

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)

2022. Том XXIV. № 1

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 «Трансплантомика»)

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)

2022. Vol. XXIV. № 1

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

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

СОДЕРЖАНИЕ

СТРАНИЦА ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Приоритетные задачи в 2022 году: консолидация трансплантологического сообщества.
Et multa alia...

C.V. Gотье

КЛИНИЧЕСКАЯ ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ

Комбинированное лечение нерезектабельной гилусной холангиокарциномы с последующей трансплантацией печени

Д.А. Гранов, И.И. Тилеубергенов, В.Н. Жуйков, А.Р. Шералиев, А.А. Поликарпов, А.В. Моисеенко

Трансплантация печени пациентам с первичным билиарным холангитом (обзор литературы)

И.М. Ильинский, О.М. Цирульникова

История и опыт трансплантации почки в Узбекистане

З.Т. Маткаримов, Ф.Ш. Бахритдинов, Р.А. Ибадов, А.С. Суюмов, К.О. Махмудов, А.Р. Ахмедов, Ш.И. Шерназаров, М.О. Рустамов, З.У. Абдугафуров, У.М. Саатова, Ж.Б. Уринов

Application of indocyanine green fluorescence for ureter imaging: review

A.D. Smagulov, M.S. Rysmakhanov, Zh.M. Koishybayev, Y.B. Sultangereyev, N.M. Mussin

Ауто трансплантация почки – метод лечения поражения мочеточника в урологической и онкологической практике

C.V. Арзуманов, Н.В. Поляков, А.Б. Рябов, Д.А. Галицкая

РЕГЕНЕРАТИВНАЯ МЕДИЦИНА И КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

Разработка подходов к бесферментному получению островковой ткани из поджелудочной железы

Г.Н. Скалецкая, Н.Н. Скалецкий, Г.Н. Бубенцова, В.И. Севастьянов

Индукция остеогенеза костной ткани нижней челюсти кролика с использованием криогенно-структурированного губчатого альбуминового 3D-носителя, нагруженного биорегулятором

А.И. Шайхалиев, М.С. Краснов, Е.В. Сидорский, В.П. Ямскова, В.И. Лозинский

Определение оптимального режима децеллюляризации поджелудочной железы с учетом морфологических особенностей панкреатической ткани

А.С. Пономарева, Н.В. Баранова, Л.А. Кирсанова, Г.Н. Бубенцова, Е.А. Неметц, И.А. Милосердов, В.И. Севастьянов

CONTENTS

EDITORIAL

- 5 Our 2022 priorities: consolidating the transplant community.
Et multa alia...
S.V. Gautier

CLINICAL TRANSPLANTOLOGY

- 7 Combined treatment of unresectable hilar cholangiocarcinoma with subsequent liver transplantation
D.A. Granov, I.I. Tileubergenov, V.N. Zhuikov, A.R. Sheraliev, A.A. Polikarpov, A.V. Moiseenko
- 15 Liver transplantation for primary biliary cholangitis (review)
I.M. Iljinsky, O.M. Tsirulnikova
- 23 History and background of kidney transplantation in Uzbekistan
Z.T. Matkarimov, F.S. Bahritdinov, R.A. Ibadov, A.S. Suyumov, Q.O. Mahmudov, A.R. Ahmedov, S.I. Shernazarov, M.O. Rustamov, Z.U. Abdugafurov, U.M. Saatova, J.B. Urinov
- 31 Application of indocyanine green fluorescence for ureter imaging: review
A.D. Smagulov, M.S. Rysmakhanov, Zh.M. Koishybayev, Y.B. Sultangereyev, N.M. Mussin
- 36 Kidney autotransplantation: a method for treating ureteral lesions in urological and oncological practice
S.V. Arzumano, N.V. Polyakov, A.B. Ryabov, D.A. Galitskaya

REGENERATIVE MEDICINE AND CELL TECHNOLOGIES

- 48 Development of approaches to enzyme-free isolation of pancreatic islets
G.N. Skaletskaya, N.N. Skaletskiy, G.N. Bubentsova, V.I. Sevastianov
- 56 Induction of osteogenesis in rabbit mandibular bone tissue using an albumin-based cryogenically structured porous 3D carrier loaded with a bioregulator
A.I. Shaikhaliev, M.S. Krasnov, E.V. Sidorsky, V.P. Yamskova, V.I. Lozinsky
- 64 Determining the optimal pancreatic decellularization protocol, taking into account tissue morphological features
A.S. Ponomareva, N.V. Baranova, L.A. Kirsanova, G.N. Bubentsova, E.A. Nemets, I.A. Miloserdov, V.I. Sevastianov

Программируемая гибель клеток и заболевания печени

Н.А. Онищенко, З.З. Гоникова, А.О. Никольская, Л.А. Кирсанова, В.И. Севастьянов

Влияние трансдермальной терапевтической системы иммуномодулятора на регенерационную активность печени

Е.Г. Кузнецова, О.М. Курьлева, Л.А. Саломатина, Л.А. Кирсанова, З.З. Гоникова, А.О. Никольская, Н.П. Шмерко, В.И. Севастьянов

Структурная дегенерация биологических протезов клапанов сердца: имеются ли общие механизмы с атеросклерозом и кальцинирующим аортальным стенозом?

А.Е. Костюнин

ТРАНСПЛАНТОМИКА

Белковый состав и функциональные показатели мембран эритроцитов при трансплантации печени и почки

А.В. Дерюгина, О.П. Абаева, С.В. Романов, М.В. Ведунова, Е.Н. Рябова, С.А. Васенин, Н.А. Титова

ДОНОРСТВО ОРГАНОВ

Q-Methodology to Identify perceptions of deceased organ donation in the UK

R.M. Muaid, T. Chesney

Analysis of implications of organ donation on living donors in southeastern Iran: A qualitative study

R.S. Bahador, P. Mangolian, J. Farokhzadian, S.S. Afrazandeh, E. Noohi

Отношение молодежи в Республике Татарстан к органному донорству

А.А. Анисимов, Э.С. Гильметдинова, М.А. Мулендеева, А.Ю. Анисимов

Первый опыт применения машинной холодовой оксигенированной перфузии почечного трансплантата от доноров с расширенными критериями

А.В. Шабунин, М.Г. Минина, П.В. Дроздов, И.В. Нестеренко, Д.А. Макеев, О.С. Журавель, Л.Р. Карапетян, С.А. Астапович

ИНФОРМАЦИЯ

Требования к публикациям

Информационное письмо

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

72 Programmed cell death and liver diseases
N.A. Onishchenko, Z.Z. Gonikova, A.O. Nikolskaya, L.A. Kirsanova, V.I. Sevastianov

89 Effect of transdermal immunomodulation on liver regeneration

E.G. Kuznetsova, O.M. Kuryleva, L.A. Salomatina, L.A. Kirsanova, Z.Z. Gonikova, A.O. Nikolskaya, N.P. Shmerko, V.I. Sevastianov

96 Structural valve degeneration: are there common mechanisms with atherosclerosis and calcific aortic stenosis?

A.E. Kostyunin

TRANSPLANTOMICS

107 Protein composition and functional parameters of RBC membranes in liver and kidney transplantation

A.V. Deryugina, O.P. Abaeva, S.V. Romanov, M.V. Vedunova, E.N. Ryabova, S.A. Vasenin, N.A. Titova

