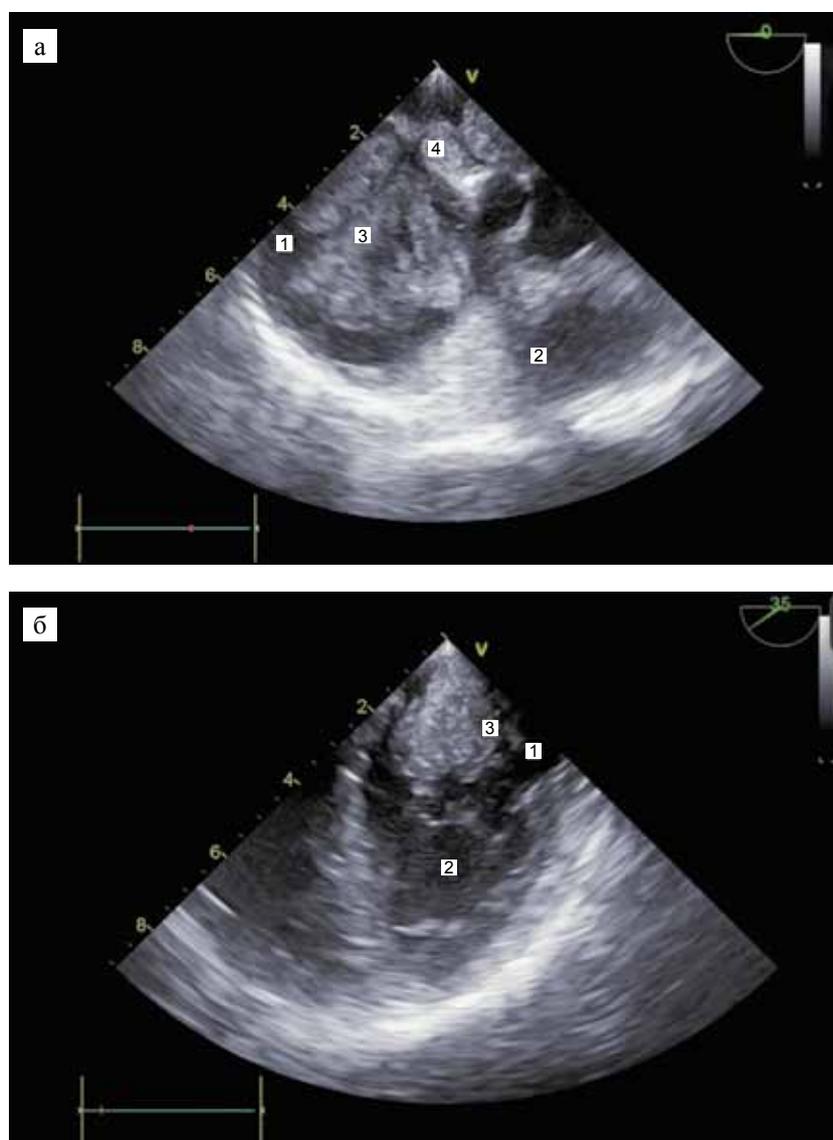


Рис. 1. Трансопищеводная эхокардиография: а – правые отделы сердца (1 – полость правого предсердия; 2 – полость правого желудочка; 3 – опухолевые массы; 4 – ножка опухоли); б – левые отделы сердца (1 – полость левого предсердия; 2 – полость левого желудочка; 3 – опухолевые массы)

Fig. 1. Transesophageal echocardiography: а – right heart chambers (1 – right atrial cavity; 2 – right ventricular cavity; 3 – tumor masses; 4 – tumor stalk); б – left heart chambers (1 – left atrial cavity; 2 – left ventricular cavity; 3 – tumor masses)

ющейся в правом предсердии, 63×49 мм. Размеры левой части опухоли: 35×24 мм. В качестве хирургического доступа к сердцу была выбрана полная срединная стернотомия. После подключения аппарата искусственного кровообращения по схеме «полые вены – аорта» и инфузии в корень аорты одной порции кровяной кардиopleгии по протоколу Калафиори была выполнена атриотомия правого предсердия в проекции опухоли (рис. 2). Часть опухоли, расположенная в правом предсердии, представляла собой мультилобулярную темно-коричневую массу желатинообразной консистенции, покрытую тромботическими массами, которая крепилась ножкой площа-

дью 1 см^2 к межпредсердной перегородке в области овальной ямки. Из-за крупного размера опухоли и ее консистенции было принято решение резецировать опухоль в два этапа. Первым этапом была выполнена прецизионная резекция правого компонента опухоли с тромботическими массами. Затем дугообразным разрезом с отступом 5 мм от ножки была вскрыта межпредсердная перегородка. Вместе с ее частью иссечен левый компонент опухоли (рис. 3). После удаления опухоли была выполнена тщательная ревизия камер на предмет оставшихся фрагментов и других очагов ее локализации. Предсердия и желудочки многократно промывались холодным физиологическим

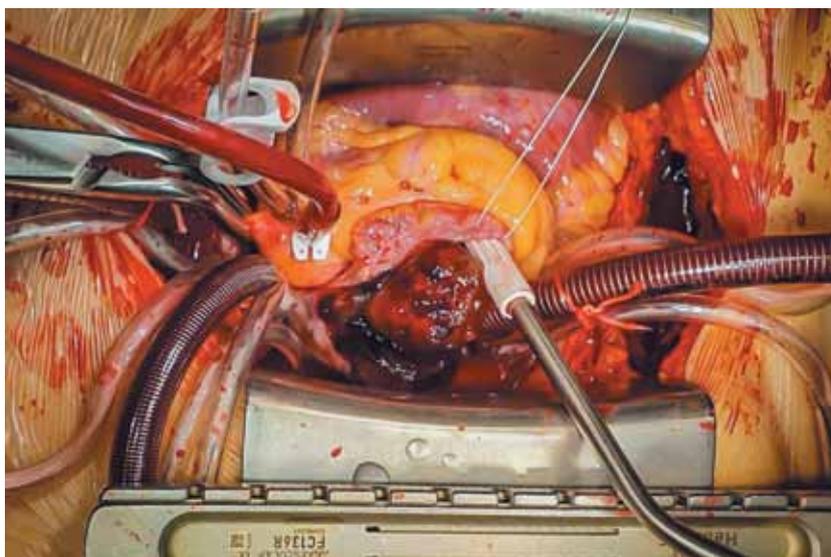


Рис. 2. Интраоперационная фотография миксоматозных масс с тромботическими наложениями, выполненная в процессе проведения правой атриотомии

Fig. 2. Intraoperative photograph of myxomatous masses with thrombotic overlays, taken during right atriotomy



Рис. 3. Интраоперационная фотография иссеченных фрагментов биатриальной миксомы: а – фрагмент из левого предсердия с ножкой; б – фрагмент из правого предсердия с тромботическими массами

Fig. 3. Intraoperative photograph of excised fragments of the biatrial myxoma: а – left atrial fragment with pedicle; б – right atrial fragment with thrombotic masses

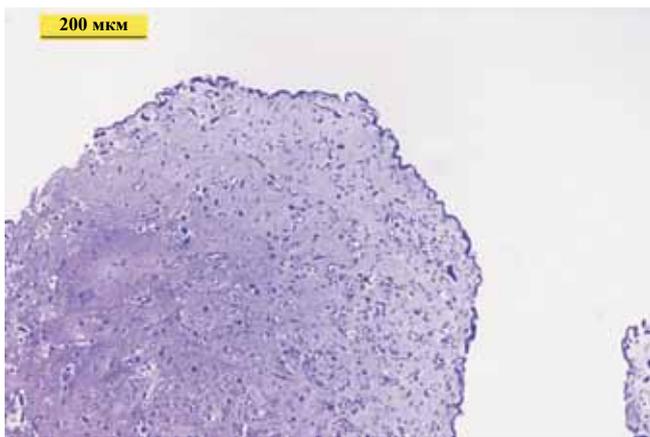


Рис. 4. Паренхима миксомы. Образование папиллярного вида, состоящее из вытянутых отростчатых клеток с крупными овальными и веретенообразными гиперхромными ядрами, а также окружающего миксоидного матрикса. Окраска по Массону, $\times 20$

Fig. 4. Myxoma parenchyma. A papillary-type formation consisting of elongated spinous cells with large oval and spindle-shaped, fusiform hyperchromatic nuclei, as well as the surrounding myxoid matrix. Masson's trichrome stain, 200 μm scale, 20 \times magnification

раствором для профилактики эмболии. Основной этап операции закончен пластикой межпредсердной перегородки заплатой из ксеноперикарда. После снятия зажима с аорты сердце самостоятельно восстановило синусовый ритм. Транспицевографическое исследование, выполненное после отключения аппарата искусственного кровообращения, показало отсутствие регургитации на атриовентрикулярных клапанах, сброса крови на уровне межпредсердной перегородки. Время искусственного кровообращения составило 42 минуты, время ишемии миокарда – 28 мин. Резецированные опухолевые массы отправлены на гистологическое исследование. Результат соответствовал гистопатологическому строению миксомы сердца (рис. 4). Основную массу новообразования составляли сателлитные клетки миксомы, воспалительные клетки и большое количество окружающей миксоматозной стромы. В области основания миксомы были выявлены собственные сосуды, питающие новообразование (рис. 5). Правопредсердная часть миксомы была покрыта тромботическими массами (рис. 6).

Результаты, полученные при выполнении трансторакальной эхокардиографии, соответствовали контрольному транспицевографическому исследованию. Послеоперационный период проходил без осложнений. Пациентка была выписана из стационара на 7-е послеоперационные сутки.

Миксома обоих предсердий является очень редким клиническим случаем. В настоящее время в литературе описано около 100 наблюдений. Цель

данной статьи – описание собственного опыта хирургического лечения пациента с миксомой подобной локализации. Следует отметить, что частота эмболизации фрагментами опухоли или тромботическими массами при миксоматозном поражении камер сердца, по данным литературы, достигает 40% [30]. По этой причине пациенты с установленным диагнозом должны быть обследованы в кратчайшие сроки и оперированы в срочном порядке.

Множественные миксомы камер сердца чаще являются наследуемой патологией. При ее выявлении пациенту необходимо получить консультацию врача-эндокринолога и дерматолога. Для исключения диагноза семейной миксомы может потребоваться обследование ближайших родственников больного.

Несмотря на прецизионное удаление опухолевых масс, после операции существует вероятность рецидивирования миксомы сердца с частотой 4–7% при спорадических случаях и 10–21% при семейной форме [32]. Частота рецидива значительно выше у молодой группы пациентов. Обычно рецидивирование опухоли происходит в период 5 лет после выполнения первой операции по ее резекции [33]. По этим причинам в отдаленном послеоперационном периоде пациентам с миксомой сердца любой локализации

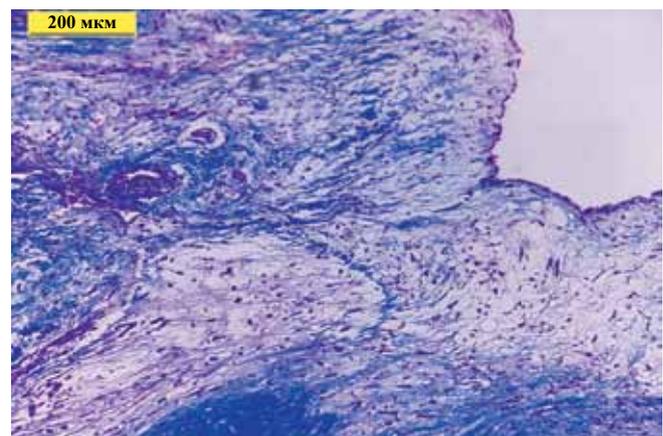


Рис. 5. Основание миксомы. В основании ножки видны сосуды, окруженные солидными структурами и однослойными комплексами, состоящими из округлых, звездчатых и веретеновидных клеток со слабо базофильным ядром. По всем полям визуализируются рассеянные мононуклеары, крупноочаговые скопления эритроцитов, нити фибрина с примесью зерен гемосидерина. Окраска по Массону, $\times 20$

Fig. 5. Base of myxoma. Vessels surrounded by solid structures and unilayer complexes consisting of rounded, stellate, and spindle-shaped cells with weakly basophilic nuclei are seen at the base of the stalk. Scattered mononuclear cells, large focal clusters of erythrocytes, fibrin filaments with admixture of hemosiderin grains were visualized in all fields. Masson's trichrome stain, 200 μm scale, 20 \times magnification

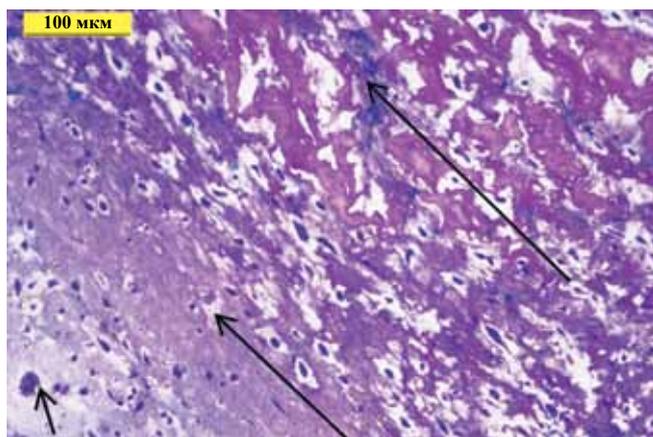


Рис. 6. Граница прилежания тромба к миксому. Между стрелками прослеживается граница прилежания тромботических масс, состоящих из фибрина, неизмененных и сладжированных эритроцитов, лейкоцитов. Окраска по Массону, $\times 40$

Fig. 6. Boundary of thrombus adherence to myxoma. The border of adhering thrombotic masses consisting of fibrin, unchanged and lysed red blood cells, leukocytes is traced between the arrows. Masson's trichrome stain, 100 μm scale, 40 \times magnification