ORGAN DONATION

117 Q-Methodology to Identify perceptions of deceased organ donation in the UK

R.M. Muaid, T. Chesney

126 Analysis of implications of organ donation on living donors in southeastern Iran: A qualitative study

R.S. Bahador, P. Mangolian, J. Farokhzadian, S.S. Afrazandeh, E. Noohi

137 Attitude of the youth in the Republic of Tatarstan towards organ donation

A.A. Anisimov, E.S. Gilmetdinova, M.A. Mulendeeva, A.Yu. Anisimov

143 Early experiments with hypothermic oxygenated machine perfusion of kidney grafts from extended criteria donors

A.V. Shabunin, M.G. Minina, P.V. Drozdov, I.V. Nesterenko, D.A. Makeev, O.S. Zhuravel, L.R. Karapetyan, S.A. Astapovich

INFORMATION

151 Instructions to authors

155 Information letter

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

ПРИОРИТЕТНЫЕ ЗАДАЧИ В 2022 ГОДУ: КОНСОЛИДАЦИЯ ТРАНСПЛАНТОЛОГИЧЕСКОГО СООБЩЕСТВА. ET MULTA ALIA...

Глубокоуважаемые коллеги!

Предваряя первый в 2022 году номер журнала, традиционно хотелось бы определить приоритеты нашей деятельности на ближайшее время. Требования сегодняшнего дня – развитие трансплантологии в регионах РФ и формирование в нашей стране единого профессионального поля, объединяющего не только крупные федеральные, но и региональные трансплантологические центры.

ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, выполняя функции национального медицинского исследовательского центра по профилю «хирургия (трансплантация органов и (или) тканей человека)», координирует и непосредственно участвует в развитии трансплантационной помощи в субъектах РФ. Регулярно осуществляются выезды в регионы для изучения состояния организации трансплантационной помощи, участия в выполнении первых трансплантаций органов.

Созданию единого профессионального поля способствует и налаженная система телемедицинских консультаций, которые проводятся с медицинскими организациями субъектов РФ в режиме 24/7 для повышения доступности квалифицированной медицинской помощи пациентам независимо от их места жительства.

Неотъемлемым условием является подготовка и повышение квалификации профессиональных кадров. Образовательный центр ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России готовит медицинские кадры для всех субъектов РФ; с помощью дистанционных на-



OUR 2022 PRIORITIES: CONSOLIDATING THE TRANSPLANT COMMUNITY. ET MULTA ALIA...

Dear colleagues,

As we expect the release of the first issue of the Journal for the year 2022, traditionally we would like to set out our priorities for the nearest future. Our current commitment is to develop the transplantology industry across the length and breadth of the Russian Federation and to form a unified professional field that unites not only large national but also regional transplant centers in our country.

As a national medical research center in the area of surgery (transplantation of human organs and/or tissues), the Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs coordinates and directly participates in the development of transplant care across the Russian Federation. The Shumakov Center pays regular visits to regions in the country to study the state of transplant care there and participate in organ transplant surgeries being carried out for the first time.

A well-oiled system for 24/7 telemedicine consulting, held in conjunction with medical organizations in the federal subjects of the Russian Federation in order to increase access to quality healthcare for patients, regardless of their place of residence, also contributes to the creation of a unified professional field.

Professional training and upskilling are an essential condition. The educational training center at Shumakov Center trains medical personnel from all federal subjects in Russia; modern clinical protocols for prevention, diagnosis, treatment, and rehabilitation of specialized patients are transmit-

учно-практических мероприятий в субъекты РФ транслируются современные клинические протоколы профилактики, диагностики, лечения и реабилитации профильных пациентов.

Совершенствование системы донорства органов для трансплантации остается приоритетным направлением и одновременно ресурсом для дальнейшего развития трансплантационной помощи нашим согражданам в регионах. Опыт и успехи московской системы координации органного донорства демонстрируют потенциал развития, который пока еще предстоит реализовать в других субъектах РФ.

И безусловно, наша общая задача – развитие научных исследований, качество и уровень которых соответствуют современному мировому уровню. Наши читатели, конечно, обратили внимание, что тематика научных публикаций из года в год расширяется, в том числе за счет медико-биологических исследований, работ по регенеративной медицине. Такая тенденция будет сохраняться, отражая поступательное развитие трансплантологии как интегральной области медицины и биомедицинской науки.

Как сегодня, так и в будущем мы видим свое назначение в создании условий и обеспечении консолидации отечественного трансплантологического сообщества ради повышения доступности и улучшения клинических результатов трансплантации. Необходимы более активная трансляция технологий, обучение специалистов в области системы донорства для трансплантации, развитие научных исследований и многое другое (*et multa alia*, как говорили древние) – ведь в нашем деле нет мелочей. Этим вопросам мы по-прежнему будем уделять внимание и на страницах журнала, и на ежегодных всероссийских мероприятиях – съездах и конгрессах Российского трансплантологического общества.

От лица всей команды редколлегии и редакционного совета журнала желаю нашим постоянным и потенциальным авторам, а также читателям, всем членам профессионального сообщества успешной творческой деятельности в наступившем 2022 году.

С уважением,
главный редактор
академик РАН С.В. Готьё



ted to Russia's federal subjects by means of remote academic and research events.

Improving the system of organ donation for transplantation remains a priority and at the same time a resource for further development of transplantation care for our fellow citizens living in the regions of the country. The experience and successes of the Moscow system for organ donation coordination demonstrate the potential for development, which is yet to be realized in other federal subjects of the country.

And of course, our common objective is to develop scientific research, whose quality and level are consistent with today's global standards. Our readers must have noticed that the topics in our research publications are expanding from year to year, which is partly due to medical and biological research and works on regenerative medicine. This trend will continue, thereby reflecting the progressive development of transplantology as an integral field of medicine and biomedical science.

*Both today and in the future, we see our purpose as creating conditions and consolidating the national transplant community in order to increase accessibility to and improve clinical outcomes of transplantation. Active technology transfer, training of specialists in the field of donation system for transplantation, development of scientific research and much more (*et multa alia*, as the ancients said) are all needed because there are no trifles in our business. These issues we will continue to pay attention to both on the pages of our Journal and at annual all-Russian events like the conventions and congresses of the Russian Transplant Society.*

On behalf of the entire editorial team and editorial board, I would like to thank and wish our permanent and potential authors, as well as readers and all members of the professional community, a successful creative research and work in the year 2022.

Sincerely,
S.V. Gautier (Editor-in-chief)
Academician of the Russian
Academy of Sciences

DOI: 10.15825/1995-1191-2022-1-7-14

КОМБИНИРОВАННОЕ ЛЕЧЕНИЕ НЕРЕЗЕКТАБЕЛЬНОЙ ГИЛЮСНОЙ ХОЛАНГИОКАРЦИНОМЫ С ПОСЛЕДУЮЩЕЙ ТРАНСПЛАНТАЦИЕЙ ПЕЧЕНИ

Д.А. Гранов, И.И. Тилеубергенов, В.Н. Жуйков, А.Р. Шералиев, А.А. Поликарпов, А.В. Моисеенко

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

Цель: продемонстрировать опыт лечения нерезектабельной гилюсной холангиокарциномы путем применения неoadьювантной терапии с последующей трансплантацией печени. **Материалы и методы.** С 2017-го по 2021 г. в ФГБУ «РНЦРХТ им. академика А.М. Гранова» в протокол лечения нерезектабельной опухоли Клацкина с последующей трансплантацией печени было включено 6 пациентов. Неoadьювантное лечение включало эндобилиарную фотодинамическую терапию, регионарную и системную химиотерапию. Каждый метод применялся минимум трижды в течение четырех-пяти месяцев с радиологической оценкой и определением уровня Ca19-9. Пациенты вносились в лист ожидания при снижении онкомаркера, отсутствии радиологических признаков прогрессии заболевания и без острого холангита. Реципиентам выполнялась лапароскопическая ревизия брюшной полости на предмет канцероматоза и оценка лимфоузлов печеночно-двенадцатиперстной связки со срочным морфологическим исследованием. При отсутствии внепеченочного распространения производилась трансплантация печени по классической методике с паракаваальной, парааортальной и гепатодуоденальной лимфодиссекцией, билиодигестивным анастомозом на отключенной по Ру петле тонкой кишки. Операция выполнена трем пациентам, все из них – мужчины. Возраст колебался от 40 до 55 лет (средний – 48). Среднее время от начала лечения до трансплантации составило 9,3 месяца (от 6 до 14). Средний уровень Ca19-9 на момент выполнения вмешательства составил 81,3 МЕ/мл (от 8 до 212). **Результаты.** У трех пациентов, несмотря на лечение, отмечен рост уровня Ca19-9 более чем в два раза в среднем за четыре месяца. У двух из них выявлена прогрессия заболевания согласно данным компьютерной томографии по RECIST. У одного пациента выявлен канцероматоз при диагностической лапароскопии. У трех пациентов Ca19-9 снизился более чем в четыре раза. У двух из этих пациентов радиологически подтверждена стабилизация заболевания, у одного – частичный ответ. Один пациент умер через три года после трансплантации от сепсиса в исходе вторичного билиарного цирроза и билиарных абсцессов без признаков прогрессирования. Два пациента живы по настоящее время на протяжении 6 и 21 месяцев без признаков прогрессирования опухоли. **Заключение.** Трансплантация печени при нерезектабельной опухоли Клацкина эффективна при достижении контроля над биологической активностью опухоли путем применения неoadьювантного лечения.

Ключевые слова: опухоль Клацкина, гилюсная холангиокарцинома, трансплантация печени, фотодинамическая терапия, регионарная химиотерапия.

Для корреспонденции: Жуйков Владимир Николаевич. Адрес: 197758, Санкт-Петербург, ул. Ленинградская, 70. Тел. (965) 033-19-34. E-mail: zhuikov.v@mail.ru

Corresponding author: Vladimir Zhuikov. Address: 70, Leninskaya str., St. Petersburg, 197758, Russian Federation. Phone: (965) 033-19-34. E-mail: zhuikov.v@mail.ru

COMBINED TREATMENT OF UNRESECTABLE HILAR CHOLANGIOCARCINOMA WITH SUBSEQUENT LIVER TRANSPLANTATION

D.A. Granov, I.I. Tileubergenov, V.N. Zhuikov, A.R. Sheraliev, A.A. Polikarpov, A.V. Moiseenko

Granov Russian Scientific Center for Radiology and Surgical Technology, St. Petersburg, Russian Federation

Objective: to demonstrate the experience of unresectable hilar cholangiocarcinoma treatment using neoadjuvant therapy followed by liver transplantation (LT). **Materials and methods.** From 2017 to 2021, six patients were included in the treatment protocol for unresectable Klatskin tumor followed by liver transplantation at Granov Russian Scientific Center for Radiology and Surgical Technology. The neoadjuvant therapy included endobiliary photodynamic therapy (PDT), as well as regional and systemic chemotherapy. Each method was used at least three times for 4 to 5 months with radiological evaluation and measurement of CA 19-9 levels. Patients were placed on the waiting list when the tumor marker reduced, or when there were no radiological signs of disease progression and there was no acute cholangitis. The recipients underwent laparoscopic abdominal revision for carcinomatosis and assessment of lymph nodes in the hepatoduodenal ligament with urgent morphological examination. Where there was no extrahepatic spread, LT was performed according to the classical technique with paracaval, para-aortic and hepatoduodenal lymphodissection, biliodigestive anastomosis by an isolated Roux loop of small intestine. The operation was performed in three patients, all of them were men aged 40 to 55 years (mean 48). The mean time from the start of treatment to transplantation was 9.3 months (range 6 to 14). Mean CA 19-9 level at the time of intervention was 81.3 IU/mL (8 to 212). **Results.** In three patients, CA 19-9 levels more than doubled on average over four months despite treatment. According to data from computed tomography RECIST assessment, two of the patients showed disease progression. In one patient, carcinomatosis was detected by diagnostic laparoscopy. In three patients, CA 19-9 levels decreased more than fourfold. Two of these patients were radiologically confirmed to have the disease stabilized, and one had a partial response. One patient died from sepsis three years after transplantation as a result of secondary biliary cirrhosis and biliary abscesses without signs of progression. Two patients are still alive after 6 and 21 months without signs of tumor progression. **Conclusion.** LT for unresectable Klatskin tumor is effective in controlling the bioactivity of the tumor through the use of neoadjuvant therapy.

Keywords: Klatskin tumor, hilar cholangiocarcinoma, liver transplantation, photodynamic therapy, regional chemotherapy.

ВВЕДЕНИЕ

Гиллюсная холангиокарцинома (ГХК), или же опухоль Клацкина, возникающая из эпителия желчных протоков, является редким и крайне агрессивным заболеванием, манифестирующим, как правило, на запущенных стадиях, что приводит к поздней диагностике и низкой выживаемости. Наилучшие результаты демонстрирует радикальное хирургическое вмешательство в объеме резекции печени с лимфодиссекцией. Однако, по данным ряда исследований, резектабельность при гиллюсной холангиокарциноме составляет около 30–50%, 5-летняя выживаемость при условии выполнения R0 резекции составляет не более 30–40% [1], при этом частота рецидивов в течение 5 лет достигает 70% [2].

Кроме того, в 50% случаев после радикального хирургического вмешательства возникает местный рецидив, а в 30–40% случаев отдаленное метастазирование опухоли [3]. Высокая частота «положительного» хирургического края объяснима отсутствием детального понимания о распространенности про-

цесса ввиду протяженного, преимущественно проксимального перидуктального роста опухоли при макроскопически не измененной стенке желчных протоков.