необходимо проходить периодическое обследование с выполнением эхокардиографии не реже 1 раза в год.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Columbus M.R. De Re Anatomica, Libri XV. Venice: N Bevilacque, 1559: 269.
2. Prichard RW. Tumors of the heart: review of the subject and report of 150 cases. *AMA Arch Pathol.* United States, 1951; 51 (1): 98–128 PMID 14789340.
3. Goldberg BHP, Glenn F, Dotter CT. Myxoma of the Left Atrium Diagnosis Made during Life with Operative and Post-mortem Findings. 2015; VI: 762–767. PMID: 12988355. doi: 10.1161/01.cir.6.5.762.
4. Effert S, Domanig E. Diagnosis of intra-auricular tumors & large thrombi with the aid of ultrasonic echography. *Dtsch Med Wochenschr.* Germany, 1959; 84 (1): 6–8. PMID: 13619382. doi: 10.1055/s-0028-1113531.
5. Beck CS. An Intrapericardial Teratoma and a Tumor of the Heart: Both Removed Operatively. *Ann Surg.* 1942; 116 (2): 161–174. PMID: 17858078. doi: 10.1097/00000658-194208000-00001.
6. Maurer ER. Successful removal of tumor of the heart. *J Thorac Surg.* United States, 1952; 23 (5): 479–485. PMID: 14928267.
7. Bahnson HT, Newman EV. Diagnosis and surgical removal of intracavitary myxoma of the right atrium. *Bull Johns Hopkins Hosp.* United States, 1953; 93 (3): 150–163. PMID: 13094264.
8. Chitwood WR. Clarence Crafoord and the first successful resection of a cardiac myxoma. *Ann Thorac Surg.* 1992; 54 (5): 997–998. PMID: 1417305. doi: 10.1016/0003-4975(92)90676-u.
9. Приходько ВП, Нуждин МД. Первичные опухоли сердца: история развития, современные принципы и методы хирургического лечения. *Патология кровообращения и кардиохирургия.* 2011; 4: 65–70. Pryhodko VP, Nyjdin MD. Primary cardiac tumors: history of development and methods of surgical treatment. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiokhirurgiya.* 2011; 4: 65–70. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/pervichnye-opuholi-serdtsa-istoriya-razvitiya-sovremennye-principy-i-metody-hirurgicheskogo-lecheniya>.
10. Yipintsoi T et al. Bilateral atrial myxoma with successful removal. Report of a case. *Dis Chest.* 1967; 52 (6): 828–834. PMID: 6064988. doi: 10.1378/chest.52.6.828.
11. Reynen K. Cardiac myxomas. *N Engl J Med.* United States, 1995; 333 (24): 1610–1617. PMID: 7477198. doi: 10.1056/NEJM199512143332407.
12. Carney JA. Differences between nonfamilial and familial cardiac myxoma. *American Journal of Surgical Pathology.* 1985; 9 (1): 53–55. PMID: 3970298. doi: 10.1097/00000478-198501000-00009.
13. Peachell JL et al. Biatrial myxoma: A rare cardiac tumor. *Ann Thorac Surg.* 1998; 65 (6): 1768–1769. PMID: 9647099. doi: 10.1016/s0003-4975(98)00206-9.
14. Imperio J et al. The Distribution Patterns of Biatrial Myxomas. *Ann Thorac Surg.* The Society of Thoracic Surgeons, 1980; 29 (5): 469–473. PMID: 7377889. doi: 10.1016/s0003-4975(10)61682-7.
15. Bortolotti U et al. Right atrial myxoma originating from the inferior vena cava. *Ann Thorac Surg.* The Society of Thoracic Surgeons, 1990; 49 (6): 1000–1002. PMID: 2196010. doi: 10.1016/0003-4975(90)90889-e.
16. Croti UA et al. Right ventricle and tricuspid valve myxoma. *Brazilian J Cardiovasc Surg.* 2008; 23 (1): 142–144. PMID: 18719845. doi: 10.1590/s0102-76382008000100026.
17. Van Gelder HM et al. Familial cardiac myxoma. *Ann Thorac Surg.* The Society of Thoracic Surgeons, 1992; 53 (3): 419–424. PMID: 1540058. doi: 10.1016/0003-4975(92)90261-2.
18. Havrankova E et al. Carney complex with biatrial cardiac myxoma. *Ann Thorac Cardiovasc Surg.* 2014; 20: 890–892. PMID: 24088910. doi: 10.5761/atcs.cr.13-00121.
19. Stratakis CA, Kirschner LS, Carney JA. Clinical and Molecular Features of the Carney Complex: Diagnostic Criteria and Recommendations for Patient Evaluation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86 (9): 4041–4046. PMID: 11549623. doi: 10.1210/jcem.86.9.7903.
20. Bennett WS, Skelton TN, Lehan PH. The complex of myxomas, pigmentation and endocrine overactivity. *Am J Cardiol.* 1990; 65 (5): 399–400. PMID: 4010501. doi: 10.1097/00005792-198507000-00007.
21. Луговский МК. Миксомы сердца: результаты хирургического лечения и клинико-морфологическая характеристика. Национальный исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов

- им. академика В.И. Шумакова Министерства здравоохранения РФ, 2017: 23–24. *Lygovskiy MK*. Myxomas of the heart: surgical treatment results and clinical and morphological characteristics. Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Ministry of health of the RF. 2017: 23–24.
22. *McAllister HA Jr*. Primary tumors and cysts of the heart and pericardium. *Curr Probl Cardiol*. 1979 May; 4 (2): 1–51. PMID: 230012. doi: 10.1016/0146-2806(79)90008-2.
23. *Ferrans VJ, Pk D, Roberts WC*. Structural features of cardiac myxomas: Histology, Histochemistry, and Electron Microscopy. *Hum Pathol*. 1973 Mar; 4 (1): 111–146. PMID: 4713680. doi: 10.1016/s0046-8177(73)80051-6.
24. *Krikler DM et al*. Atrial myxoma: a tumour in search of its origins. *Br Heart J*. 1992; 5: 89–91. PMID: 1531423. doi: 10.1136/hrt.67.1.89.
25. *Xiao Z et al*. A Typical Bilateral Atrial Myxoma: A Case Report. *Case Reports Cardiol*. 2012; 2012 (Figure 3): 1–3. PMID: 24826252. doi: 10.1155/2012/460268.
26. *Kuon E et al*. The challenge presented by right atrial myxoma. *Herz*. 2004; 29 (7): 702–709. PMID: 15580325. doi: 10.1007/s00059-004-2571-7.
27. *Vijan V, Vupputuri A, Chandrasekharan Nair R*. An Unusual Case of Biatrial Myxoma in a Young Female. *Case Reports Cardiol*. 2016; 2016: 1–3. PMID: 26881142. doi: 10.1155/2016/3545480.
28. *Saji T et al*. Increased serum interleukin-6 in cardiac myxoma. *Am Heart J*. United States, 1991; 122 (2): 579–580. PMID: 1858647. doi: 10.1016/0002-8703(91)91022-f.
29. *Kuroki MK et al*. Increased interleukin-6 activity in cardiac myxoma with serum interleukin-6 in cardiac myxoma with mediastinal lymphadenopathy. 2010; 34 (1): 31–38. PMID: 1286228. doi: 10.2169/internalmedicine.31.1207.
30. *Guhathakurta S, Riordan JP*. Surgical treatment of right atrial myxoma. *Texas Hear Inst J*. 2000; 27 (1): 61–63. PMID: 10830633.
31. *Samdarshi TE et al*. Transesophageal echocardiographic diagnosis of multicentric left ventricular myxomas mimicking a left atrial tumor. *J Thorac Cardiovasc Surg*. American Association for Thoracic Surgery, 1992; 103 (3): 471–474. PMID: 1545546.
32. *Turhan S et al*. Second recurrence of familial cardiac myxomas in atypical locations. *Can J Cardiol*. Elsevier, 2008; 24 (9): 715–716. PMID: 18787723. doi: 10.1016/s0828-282x(08)70671-8.
33. *Perek B et al*. Early and long-term outcome of surgery for cardiac myxoma: Experience of a single cardiac surgical centre. *Kardiol Pol*. 2011; 69 (6): 558–564. PMID: 21678290.

Статья поступила в редакцию 2.08.2021 г.
The article was submitted to the journal on 2.08.2021



ПОЗДРАВЛЯЕМ С ЮБИЛЕЕМ ДМИТРИЯ АНАТОЛЬЕВИЧА ГРАНОВА

20 ноября 2021 г. исполнилось 60 лет Дмитрию Анатольевичу Гранову – академику РАН, доктору медицинских наук, профессору, заслуженному врачу Российской Федерации.