Таким образом, следует признать, что в настоящий момент резекция считается предпочтительным вариантом лечения при технической возможности ее выполнения, однако она осуществима лишь для узкой группы пациентов, а онкологические результаты хоть и являются лучшими из имеющихся, зачастую не позволяют говорить о 5-летней выживаемости более 30%. Основная масса пациентов на момент обращения уже имеет нерезектабельные формы Bismuth-Corlett, тип IV, IIIa, IIIb с контралатеральным поражением сосудистых структур (ветвь печеночной артерии или воротной вены) и соответствует TNM T4N0M0 IIIc стадии. Такое распространение опухоли не позволяет выполнить радикальное оперативное вмешательство (резекция печени в различных объемах). В то же время для подобных случаев возрастает роль паллиативных методов лечения и

их комбинаций: системной химиотерапии (ХТ), регионарной ХТ, фотодинамической терапии (ФДТ), брахи/дистанционной лучевой терапии. В курации таких пациентов на первый план выходит адекватное дренирование билиарного дерева и контроль холангита с регулярным бактериологическим исследованием желчи ввиду высокого риска развития септических состояний. В отдельных случаях при должном подходе на фоне паллиативного лечения удается достигнуть стабилизации заболевания путем снижения биологической активности опухоли.

В данной ситуации трансплантация печени (ТП) может быть рассмотрена как идеальный вариант лечения пациентов с неоперабельными формами ГХК за счет полного удаления опухолевой ткани и органа целиком с потенциальными макроскопически не визуализируемыми метастазами и субстратом для возникновения рецидива. Однако, исходя из анализа имеющихся исследований, наилучшие результаты применения ТП при опухоли Клацкина могут быть достигнуты лишь при должном отборе пациентов и вкупе с применением неоадьювантного лечения [4]. К примеру, протокол лечения клиники Мейо демонстрирует 5-летнюю выживаемость 82% [5].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С 2017-го по 2021 г. в ФГБУ «РНЦРХТ им. академика А.М. Гранова» в разработанный протокол лечения нерезектабельной ГХК с последующим выполнением ТП (рис. 1) было включено 6 пациентов.

Критерием нерезектабельности являлось поражение сегментарных желчных протоков – Bismuth-Corlette, тип IV либо IIIa, IIIb с контралатеральным поражением сосудистых структур (ветвь печеночной артерии или воротной вены). Стадия заболевания была установлена на основании данных компьютерной томографии (КТ), магнитно-резонансной томографии (МРТ), прямой холангиографии (рис. 2).

Рассматривались пациенты с размером опухоли не более 5 см и локализацией выше пузырного протока. Радиологическими методами исследования были исключены отдаленные метастазы. Во всех случаях обязательными являлись гистологическое подтверждение путем внутрипротоковой биопсии, оценка уровня Ca19-9 (в период отсутствия активного холангита) до начала лечения, регулярное бактериологическое исследование желчи и проведение соответствующей антибактериальной терапии. В качестве неоадьювантного лечения применялась комбинация эндобилиарной ФДТ, регионарной ХТ (рис. 3) и системной ХТ.



Рис. 1. Краткое описание разработанного в РНЦРХТ им. академика А.М. Гранова мультидисциплинарного протокола лечения нерезектабельной опухоли Клацкина с последующей трансплантацией печени

Fig. 1. Brief description of a multidisciplinary protocol for the treatment of unresectable Klatskin tumor with subsequent liver transplantation, developed at Granov Russian Scientific Center for Radiology and Surgical Technology

Каждый из методов применялся как минимум трижды в течение четырех-пяти месяцев с радиологической оценкой и определением уровня Ca19-9 с целью контроля роста и биологической активности опухоли. Пациенты были внесены в лист ожидания на ТП только при снижении онкомаркера, отсутствии радиологических признаков прогрессии заболевания и без острого холангита. Перед выполнением ОТП потенциальному реципиенту выполнялась лапароскопическая ревизия брюшной полости на предмет канцероматоза и оценка лимфоузлов печеночно-двенадцатиперстной связки с иссечением подозрительной ткани для морфологического исследования. При гистологическом подтверждении внепеченочного распространения ТП не выполнялась. В ином случае производилась ОТП по классической методике с паракавальной, парааортальной и гепатодуоденальной лимфодиссекцией, билиодигестивным анастомозом на отключенной по Ру петле тонкой кишки. Производилось удаление всех подозрительных (увеличенных/плотных) лимфоузлов в области гепатодуоденальной связки, чревного ствола, аорты и нижней полой вены, что, согласно классификации Japanese Research Society for Gastric Cancer (JRS GC), соответствует анатомическим группам 5, 7, 8а, 8р, 9, 12а, 12b, 12р. ТП выполнена трем пациентам, все из них – мужчины. Возраст колебался от 40 до 55 лет (средний – 48). Среднее время от начала лечения до трансплантации составило 9,3 месяца (от 6 до 14). Средний уровень Ca19-9 на момент выполнения ОТП

составил 81,3 МЕ/мл (от 8 до 212). В послеоперационном периоде применялся стандартный трехкомпонентный протокол иммуносупрессии (такролимус, микофеноловая кислота, преднизолон).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Несмотря на включение в протокол лечения и проведение неоадьювантной терапии у трех пациентов отмечен рост уровня Ca19-9 более чем в два раза в среднем за четыре месяца. У двух из них отмечена прогрессия заболевания согласно данным КТ по RECIST. У одного пациента выявлен канцероматоз при диагностической лапароскопии.

На фоне применения комбинации методов (ФДТ, РХТ, СХТ) в качестве неоадьювантного лечения удалось добиться нормализации Ca19-9 у двух пациентов и снижения уровня онкомаркера в четыре раза у одного пациента. У двух из этих пациентов при контрольных КТ ответ на лечение расценен как стабилизация заболевания, у одного – частичный ответ. При выполнении диагностической лапароскопии и биопсии лимфатических узлов гепатодуоденальной связки у всех пациентов со снижением уровня Ca19-9 опухолевых элементов в исследуемом материале не выявлено, что позволило выполнить им ОТП (табл.).

В одном из исследуемых препаратов удаленной печени отсутствовали макроскопические признаки опухоли (рис. 4).

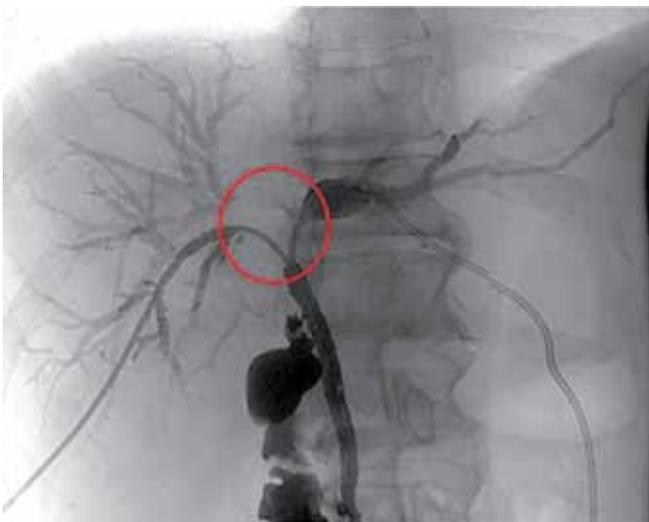


Рис. 2. Рентгенограмма пациента 55 лет с установленными билатерально наружно-внутренними холангиодренажами. Красным кружком отмечена область конfluence долевых желчных протоков с опухолевой стриктурой

Fig. 2. Radiograph of a 55-year-old male patient with bilaterally installed external-internal cholangiodrainage. The red circle marks the area of confluence of lobar bile ducts with tumor stricture



Рис. 3. Ангиограмма пациента 40 лет. Артериальный интродьюсер (указан красной стрелкой) установлен в общую печеночную артерию для проведения регионарной химиотерапии

Fig. 3. Angiogram of a 40-year-old patient. Arterial introducer (indicated by red arrow) is inserted into the common hepatic artery for regional chemotherapy

Удалось выявить мелкие единичные фокусы холангиокарциномы лишь при дополнительной нарезке микропрепарата (патоморфоз IV ст.) (рис. 5).

Один пациент умер через 3 года после ОТП от сепсиса в исходе вторичного билиарного цирроза и билиарных абсцессов без признаков прогрессирования. Следует отметить некомплаентность пациента, эпизод хронического отторжения в первые полгода после операции ввиду нарушения режима приема препаратов. Также нельзя исключить ишемическое

повреждение желчных протоков ввиду артериальной недостаточности кровоснабжения трансплантата. Два пациента живы по настоящее время на протяжении 6 и 21 месяцев без признаков прогрессирования онкологического заболевания.

ОБСУЖДЕНИЕ

Использование такой лечебной опции, как ТП, для пациентов с ГХК предпринималось с 1980 г., и несмотря на разумное потенциальное преимущество в виде полного удаления пораженного органа с достижением «отрицательного» края резекции, результаты оставляли желать лучшего. На заре попыток решения данной проблемы клиники, выполнявшие ТП при ГХК, сообщали о 3-летней выживаемости около 30% [6]. Подобные результаты привели мировое медицинское сообщество к выводу, что обеспечение радикальности операции за счет гепатэктомии реципиента в одностороннем порядке не в силах

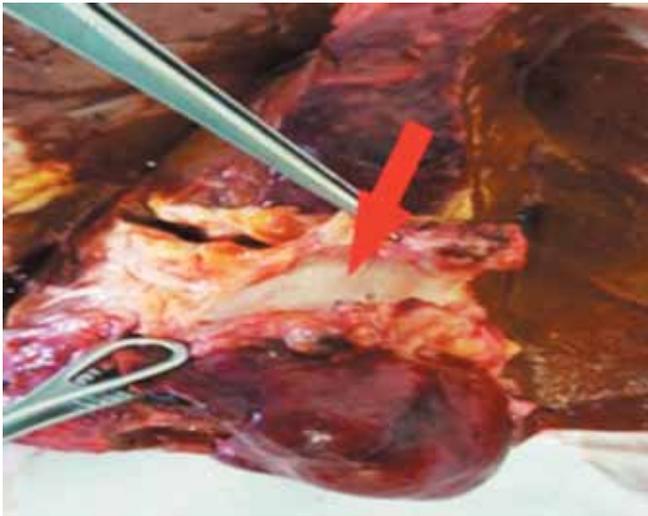


Рис. 4. Фотография макропрепарата (удаленная печень реципиента). Отсутствие макроскопических признаков опухоли (указано красной стрелкой) в просвете желчного протока

Fig. 4. Photography of macroscopic specimen (removed recipient's liver). No macroscopic signs of tumor (indicated by red arrow) in the bile duct lumen

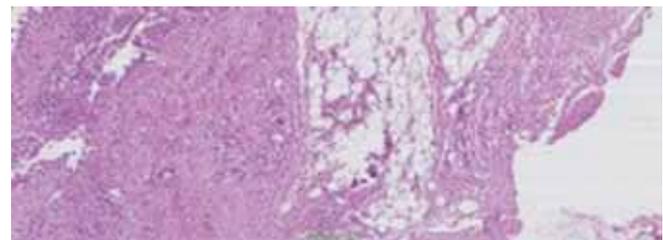


Рис. 5. Фотография микропрепарата. Единичные фокусы холангиокарциномы, выявленные при дополнительной нарезке. Патоморфоз IV степени

Fig. 5. Photography of macroscopic specimen. Single foci of cholangiocarcinoma detected by additional slicing. Grade IV pathomorphosis

Таблица

Результаты проведенного неоадьювантного лечения с динамикой онкомаркера и ответом по RECIST для всех пациентов, включенных в разработанный протокол

Neoadjuvant treatment with tumor marker dynamics and RECIST response for all patients included in the protocol. Treatment results

Пациент	Возраст (лет)	Количество ФДТ	Количество РХТ	Количество СХТ	Ca19-9 до лечения	Ca19-9 после лечения / к моменту ОТП	Ответ по RECIST	Время до прогрессирования / ОТП	Выживаемость после ОТП	Выживаемость от начала лечения
1	49	7	11	8	986	8	CR	ОТП через 14 мес.	36 мес.	50 мес.
2	40	4	4	5	754	24	SD	ОТП через 8 мес.	21 мес.	29 мес.
3	37	4	4	4	337	754	SD	Канцероматоз при диагностической лапароскопии	–	11 мес.
4	56	2	2	3	3416	7256	PD	Прогрессия через 4 мес.	–	7 мес.
5	55	4	3	5	864	212	SD	ОТП через 6 мес.	6 мес.	12 мес.
6	46	5	6	6	789	1456	PD	Прогрессия через 5 мес.	–	8 мес.

заметно улучшить долгосрочные результаты. Более того, необходимость иммуносупрессии, как известно, увеличивает риск опухолевого прогрессирования и может приводить к быстрой гибели пациента. Однако тщательный анализ накопленных материалов выявил, что когорты пациентов с «отрицательными» краями резекции и отсутствием метастазов в регионарных лимфатических узлах имели гораздо лучшие показатели выживаемости. Кроме того, небольшая группа пациентов в клинике Мейо, получавших только химиолучевую терапию без последующего хирургического лечения, имела 22% 5-летнюю выживаемость [7]. Неудовлетворительные результаты стандартных методов лечения ГХК и успехи отдельных исследований явились триггером активного применения комбинированных методов. Имея данные об эффективности химиолучевой терапии для ГХК и знания о том, что развитие заболевания обычно связано с локальным рецидивом, а не с отдаленными метастазами [8], команда трансплантологов штата Небраска впервые разработала стратегию неoadьювантной брахитерапии в высоких дозах в комбинации с химиотерапией 5-фторурацилом (5-ФУ) и последующей трансплантацией печени [9]. Безусловно, возникали билиарные, инфекционные и сосудистые осложнения, связанные с применением брахитерапии в высоких дозах и особенностями течения заболевания. Но все же ранние результаты были многообещающими в отношении развития местных рецидивов. В последующем клиника Мейо приняла эту концепцию, разработав аналогичный протокол неoadьювантной терапии с последующей трансплантацией печени в 1993 году. Протокол объединил преимущества лучевой терапии, химиотерапии, ТП при соответствующем отборе пациентов с локализованной, неоперабельной ГХК. Предварительные результаты для 11 пациентов, о которых сообщалось в 2000 году, были обнадеживающими, а обновление в 2004 году сообщило о 82% 5-летней выживаемости у 28 пациентов [5].