Основная научная и практическая деятельность Д.А. Гранова связана с Российским научным центром радиологии и хирургических технологий им. ак. А.М. Гранова, в котором он является научным руководителем.

Следуя традициям, заложенным его отцом, академиком РАМН А.М. Грановым, Дмитрий Анатольевич внес значительный вклад в разработку и внедрение в клиническую практику новых технологий диагностики и лечения диффузных и очаговых заболеваний печени и поджелудочной железы. Сегодня такие методики, как комбини-

рованная артериопортальная химиоэмболизация злокачественных новообразований печени и масляная жировая химиоэмболизация опухолей поджелудочной железы, завоевали широкое международное признание и активно применяются во многих клиниках Санкт-Петербурга и России. Разработанная и обоснованная Д.А. Грановым тактика комбинированного хирургического лечения злокачественных опухолей печени позволила пересмотреть возможности лечения этой патологии и принципиально улучшила выживаемость больных.

Д.А. Гранов является организатором и руководителем программы трансплантации печени в РНЦРХТ, где она выполняется с 1998 г. Под его руководством и при непосредственном участии выполнено более 250 операций по пересадке печени. Д.А. Гранов впервые разработал и внедрил в клиническую практику малоинвазивные методики лечения гепатоцеллюлярного рака и холангиокарциномы, применяемые в качестве подготовки к трансплантации печени. Успешная пересадка печени таким пациентам стала возможной после проведения регионарной химиоэмболизации печеночной артерии, радиочастотной абляции в случае гепатоцеллюлярного рака, фотодинамической модификации при холангиокарциноме.

Дмитрий Анатольевич стал академиком РАН в 2019 г. по специальности «трансплантология», лауреатом премий Правительства Российской Федерации 2008 года за «трансплантацию печени как радикального метода тяжелых заболеваний печени у взрослых и детей и создание нового направления в отечественном здравоохранении» и 2018 года – за «разработку и внедрение минимально инвазивных операций в абдоминальной хирургии и онкологии».

Д.А. Гранов – автор 535 научных публикаций (в том числе 12 монографий и учебников), посвященных актуальным проблемам хирургии, онкологии, интервенционной радиологии и трансплантологии, 44 авторских свидетельств и патентов на изобретение и полезную модель.

Огромное внимание Д.А. Гранов уделяет педагогической деятельности и подготовке научных кадров. Под его руководством были успешно защищены 7 докторских и 12 кандидатских диссертаций, а также разработаны 7 программ последипломного образования по проблемам трансплантации печени для хирургов, онкологов, рентгенологов и врачей других специальностей.

Редакция журнала «Вестник трансплантологии и искусственных органов» с главным редактором академиком Сергеем Владимировичем Готье сердечно поздравляет талантливого хирурга и выдающегося ученого, опытного наставника, академика РАН Дмитрия Анатольевича Гранова с юбилеем и желает здоровья, долгой и плодотворной профессиональной деятельности и осуществления всех планов во имя пациентов, которые благодаря его деятельности получают реальную возможность жить, работать, растить детей.

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 виде одного файла Microsoft Word (шрифт Times New Roman, 12 pt через 1,5 интервала), который необходимо направить в электронную редакцию в соответствии с указаниями на сайте журнала. <https://journal.transpl.ru>.

Схема построения статьи

1. Титульная страница

Должна быть представлена на русском и английском языках и соответствовать шаблону:

- **Название статьи**

Англоязычное название должно быть грамотным с точки зрения английского языка, при этом полностью соответствовать по смыслу русскоязычному названию.

- **Авторы статьи**

При написании авторов статьи инициалы имени и отчества указываются перед фамилией. Ф. И. О. на английском языке необходимо писать так, как в заграничном паспорте или как в ранее опубликованных статьях в зарубежных журналах.

- **Название учреждения**

– Полное официальное название учреждения, город, страна. Наиболее полный список названий учреждений на русском и английском языках можно найти на сайте РУНЭБ eLibrary.ru

– Если в написании рукописи принимали участие авторы из разных учреждений, необходимо соотнести их названия с Ф. И. О. авторов путем добавления цифровых индексов в верхнем регистре после фамилии и перед названием учреждения.

- **Для корреспонденции**

Полностью указать фамилию, имя, отчество автора, с которым будет вестись переписка, адрес (с почтовым индексом), телефон, факс, e-mail.

Пример титульной страницы

Сравнительный анализ диагностической значимости панелей биомаркеров у реципиентов сердца в отдаленные сроки после трансплантации

О.П. Шевченко^{1,2}, А.В. Аксенова¹, А.А. Улыбышева^{1,3}, Н.П. Можейко¹, Е.А. Никитина¹, В.И. Орлов¹, Е.А. Стаханова¹, А.О. Шевченко^{1,2}

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

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

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

Для корреспонденции

Аксенова Александра Владимировна

Адрес:

Тел.:

E-mail:

Comparative analysis of diagnostic significance of biomarkers' panels in cardiac recipients in the long term period after transplantation

O.P. Shevchenko^{1,2}, A.V. Aksyonova¹, A.A. Ulybysheva^{1,3}, N.P. Mozheiko¹, E.A. Nikitina¹, V.I. Orlov¹, E.A. Stakhanova¹, A.O. Shevchenko^{1,2}

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

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

³ N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

For correspondence

Aksyonova Alexandra Vladimirovna

Address:

Tel.

E-mail:

2. Реферат

К каждой статье должен быть приложен реферат на русском и английском языках. Объем текста реферата для оригинальной статьи – не более 300 слов, для обзора литературы, клинического наблюдения – не более 200 слов. Реферат должен полностью соответствовать содержанию работы. Англоязычная версия реферата статьи должна по смыслу и структуре соответствовать русскоязычной и быть грамотной с точки зрения английского языка. Для перевода реферата не допускается использование электронных программ-переводчиков (например, Google Переводчик) без последующей редакции.

В реферате не следует употреблять аббревиатуры без предварительного раскрытия.

Реферат **оригинальной статьи** должен содержать следующие разделы:

Цель (*Objective*),

Материалы и методы (*Materials and methods*),

Результаты (*Results*),

Заключение (*Conclusion*).

В реферате следует представить наиболее существенные результаты проведенных исследований.

Нельзя писать: «*Проведен сравнительный анализ чувствительности и специфичности...*».

Следует писать: «*Чувствительность составила ...% и ...%, p = , специфичность соответственно ...% и ...%, p = ».*

3. Ключевые слова

В конце реферата должны быть приведены ключевые слова (*keywords*) на русском и английском языках. Для выбора ключевых слов на английском языке следует использовать тезаурус Национальной медицинской библиотеки США – Medical Subject Headings – MeSH. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh>).

4. Указание о конфликте интересов

Автор обязан уведомить редактора о реальном или потенциальном конфликте интересов, включив информацию о конфликте интересов в соответствующий раздел статьи. Если конфликта интересов нет, автор должен также сообщить об этом. Пример формулировки: «Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов».

Данная информация приводится перед текстом статьи.

5. Текст статьи

Оригинальная статья должна включать следующие разделы:

- Введение
- Материалы и методы
- Результаты
- Обсуждение
- Заключение
- Список литературы

Обзорная статья должна содержать анализ литературы с представлением современных источников (в основном за последние 5 лет).

Клиническое наблюдение должно быть хорошо иллюстрировано (отражать суть проблемы) и содержать обсуждение вопроса с использованием данных литературы.

Библиографические ссылки в тексте статьи обозначаются порядковым номером в квадратных скобках: [1], [2, 5], [14–18] и **в списке литературы представляются по порядку упоминания в тексте независимо от языка ссылки.**

Все величины, приведенные в статье, должны быть выражены или дублированы в единицах **СИ**.