К сожалению, отечественный опыт ТП при ГХК представляется крайне скудным и несистематизированным, судя по отсутствию значимого объема публикаций. Лечение технически нерезектабельной ГХК относится к разряду паллиативного, а его результаты и прогноз мало отличаются от таковых при диссеминированном процессе и, как правило, обусловлены быстро прогрессирующей билиарной обструкцией и холангитом. Первостепенной задачей в курации таких пациентов является билиарная декомпрессия с целью купирования явлений механической желтухи и гнойного холангита [10]. Методом выбора билиарной декомпрессии для данной категории пациентов является чрескожно-чреспеченочная холангиостомия ввиду неосуществимости ретроградного дренирования более чем в половине случаев при стриктурах

проксимальных внепеченочных желчных протоков [11].

Стандартом противоопухолевого лечения нерезектабельной ГХК, как и для любой формы неоперабельного местнораспространенного или метастатического холангиоцеллюлярного рака, согласно российским и зарубежным клиническим рекомендациям, является системная полихимиотерапия по схеме GemCis (гемцитабин/цисплатин) или GemCap (гемцитабин/капецитабин), а также проведение стереотаксической прецизионной конформной химиолучевой терапии с фторпиримидинами [12, 13] либо иные варианты химиотерапии и лучевой терапии в зависимости от соматического статуса пациента, индивидуальной непереносимости и развивающихся осложнений.

При этом, согласно объединенной статистике эффективности данных методов лечения всех неоперабельных злокачественных новообразований билиарных структур, медиана общей выживаемости составляет 8–10 месяцев [14]. Одни из лучших результатов, достигнутых применением химиолучевой терапии, демонстрируют 4-летнюю выживаемость 30% [15].

Относительно новым прогрессивным способом лечения нерезектабельной ГХК является эндобилиарная фотодинамическая терапия (ФДТ). Эффективность ФДТ в сочетании с билиарной декомпрессией подтверждается многочисленными исследованиями, в некоторых из которых разница в продолжительности жизни была пятикратной [16–19].

На протяжении длительного времени занимаясь гепатобилиарной, рентгенэндоваскулярной хирургией и онкологией в целом, а также непосредственно ГХК и ТП в частности, мы старались использовать весь арсенал имеющихся возможностей применительно к данной нозологии. Как и у большинства коллег, для билиарной декомпрессии нами выполняется чрескожно-чреспеченочное холангиодренирование с обязательной оценкой микробного пейзажа желчи и проведением антибактериальной терапии. Наличие чрескожно-чреспеченочных дренажей в билиарном дереве у пациентов с ГХК подразумевает относительную простоту доставки излучателя к зоне поражения и возможность многократного повторения процедуры ФДТ, что подтверждает наш собственный опыт.

Идеологическим сходством всемирно известного протокола Мейо и разработанного нами протокола лечения является остановка опухолевого роста, снижение биологической активности опухоли до момента радикального лечения. В наше неoadьювантное лечение включена ФДТ и отсутствует лучевая терапия (ЛТ). Безусловно, эффективность ЛТ при нерезектабельной опухоли Клацкина не подлежит сомнению, однако, как признают сами авторы, выполнение дистанционной лучевой и внутривнутрипротоковой брахитерапии нередко сопровождается тяжелыми холангитами,

билиарными абсцессами, сепсисом и сосудистыми осложнениями [5, 9], что, на наш взгляд, объясняется выраженным разрастанием соединительной ткани и формированием грубых рубцовых структур в гепатодуоденальной связке. Это не может не влиять на интраоперационную прецизионность диссекции анатомических структур и формирования анастомозов, что существенно затрудняет выполнение сосудистой реконструкции во время проведения трансплантации печени. Необходимость соблюдения баланса между приносимой пользой и возможными осложнениями заставляет держать вопрос применения ЛТ открытым. Однако, что касается ХТ, на наш взгляд, помимо применения системной ХТ осуществление трансартериальной химиоинфузии (ТАХИ) позволяет создать высокую концентрацию химиопрепарата в ограниченной анатомической области, увеличивая тем самым цитостатический эффект. Помимо этого прямое ангиографическое исследование позволяет наглядно оценить степень вовлеченности в опухолевый процесс сосудистых структур. Чередование системной ХТ и ТАХИ с проведением сеансов эндобилиарной ФДТ, на наш взгляд, представляется наиболее оптимальным вариантом неоадьювантной терапии.

Дополнительным преимуществом неоадьювантного протокола является «испытание временем», поскольку у когорты пациентов с агрессивной биологией опухоли возникает прогрессия заболевания, несмотря на проводимое лечение [20]. В таких случаях ТП не показана.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, основываясь на собственном и зарубежном опыте, мы пришли к выводу, что показания к ТП и ее успех при нерезектабельной опухоли Клацкина определяются эффективностью паллиативного лечения в течение не менее 3–4 месяцев путем снижения биологической активности опухоли (оценка онкомаркера, размеров, метастатического поражения, внепеченочного распространения) и контролем острого холангита.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Soares KC, Kamel I, Cosgrove DP, Herman JM, Pawlik TM. Hilar cholangiocarcinoma: diagnosis, treatment options, and management. *Hepatobiliary Surg Nutr.* 2014 Feb; 3 (1): 18–34. doi: 10.3978/j.issn.2304-3881.2014.02.05. PMID: 24696835; PMCID: PMC3955000.
2. Molina V, Sampson J, Ferrer J, Sanchez-Cabus S, Calatayud D, Pavel MC et al. Klatskin Tumor: Diagnosis, Preoperative Evaluation and Surgical Considerations. *Cirugía Española (English Edition).* 2015; 93 (9): 552–560. ISSN 2173-5077. <https://doi.org/10.1016/j.cireng.2015.07.002>.
3. Groot Koerkamp B, Wiggers JK, Allen PJ, Besselink MG, Blumgart LH, Busch OR et al. Recurrence Rate and Pattern of Perihilar Cholangiocarcinoma after Curative Intent Resection. *Journal of the American College of Surgeons.* 2015; 221 (6): 1041–1049. ISSN 1072-7515. <https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2015.09.005>.
4. Руммо ОО, Щерба АЕ, Авдей ЕЛ, Федорук АМ, Дзядзько АМ, Ефимов ДЮ. Оценка эффективности различных способов хирургического лечения опухолей ворот печени. *Анналы хирургической гепатологии.* 2013; 18 (2): 43–49. Rummo OO, Shcherba AE, Avdei EL, Fedoruk AM, Dzyadzko AM, Efimov DJu. Evaluation of Different Methods Efficiency of Surgical Treatment in Patients with Liver Hilus Tumors of Surgical Treatment in Patients with Liver Hilus Tumors. *Annals of surgical hepatology.* 2013; 18 (2): 43–49 [In Russ, English abstract].
5. Heimbach JK, Haddock MG, Alberts SR, Nyberg SL, Ishitani MB, Rosen CB et al. Transplantation for hilar cholangiocarcinoma. *Liver Transpl.* 2004 Oct; 10 (10 Suppl 2): S65–68. doi: 10.1002/lt.20266. PMID: 15382214.
6. Robles R, Figueras J, Turrión VS, Margarit C, Moya A, Varo E et al. Spanish experience in liver transplantation for hilar and peripheral cholangiocarcinoma. *Ann Surg.* 2004 Feb; 239 (2): 265–271. doi: 10.1097/01.sla.0000108702.45715.81. PMID: 14745336; PMCID: PMC1356221.
7. Foo ML, Gunderson LL, Bender CE, Buskirk SJ. External radiation therapy and transcatheter iridium in the treatment of extrahepatic bile duct carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1997 Nov 1; 39 (4): 929–935. doi: 10.1016/s0360-3016(97)00299-x. PMID: 9369143.
8. Jarnagin WR, Ruo L, Little SA, Klimstra D, D'Angelica M, DeMatteo RP et al. Patterns of initial disease recurrence after resection of gallbladder carcinoma and hilar cholangiocarcinoma: implications for adjuvant therapeutic strategies. *Cancer.* 2003 Oct 15; 98 (8): 1689–1700. doi: 10.1002/cncr.11699. PMID: 14534886.
9. Rosen CB, Heimbach JK, Gores GJ. Liver transplantation for cholangiocarcinoma. *Transpl Int.* 2010 Jul; 23 (7): 692–697. doi: 10.1111/j.1432-2277.2010.01108.x. Epub 2010 May 20. PMID: 20497401.
10. Гранов ДА, Шаповал СВ, Гапбаров АЧ, Моисеенко АВ. Комбинация методов регионарной терапии в лечении неоперабельной опухоли Клацкина. *Высокотехнологическая медицина.* 2020; 4: 8–16. Granov DA, Shapoval SV, Gapparov AC, Moiseenko AV. Combination of regional therapy methods in the treatment of inoperable Klatskin tumor. *High-tech medicine.* 2020; 4: 8–16.
11. Гранов ДА, Поликарпов АА, Таразов ПГ, Тимергалин ИВ, Польшалов ВН. Опухоль Клацкина, осложненная механической желтухой и холангитом, в реальной практике: нерезектабельная опухоль или инкурабельный пациент? *Вестник хирургии имени*

- И.И. Грекова. 2020; 179 (4): 9–16. *Granov DA, Polikarpov AA, Tarazov PG, Timergalin IV, Polysalov VN*. Klatskin tumor complicated by obstructive jaundice and cholangitis in real practice: unresectable tumor or incurable patient? *Grekov's Bulletin of Surgery*. 2020; 179 (4): 9–16. [In Russ, English abstract]. <https://doi.org/10.24884/0042-4625-2020-179-4-9-16>.
12. *Benson AB, D'Angelica MI, Abbott DE, Anaya DA, Anders R, Are C et al*. Hepatobiliary Cancers, Version 2.2021, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. 2021; 19 (5): 541–565. doi: 10.6004/jnccn.2021.0022.
 13. *Бредер ВВ, Базин ИС, Косырев ВЮ, Ледин ЕВ*. Практические рекомендации по лекарственному лечению билиарного рака. *Злокачественные опухоли*. 2021; 10 (3s2-1): 470–486. *Breder VV, Bazin IS, Kosyrev VYu, Leddin EV*. Practical recommendations for biliary cancer medication. *Malignant tumors*. 2021; 10 (3s2-1): 470–486. [In Russ]. doi: 10.18027/2224-5057-2020-10-3s2-26.
 14. *Бредер ВВ*. Рак желчевыводящей системы. *Практическая онкология*. 2012; 13 (4): 269–275. *Breder VV*. Cancer of the biliary system. *Practical Oncology*. 2012; 13 (4): 269–275. [in Russ].
 15. *Polistina FA, Guglielmi R, Baiocchi C, Francescon P, Scalchi P, Febbraro A et al*. Chemoradiation treatment with gemcitabine plus stereotactic body radiotherapy for unresectable, non-metastatic, locally advanced hilar cholangiocarcinoma. Results of a five year experience. *Radiotherapy and Oncology*. 2011; 99 (Issue 2): 120–123. ISSN 0167-8140. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2011.05.016>.
 16. *Ortner ME, Caca K, Berr F, Liebetruith J, Mansmann U, Huster D et al*. Successful photodynamic therapy for nonresectable cholangiocarcinoma: a randomized prospective study. *Gastroenterology*. 2003 Nov; 125 (5): 1355–1363. doi: 10.1016/j.gastro.2003.07.015. PMID: 14598251.
 17. *Zoepf T, Jakobs R, Arnold JC, Apel D, Riemann JF*. Palliation of nonresectable bile duct cancer: improved survival after photodynamic therapy. *Am J Gastroenterol*. 2005 Nov; 100 (11): 2426–2430. doi: 10.1111/j.1572-0241.2005.00318.x. PMID: 16279895.
 18. *Lee TY, Cheon YK, Shim CS, Cho YD*. Photodynamic therapy prolongs metal stent patency in patients with unresectable hilar cholangiocarcinoma. *World J Gastroenterol*. 2012 Oct 21; 18 (39): 5589–5594. doi: 10.3748/wjg.v18.i39.5589. PMID: 23112552; PMCID: PMC3482646.
 19. *Wagner A, Kiesslich T, Neureiter D, Friesenbichler P, Puespoek A, Denzer UW et al*. Photodynamic therapy for hilar bile duct cancer: clinical evidence for improved tumoricidal tissue penetration by temoporfin. *Photochem Photobiol Sci*. 2013 Jun; 12 (6): 1065–1073. doi: 10.1039/c3pp25425a. Epub 2013 Apr 4. PMID: 23558738.
 20. *Ito T, Butler JR, Noguchi D, Ha M, Aziz A, Agopian VG et al*. A 3-Decade, Single-Center Experience of Liver Transplantation for Cholangiocarcinoma: Impact of Era, Tumor Size, Location, and Neoadjuvant Therapy. *Liver Transpl*. 2021 Sep 5. doi: 10.1002/lt.26285. Epub ahead of print. PMID: 34482610.
- Статья поступила в редакцию 24.02.2022 г.
The article was submitted to the journal on 24.02.2022*

DOI: 10.15825/1995-1191-2022-1-15-22

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ПЕЧЕНИ ПАЦИЕНТАМ С ПЕРВИЧНЫМ БИЛИАРНЫМ ХОЛАНГИТОМ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

И.М. Ильинский¹, О.М. Цирульникова^{1, 2}

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

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

Первичный билиарный холангит (ПБХ) – аутоиммунное заболевание печени, при котором происходит разрушение и воспаление внутрипеченочных желчных протоков. Ранее это заболевание в терминальной стадии было наиболее частой причиной трансплантации печени. Использование при лечении в качестве препарата первой линии урсодезоксихолевой кислоты и препарата второй линии – обетихоловой кислоты замедляет прогрессирование заболевания. Однако примерно у 40% пациентов с ПБХ лечение оказывается неэффективным, и заболевание может прогрессировать до цирроза и терминальной стадии заболевания печени. Этим пациентам для сохранения жизни проводят трансплантацию печени. После операции возможно развитие рекуррентного ПБХ, которое протекает в более легкой форме и редко вызывает необходимость в ретрансплантации печени.

Ключевые слова: первичный билиарный холангит, ПБХ, трансплантация печени, возвратный ПБХ, факторы риска.