6. Список литературы / References

Автор несет полную ответственность за точность данных, приведенных в приставленном списке литературы. В списке литературы ссылки на неопубликованные или находящиеся в печати работы не допускаются.

Список литературы представляется на отдельной странице. Ссылки на источники располагаются в порядке цитирования и приводятся на языке оригинала.

Названия журналов на русском языке в списке литературы не сокращаются. Если русскоязычный журнал имеет также название на английском языке, оно может быть указано в ссылке после транслитерированного названия. Названия иностранных журналов могут сокращаться в соответствии с вариантом сокращения, принятым конкретным журналом.

Если цитируемая статья имеет DOI (digital object identifier, цифровой идентификатор объекта) и/или PMID (PubMed), его/их необходимо указать в конце ссылки.

В ссылках на русскоязычные статьи, имеющие также название на английском языке, вначале приводится русское, а затем английское название. Если статья не имеет английского названия, ссылка приводится вначале на русском языке, а затем в транслитерированном виде, начиная на той же строке. Транслитерацию рекомендуется выполнять на сайте <http://www.translit.ru> в формате BGN.

В ссылке на неанглоязычные статьи после выходных данных необходимо указать язык публикации и наличие резюме на английском языке, например: [In Russ, English abstract].

Для составления описаний в списке литературы используется стандарт на библиографическую ссылку NLM – National Library of Medicine (http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html). Если количество авторов не превышает 6, в библиографическом описании указываются все авторы. Если количество авторов более 6, следует указать шесть первых авторов и добавить «и др.» (et al.).

Примеры библиографических описаний

1. *Статья из русскоязычного журнала, имеющая англоязычное название*

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, Филиппов ПЯ, Перлин ДВ, Кулачков СМ. Лечение стриктур мочеточника после трансплантации почки. *Урология и нефрология*. 1994; 3: 42–45. Trapeznikova MF, Filiptsev PYa, Perlin DV, Kulachkov SM. Lechenie striktur mochetochnika posle transplantatsii pochki. *Urologiya i nefrologiya*. 1994; 3: 42–45.
3. *Статья из англоязычного журнала*
Goldstein DJ, Oz MC, Rose EA. Implantable left ventricular assist devices. *N Engl J Med*. 1998; 339: 1522–1533.
4. *Англоязычная монография*
Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. *Medical microbiology*. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002.
5. *Русскоязычная монография*
Готье СВ, Константинов БА, Цирульникова ОМ. Трансплантация печени. М.: МИА (2008), 246 с. Gautier SV, Konstantinov BA, Tsi-rulnikova OM. *Transplantatsiya pecheni*. М.: МИА (2008), 246.
6. *Диссертация (автореферат диссертации)*
Орлова ОВ. Роль маркеров воспаления, тромбоза, неоангиогенеза и апоптоза в прогнозировании васкулопатии сердечного трансплантата: дис. ... докт. мед. наук. М., 2009, 84 с. Orlova OV. Rol' markerov vospaleniya, tromboza, neoangiogeneza i apoptoza v progno-

zirovanii vaskulopatii serdechnogo transplantata. [Dissertation]. М., 2009, 84.

7. *Ресурс в сети Internet*
Cancer-Pain.org [Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01 [updated 2002 May 16; cited 2002 Jul 9]. Available from: <http://www.cancer-pain.org/>.

Требования к таблицам и иллюстрациям

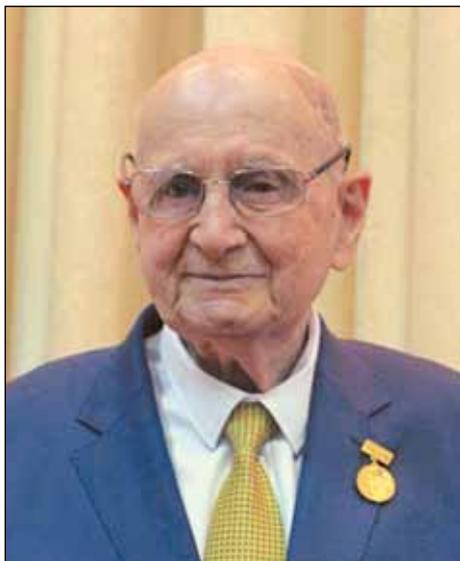
Таблицы следует помещать в текст статьи, они должны иметь нумерованный заголовок и четко обозначенные графы, удобные и понятные для чтения. Данные таблицы должны соответствовать цифрам в тексте, однако не должны дублировать представленную в нем информацию. Ссылки на таблицы в тексте обязательны.

Иллюстрации и рисунки должны быть представлены в электронном виде (формат JPEG или TIF с разрешением не менее 300 точек на дюйм и размером не менее 6 × 9 см), в объеме, близком к 1 Мб. Рисунок должен содержать все авторские обозначения – стрелки, цифры, указатели и пр. Подписи к рисункам должны быть представлены в отдельном файле с расширением *.doc. Сначала дается название, а затем объясняются все цифровые и буквенные обозначения.

Названия таблиц, иллюстраций и рисунков, а также объяснения к ним должны быть представлены на русском и английском языках.

Статьи направлять в редакцию журнала по адресу:

123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1, ФГБУ «НМИЦ ТИО им. академика В.И. Шумакова»,
«Вестник трансплантологии и искусственных органов»
E-mail: vestniktranspl@gmail.com



ПАМЯТИ ВИКТОРА СОЛОМОНОВИЧА КРЫЛОВА

2 декабря 2021 года ушел из жизни выдающийся российский хирург, ученый, доктор медицинских наук, профессор, один из создателей советской школы микрохирургии, крупнейший специалист в области сосудистой хирургии Виктор Соломонович Крылов.

В.С. Крылов родился 18 марта 1925 года в Перми в семье медиков. В 1945 году окончил Молотовский медицинский институт (сейчас Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера), до 1948 года проходил аспирантуру по топографической анатомии и оперативной хирургии. В течение десяти лет, вплоть до 1958 года, работал хирургом в Молотовской областной больнице (сейчас Пермский клинический кардиологический диспансер).

В период с 1959-го по 1973 год Виктор Соломонович Крылов руководил отделом хирургии сосудов кафедры факультетской хирургии

в Первом ММИ им. И.М. Сеченова, где защитил докторскую диссертацию на тему «Обходное шунтирование и протезирование кровеносных сосудов».

В 1964 году В.С. Крылов возглавил подготовку к первой пересадке почки, которую вместе с академиком Б.В. Петровским осуществил 15 апреля 1965 года. Вскоре под его руководством были организованы первые отделения по пересадке почки в Минске, Ташкенте, Саратове, Кемерово, Хабаровске, Иркутске, Ереване.

С 1973 года В.С. Крылов посвятил себя разработке и освоению нового для страны направления – реплантации фрагментов конечностей. Он разработал микрохирургическую методику операции на периферических нервах, занимался проблемами пересадки свободных тканевых лоскутов, протезированием венозных клапанов.

С 1975 года В.С. Крылов руководил отделом микрохирургии Всесоюзного научного центра хирургии АМН СССР.

За разработку экстренных микрохирургических операций по реплантации при травматических ампутациях пальцев кисти в 1982 году был награжден Государственной премией СССР.

В 1984 году В.С. Крылов провел первые операции по пересадке пальцев стопы на кисть.

С 1986-го по 1992 г. заведовал кафедрой микрохирургии в Центральном институте усовершенствования врачей в Москве (сейчас Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования).

С 1994 года Виктор Соломонович Крылов был консультантом по микрохирургии в Медицинском центре «Ассаф Арофе» и работал в качестве профессора Тель-Авивского университета (Израиль), а с 1998 года был избран почетным доктором Йенского университета им. Ф. Шиллера (Германия) и действительным членом общества хирургов и Международного союза ангиологов.

В 2002 году В.С. Крылов работал консультантом по флебологии и лимфологии Национального медицинского исследовательского центра кардиологии в Москве.

В 2015 году в знак признания заслуги В.С. Крылова в области развития трансплантации органов в нашей стране он был удостоен высшей награды профессионального сообщества трансплантологов России – медали «Академик В.И. Шумаков».

Редакция журнала «Вестник трансплантологии и искусственных органов» и профессиональная общественность выражают соболезнование родным и близким, коллегам и ученикам Виктора Соломоновича.

**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 30.12.21.

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 1234567890

ПЕРЕЧЕНЬ МАТЕРИАЛОВ, ОПУБЛИКОВАННЫХ В 2021 ГОДУ В ЖУРНАЛЕ «ВЕСТНИК ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ»

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ОРГАНОВ

- Д.В. Воронов, М.Г. Минина, А.К. Чомаев, И.М. Ильинский, О.М. Цирульникова*
Стеатоз печени доноров со смертью мозга № 1 (8–14)
- К.Ю. Кокина, Ю.О. Малиновская, Я.Г. Мойсюк*
Результаты трансплантации печени в эпоху современной противовирусной терапии гепатита С № 1 (15–23)
- А.В. Шабунин, И.П. Парфенов, П.А. Дроздов, О.Д. Подкосов, О.В. Паклина, И.В. Нестеренко, Д.А. Макеев*
Преимущества VAS-терапии перед стандартными методами лечения инфицированных и длительно не заживающих ран после трансплантации почки № 1 (24–29)
- С.А. Саховский, Е.А. Кальченко, Б.Л. Миронков*
Использование ротационной коронароангиографии у реципиентов сердца № 2 (8–12)
- Р.М. Курабекова, О.М. Цирульникова, О.Е. Гичкун, Г.А. Олещенко, И.Е. Пащикова, А.А. Бельченков, О.П. Шевченко*
Взаимосвязь уровня инсулиноподобного фактора роста 1 с дозой такролимуса у детей – реципиентов печени № 2 (13–20)
- А.В. Пинчук, Н.В. Шмарина, И.В. Дмитриев, В.Е. Виноградов, А.И. Казанцев*
Анализ выживаемости реципиентов и трансплантатов после первичной и повторной трансплантации почки № 2 (21–29)
- М.А. Симоненко, М.Ю. Ситникова, П.А. Федотов, Ю.В. Сазонова, М.А. Борцова, К.И. Моносова, Л.А. Васильева, Л.Б. Митрофанова, Г.В. Николаев, М.Л. Гордеев, М.А. Карпенко*
Инвазивный аспергиллез легких после трансплантации сердца № 2 (30–35)
- С.А. Абдугафаров, М.Н. Асыкбаев, Д.Ж. Сапарбай*
Трансплантация почки в Казахстане: проблема дефицита донорских органов № 2 (36–40)
- В.С. Арутюнян, А.В. Кеоссян, М.А. Фирсов, Д.П. Евдокимов, М.Р. Цокаев, О.С. Амелъчугова, Э.В. Лукичева*
Опыт аллотрансплантации трупной почки в Красноярской краевой клинической больнице № 2 (41–51)
- О.Н. Резник, А.Е. Скворцов, В.С. Дайнеко, И.В. Логинов, А.А. Кутенков, С.С. Комаев, В.М. Теплов, Д.О. Кузьмин, А.Н. Ананьев, И.В. Ульянкина, Д.В. Гоголев, А.А. Кукушкин, М.Е. Мальшев, А.А. Бойков, В.Е. Савелло, А.Н. Морозов, С.Ф. Багненко*
Первый в Российской Федерации опыт пересадки печени и почек, полученных от доноров с внегоспитальной остановкой кровообращения: обобщение 3-летних результатов № 3 (35–49)
- S.M. Dehghani, M. Ataollahi, F. Salimi, K. Kazemi, S. Gholami, I. Shahramian, F. Parooie, M. Salarzaei, A. Aminisefat*
Билиарная реконструкция при трансплантации печени у детей весом до 15 кг; сравнение методов «проток в проток» и гепатикоэностомии на петле по Ру № 3 (50–60)
- Д.А. Сайдулаев, С.В. Садовников, Р.Г. Биктимиров, П.М. Гаджиева, И.А. Милосердов*
Успешные клинические случаи реконструктивно-пластических лапароскопических операций на мочеточнике трансплантированной почки № 3 (61–65)
- А.В. Сыркина, И.Е. Пащикова, А.Р. Монахов, О.В. Силина, Е.В. Чеклецова, С.Ю. Олещевич, И.Б. Комарова, О.М. Цирульникова*
Особенности нервно-психического развития детей с билиарной атрезией после трансплантации печени № 3 (66–72)
- О.П. Шевченко, Д.А. Великий, С.О. Шарапченко, О.Е. Гичкун, А.В. Марченко, А.А. Улыбышева, В.С. Павлов, Н.П. Можейко, Н.Н. Колоскова, А.О. Шевченко*
МикроРНК-27 и -339 при фиброзе миокарда трансплантированного сердца: анализ диагностической значимости № 3 (73–81)

ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ

- Т.М. Ускач, О.В. Сапельников, А.А. Сафиуллина, И.Р. Гришин, В.А. Аманатова, Р.С. Акчурин, С.Н. Терещенко*
Имплантация модулятора сердечной сократимости при хронической сердечной недостаточности и фибрилляции предсердий, результаты 6-месячного наблюдения ста пациентов № 1 (30–37)
- Е.А. Овчаренко, К.Ю. Клышников, А.А. Шилов, Н.А. Щеглова, Т.В. Глушкова, Д.В. Нуштаев, Л.С. Барбараи*
Численно-экспериментальное обоснование конструкции транскатетерного протеза клапана аорты № 2 (95–103)

РЕГЕНЕРАТИВНАЯ МЕДИЦИНА И КЛЕТЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

- Н.А. Онищенко, А.О. Никольская, З.З. Гоникова, Л.А. Кирсанова, М.Ю. Шагидулин, В.И. Севастьянов*
Регенераторная и гепатоспецифическая активность общей РНК клеток ксеногенного костного мозга № 1 (43–48)
- И.А. Васильева, В.И. Севастьянов, К.В. Токаев, Ю.Р. Зюзя, Т.Е. Григорьев, Т.К. Токаев, А.С. Бикбаев, В.К. Токаев, Ю.Д. Загоскин, К.И. Луканина, С.Н. Чвалун*
Оценка *in vivo* биосовместимых свойств резорбируемых пористых материалов для плевральной имплантации № 1 (49–59)

Н.В. Аргучинская, Е.Е. Бекетов, Е.В. Исаева, Н.С. Сергеева, П.В. Шегай, С.А. Иванов, А.Д. Каприн
 Материалы для создания тканеинженерных конструкций методом 3D-биопечати при восстановлении хрящевой и мягких тканей..... № 1 (60–74)

М.А. Резвова, Е.А. Овчаренко, Т.В. Глушкова, Ю.А. Кудрявцева, Л.С. Барбараиш
 Оценка резистентности к кальцификации ксеноперикарда, обработанного полигидроксисоединениями..... № 1 (75–83)

Е.А. Немец, А.Э. Лажко, А.М. Григорьев, В.Ю. Белов, В.А. Сургученко, Ю.Б. Басок, А.Д. Кириллова, В.И. Севастьянов
 Сверхкритический диоксид углерода как метод снижения цитотоксичности биополимерных и тканеспецифических скаффолдов для тканевой инженерии..... № 2 (104–113)

Е.Г. Кузнецова, О.М. Курьлева, Л.А. Саломатина, С.В. Курсаков, З.З. Гоникова, А.О. Никольская, В.И. Севастьянов
 Сравнительный анализ фармакокинетических параметров трансдермального и внутримышечного введений препарата Галавит® № 2 (114–121)

Л.В. Антонова, Е.О. Кривкина, В.Н. Сильников, О.В. Груздева, М.А. Резвова, Т.Н. Акентьева, Т.В. Глушкова, В.О. Ткаченко, В.М. Сахарова, Л.С. Барбараиш
 Оценка биосовместимости и антимикробных свойств биодеградируемых сосудистых протезов различного полимерного состава с атромбогенным и противомикробным лекарственным покрытием № 2 (122–136)

С.А. Борзенко, С.В. Костенев, А.В. Дога, А.В. Шацких, В.Г. Ли, Д.С. Островский, М.Х. Хубецова
 Сравнительный анализ протоколов децеллюляризации лентикулярной ткани роговицы № 2 (137–146)

Ю.Б. Басок, А.М. Григорьев, Л.А. Кирсанова, А.Д. Кириллова, А.М. Суббот, А.В. Цветкова, Е.А. Немец, В.И. Севастьянов
 Сравнительное исследование хондрогенеза мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека при культивировании на коллагенсодержащих носителях в условиях *in vitro* № 3 (90–100)

М.Ю. Ханова, Е.А. Великанова, В.Г. Матвеева, Е.О. Кривкина, Т.В. Глушкова, В.В. Севастьянова, А.Г. Кутихин, Л.В. Антонова
 Формирование монослоя эндотелиальных клеток на поверхности сосудистого протеза малого диаметра в условиях потока № 3 (101–114)

А.Е. Костюнин, Т.В. Глушкова, Л.А. Богданов, Е.А. Овчаренко
 Экспрессия тканевых ингибиторов металлопротеиназ типа 1 и 2 в створках эксплантированных биопротезов клапанов сердца – новая патогенетическая параллель между структурной дегенерацией клапана и кальцинирующим аортальным стенозом..... № 3 (115–121)

А.Е. Гордеева, М.Г. Шаронов, В.И. Новоселов
 Влияние экзогенного пероксиредоксина 6 на морфофункциональное состояние изолированной почки крысы № 3 (122–133)

Н.В. Тишевская, Е.С. Головнева, Р.В. Галлямутдинов, А.А. Позина, Н.М. Геворкян
 Ксеногенная лимфоцитарная РНК стимулирует физиологическую регенерацию скелетных мышц..... № 3 (134–141)

Н.Н. Скалецкий, Г.Н. Скалецкая
 Клетки Сертоли: иммуномодулирующие свойства, способы выделения и культивирования..... № 3 (142–147)

А.М. Григорьев, И.В. Холоденко, А.Ю. Лупатов, Р.В. Холоденко, Л.А. Кирсанова, Ю.Б. Басок, К.Н. Ярыгин, В.И. Севастьянов
 Дедифференцировка зрелых крысиных гепатоцитов в длительно пролиферирующие печеночные прогениторные клетки № 3 (148–161)

М.Б. Васильева, Е.В. Кузнецова, Я.Л. Русакова, Е.В. Чепелева, Д.С. Сергеевичев, И.Ю. Журавлева
 Механические свойства нативной и децеллюляризованной стенки аорты после длительного хранения в биоцидных растворах № 4 (86–94)

П.С. Ермакова, Е.И. Черкасова, Н.А. Леньшина, А.Н. Конев, М.А. Батенькин, С.А. Чесноков, Д.М. Кучин, Е.В. Загайнова, В.Е. Загайнов, А.В. Кашина
 Современные технологии инкапсуляции островков Лангерганса поджелудочной железы для коррекции сахарного диабета 1-го типа..... № 4 (95–109)

Н.А. Онищенко, А.О. Никольская, З.З. Гоникова, Л.А. Кирсанова, М.Ю. Шагидулин, В.И. Севастьянов
 Роль апоптотических клеток костного мозга при активации регенерационных процессов в печени..... № 4 (110–118)

В.А. Сургученко, Е.А. Немец, В.Ю. Белов, В.И. Севастьянов
 Биологически активное покрытие для тканеинженерной конструкции кровеносных сосудов малого диаметра..... № 4 (119–131)

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

П.Г. Таразов, А.А. Поликарпов, Д.А. Гранов, В.В. Боровик
 Стент в желчных протоках, сломавшийся во время повторной беременности у пациентки после трансплантации печени № 1 (38–42)

- И.А. Милосердов, В.С. Богданов, П.М. Гаджиева, Д.А. Сайдулаев, А.А. Карташев, Е.Г. Куликова, И.Е. Паикова*
Клинический случай применения терапевтического плазмообмена для лечения рецидива
фокально-сегментарного гломерулосклероза у ребенка после трансплантации почки № 2 (60–66)
- В.М. Захаревич, В.А. Митиш, Т.А. Халиллулин, А.Р. Закирьянов, Д.С. Иванов, А.М. Гольц, А.А. Сухачев,
К.С. Кирьяков, О.А. Поздняков, Н.Ю. Захаревич*
Комплексный хирургический подход к лечению глубокой раневой инфекции грудины у пациента
после трансплантации сердца № 2 (67–75)
- Р.О. Кантария, О.Н. Ветчинникова, А.В. Ватазин, Л.А. Шерман*
Неалкогольная энцефалопатия Вернике у пациента с трансплантированной почкой № 2 (76–83)
- Д.А. Сайдулаев, В.С. Богданов, М.А. Петряев, А.А. Карташев, А.А. Жариков, С.В. Садовников, И.А. Милосердов*
Реконструктивно-пластическая операция на мочевыводящих путях трансплантированной почки № 2 (84–87)
- А.Р. Шералиев, А.А. Поликарпов, И.И. Тилеубергенов, А.В. Моисеенко, Д.А. Гранов*
Случай внутривенного введения мононуклеарных клеток аутологичного костного мозга
и трансплантации печени у пациентки с циррозом № 2 (88–94)
- А.С. Иванов, Н.П. Можейко, Г.А. Акопов, М.К. Луговский, О.О. Шелест*
Хирургическое лечение биатриальной миксомы № 4 (143–150)

ХИРУРГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ В ТРАНСПЛАНТОЛОГИЧЕСКОЙ КЛИНИКЕ

- Г.А. Акопов, Т.Н. Говорова, А.С. Иванов*
Клапансохраняющие операции на аортальном клапане и восходящей аорте при радикальной
коррекции врожденных и приобретенных пороков сердца. Непосредственные результаты № 1 (84–90)
- Н.С. Буненков, В.В. Комок, С.А. Белый, А.В. Соколов, В.И. Лукашенко, А.С. Немков, Г.Г. Хубулава*
Прогностическое значение тропонина I после операций коронарного шунтирования
(по результатам исследования AMIRI-CABG) № 1 (91–100)
- Р.М. Муратов, М.И. Федосейкина, Д.А. Титов, Д.В. Бритиков, Г.А. Хугаев*
Повторные вмешательства после операции Росса: причины, технические подходы,
непосредственные результаты № 1 (101–111)
- А.Н. Казанцев, М.А. Чернявский, Р.А. Виноградов, В.Н. Кравчук, Д.В. Шматов, А.А. Сорокин, С.В. Артюхов,
В.В. Матусевич, В.А. Порханов, Г.Г. Хубулава*
Имплантация длинной биологической заплаты во время классической каротидной эндартерэктомии
при протяженном атеросклеротическом поражении. Отдаленные результаты № 1 (112–124)

ИНФЕКЦИИ В ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ

- И.С. Тартаковский, О.А. Груздева, С.О. Шарпаченко, Н.И. Габриэлян*
Контаминация штаммами *Legionella pneumophila* систем водоснабжения в многопрофильных
стационарах № 1 (125–130)

ВОПРОСЫ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ХИРУРГИИ В ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ

- Р.М. Муратов, М.Н. Соркомов, А.С. Сачков, С.И. Бабенко, А.М. Слепцова, М.И. Терехов*
Непосредственные результаты лечения тяжелого кальциноза фиброзного кольца митрального клапана № 2 (52–59)

ДОНОРСТВО ОРГАНОВ

- С.В. Готье, О.М. Цирульникова, И.В. Паиков, Н.В. Грудинин, Д.О. Олешкевич, Д.М. Бондаренко, Н.П. Можейко,
А.А. Карпов, Н.С. Буненков*
Оценка эффективности разработанного перфузионного раствора для нормотермической ex vivo
перфузии легких по сравнению со Steen Solution™ (экспериментальное исследование) № 3 (82–89)

КЛИНИЧЕСКАЯ ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ

- А.В. Сыркина, О.М. Цирульникова, И.Е. Паикова, О.В. Силина, Е.В. Чеклецова, С.Ю. Олешкевич*
Анализ отношения шансов задержки развития у детей с билиарной атрезией через 12 месяцев
после трансплантации печени № 4 (8–12)
- О.М. Цирульникова, П.М. Гаджиева, И.А. Милосердов, Д.А. Сайдулаев, И.Е. Паикова*
Оценка эффективности протоколов профилактики цитомегаловирусной инфекции
у реципиентов почки детского возраста № 4 (13–18)
- А.В. Никулин, И.В. Паиков, Я.С. Якунин*
Рак легкого у реципиентов солидных органов № 4 (19–25)
- С.М. Дехгани, И. Шахрамян, М. Аятллахи, Ф. Пароо, М. Саларзаи, М. Бахманьяр, А. Саргази, М. Деларамнасаб*
Частота возникновения и факторы риска развития хронического отторжения при остром отторжении
трансплантированной печени у детей № 4 (26–31)
- В.Е. Сюткин, А.А. Салиенко, С.В. Журавель, М.С. Новрузбеков*
Изменение скорости клубочковой фильтрации у реципиентов печени после снижения экспозиции
ингибиторов кальциневрина с одновременным назначением эверолимуса на протяжении
первого года после конверсии иммуносупрессии № 4 (32–41)

М.Т. Хан, Р.Б. Хамид, Ш. Рашид, Э. Джахан, Н. Лал, Р. Иштиак
 Особенности менструального цикла после трансплантации почки у женщин репродуктивного возраста № 4 (42–46)

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ СЕРДЦА И ВСПОМОГАТЕЛЬНОЕ КРОВООБРАЩЕНИЕ

В.С. Кван, Н.Н. Колоскова, Ю.А. Качанова, Н.Н. Сайфуллина, А.Ю. Гончарова, Л.Б. Круглый, А.О. Шевченко
 Антилеоопосредованное отторжение трансплантата сердца № 4 (47–61)

Я.Л. Поз, А.Г. Строков, Ю.В. Копылова, В.Н. Попцов, С.В. Готье
 Заместительная почечная терапия у реципиентов сердечного трансплантата № 4 (62–72)

Г.П. Иткин, А.И. Сырбу, А.П. Кулешов, А.С. Бучнев, А.А. Дробышев
 Оценка эффективности новой системы генерации пульсирующего потока в роторных насосах вспомогательного кровообращения. Исследование на математической модели № 4 (73–78)

А.П. Кулешов, А.С. Бучнев, А.А. Дробышев, Г.П. Иткин
 Разработка конструкции и 3D-модели устройства динамической фильтрации микропузырьков для систем искусственного кровообращения № 4 (79–85)

ИМПЛАНТАТЫ И ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ

В.Г. Борисов, Ю.Н. Захаров, А.Н. Казанцев, Ю.И. Шокин, А.В. Евтушенко, Л.С. Барбараш, П.С. Онищенко, К.Ю. Клышников, Е.А. Овчаренко
 Компьютерное моделирование заплат различной формы при классической каротидной эндактерэктомии № 4 (132–142)

ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ

К.С. Кирьяков, В.М. Захаревич, Т.А. Халилулин, Н.Ю. Захаревич, Н.Н. Абрамова, О.А. Поздняков
 Особенности развития и течения перикардального выпота у пациентов после трансплантации сердца № 1 (131–139)

И.В. Пашков, М.Т. Беков, С.В. Готье
 Бронхиальные осложнения после трансплантации легких № 1 (140–149)

С.И. Бабенко, Р.М. Муратов, М.Н. Соркомов
 Современные тенденции в создании бесклеточных алло- и ксенотканей для реконструкции структур сердца № 1 (150–156)

А.С. Иванов, Г.А. Акопов, Т.Н. Говорова, М.К. Луговский
 Реконструктивная клапансохраняющая хирургия корня аорты № 1 (157–161)

И.М. Ильинский, О.М. Цирульникова
 Первичный билиарный холангит № 1 (162–170)

С.А. Борзенко, Б.Э. Малюгин, М.Ю. Герасимов, Д.С. Островский
 Методические основы трансплантации аутологичного культивированного эпителия полости рта № 1 (171–177)

Я.Л. Поз, А.Г. Строков, В.Н. Попцов, А.О. Шевченко, С.В. Готье
 Патогенетические механизмы, эпидемиология и классификация острого повреждения почек у реципиентов сердечного трансплантата № 2 (147–157)

О.М. Цирульникова, А.В. Сыркина, И.А. Милосердов, И.Е. Паškова, С.Ю. Олешкевич, И.Б. Комарова
 Острые симптоматические судорожные приступы в раннем послеоперационном периоде трансплантации печени, почки № 2 (158–166)

Л.Б. Круглый, Н.Н. Колоскова, А.В. Никулин, И.В. Пашков, В.Н. Попцов, А.О. Шевченко
 Особенности течения злокачественных новообразований на фоне иммуносупрессивной терапии у реципиентов сердца № 2 (167–176)

Р.М. Курабекова, А.А. Бельченков, О.П. Шевченко
 Перспективы применения искусственных нейронных сетей для решения задач клинической трансплантологии № 2 (177–182)

О.А. Герасимова, В.В. Боровик, Н.В. Марченко, И.И. Тилеубергенов
 Толерантность и минимизация иммуносупрессивной терапии после трансплантации печени № 3 (162–170)

В.А. Федулкина, А.В. Ватазин, А.В. Кильдюшевский, А.Б. Зилькарнаев, Д.В. Губина, М.П. Федулкина
 Иммуносенесценция как причина индивидуализированной иммуносупрессивной терапии при трансплантации почки № 3 (171–179)

Р.М. Курабекова, О.Е. Гичкун, С.В. Мещеряков, О.П. Шевченко
 Роль полиморфизма гена трансформирующего фактора роста $\beta 1$ в развитии осложнений после трансплантации солидных органов № 3 (180–185)

Г.П. Иткин, М.Г. Иткин
 Лимфообращение и сердечная недостаточность № 3 (186–191)

А.В. Никулин, И.В. Пашков, Я.С. Якунин
 Механизмы развития и факторы риска возникновения злокачественных новообразований у реципиентов солидных органов № 3 (192–197)