LIVER TRANSPLANTATION FOR PRIMARY BILIARY CHOLANGITIS (REVIEW)

I.M. Iljinsky¹, O.M. Tsirulnikova^{1, 2}

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

² Sechenov University, Moscow, Russian Federation

Primary biliary cholangitis (PBC) is an autoimmune liver disease resulting from the destruction and inflammation of intrahepatic bile ducts. This end-stage disease was once the most common cause of liver transplantation. The use of ursodeoxycholic and obeticholic acids as a first-line and second-line treatment, respectively, slows down the disease. However, treatment is not effective in about 40% of PBC patients, and the disease may progress to cirrhosis and end-stage liver disease. These patients undergo liver transplantation to save their lives. After surgery, recurrent PBC can develop in a milder form and rarely requires liver retransplantation.

Key words: primary biliary cholangitis, PBC, Liver transplantation, recurrence PBC, risk factors.

После первой клинической пересадки печени в 1963 году первичный билиарный холангит (ПБХ) был длительное время ведущим показанием для трансплантации печени.

Трансплантация печени пациентам с ПБХ охватывала 30–50% от всех пересадок печени [1–3], но в первом десятилетии XXI века произошло их снижение до 10% [1]. Несмотря на растущую распростра-

ненность ПБХ, это заболевание больше не является ведущим показанием для трансплантации печени. В последнее десятилетие отмечена тенденция к еще большему снижению числа пересадок печени при ПБХ [4], в Европе они составляют около 9% от всех пересадок печени [5], а в Азии – только 3,5% [6]. Согласно европейскому регистру, доля пациентов с ПБХ, которым была выполнена трансплантация пе-

Для корреспонденции: Ильинский Игорь Михайлович. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (999) 877-60-95. E-mail: iiljinsky@mail.ru

Corresponding author: Igor Iljinsky. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (999) 877-60-95. E-mail: iiljinsky@mail.ru

чени, снизилась с 20% в 1986 году до 4% в 2015 году ($p < 0,001$) [7].

В США в период с 1995-го по 2006 год при увеличении общего количества трансплантаций печени в среднем на 249 операций в год ($p < 0,001$) абсолютное число пересадок печени больным с ПБХ уменьшилось в среднем на 5,4 больного в год ($p = 0,004$). Аналогичную картину наблюдали в отношении абсолютного количества пациентов, включенных в лист ожидания трансплантации печени: 1) увеличение общего числа больных, независимо от диагноза, нуждающихся в трансплантации печени ($p = 0,001$); 2) снижение количества больных с ПБХ ($p < 0,001$); 3) отсутствие значимых изменений ($p = 0,083$) в количестве больных с первичным склерозирующим холангитом [8].

Раннее распознавание заболевания с помощью серологических тестов и лечение урсодезоксихолевой кислотой на начальной стадии заболевания не только увеличило продолжительность жизни, но и резко снизило потребность в ортотопической трансплантации печени [8, 11], особенно у пациентов с благоприятным биохимическим ответом на лечение [9, 10]. В Нидерландах в течение последних трех десятилетий также произошло снижение как абсолютного, так и относительного числа трансплантаций печени при ПБХ [4]. Авторы связывают эту тенденцию с общепринятым использованием урсодезоксихолевой кислоты в качестве стандартного метода лечения ПБХ, но не исключают возможности действия и других механизмов, учитывая множество сложных факторов, определяющих конечное количество пациентов, направленных на трансплантацию и в конечном итоге перенесших ее [4].

Урсодезоксихолевая кислота понижает уровень сывороточных печеночных ферментов и значительно снижает вероятность смерти через четыре года или необходимости в трансплантации печени [12]. Тем не менее примерно у 40% пациентов отсутствует биохимический ответ на лечение урсодезоксихолевой кислотой [13–15]. Неадекватный ответ на лечение урсодезоксихолевой кислотой прямо связан с повышенным риском смерти или необходимостью трансплантации печени [16, 17]. Поэтому пересадка печени остается единственным вариантом предотвращения преждевременной смерти пациентов с прогрессирующим ПБХ [18]. Летальность пациентов с ПБХ в листе ожидания трансплантации составляет 12%, что значительно превышает смертность при печеночной недостаточности другой этиологии [19].

Имеет место увеличение возраста пациентов с ПБХ на момент трансплантации [20, 21]. В одном из исследований [22] возраст части пациентов превышал 60 лет. Кроме того, было обнаружено, что с течением времени все большему числу мужчин с ПБХ выполняют трансплантацию печени [7, 22]. По дан-

ным европейского регистра, в период с 1986-го по 2015 год возраст пациентов с ПБХ, нуждающихся в трансплантации печени, увеличился с 54 (диапазон 47–59 лет) до 56 лет (диапазон 48–62), а доля мужчин увеличилась с 11 до 15% [7].

Показания к трансплантации печени больным с ПБХ. При развитии терминальной стадии заболевания пациентам с ПБХ требуется выполнение трансплантации печени [23]. Трансплантация печени – единственный эффективный метод лечения терминальной стадии ПБХ с вполне удовлетворительными результатами [18].

Показаниями к трансплантации являются низкое качество жизни или возможный летальный исход в течение менее одного года. По мнению G.C. Mac Quillan и J. Neuberger (2003) [24], при наличии множества прогностических моделей самым простым руководящим принципом выбора срока для трансплантации печени является уровень серологического билирубина. Ухудшение состояния пациентов с ПБХ может быть быстрым на конечных стадиях заболевания, что требует своевременного рассмотрения вопроса о трансплантации печени [17].

Биохимические показатели восстановления функции трансплантированной печени. После трансплантации печени функция печени восстанавливается к концу четвертой недели [18]. Активность аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы достигает своего пика один раз до этого восстановления [18]. В ретроспективном исследовании активность трансаминаз в первые сутки после трансплантации печени в 10–12 раз превышала верхние границы нормы и достигала нормального уровня к девятому дню. Ранние пики активности трансаминаз представляют собой отражение повреждения донорской печени при ее удалении с последующим ишемическим и реперфузионным повреждением при трансплантации [25]. Уровень гамма-глутамилтранспептидазы увеличивался до пика на седьмой день, а уровень щелочной фосфатазы увеличивался до пика на второй неделе. Уровень гамма-глутамилтранспептидазы повышается до максимума на девятый день после операции, а затем снижается. Раннее повышение гамма-глутамилтранспептидазы после трансплантации печени может быть вызвано ишемическим и реперфузионным повреждением, а также хирургическим стрессом у реципиента [26]. Уровни общего билирубина и прямого билирубина снижаются после операции до нормальных значений к четырем неделям. Билирубин является отличным прогностическим биомаркером для контроля восстановления функции печени. Динамический мониторинг билирубина полезен для раннего выявления билиарных осложнений [18].

Осложнения после трансплантации печени. По последним данным, частота инфекционных и

билиарных осложнений составляет 62% и 21% соответственно [18]. Бактериальные инфекции являются наиболее распространенными [27, 28]. Билиарные осложнения встречаются у 10–30% пациентов и бывают даже причиной летальности [29–31]. Тромбоз печеночной артерии является фатальным сосудистым осложнением с высокой смертностью (20–60%), с частотой 3–5% и обычно требует повторной трансплантации печени [30, 32]. В исследовании L. Chen et al. (2020) [18] у 3 (4,3%) пациентов был тромбоз печеночной артерии, а у 2 (2,9%) – тромбоз воротной вены; летальные осложнения – абдоминальное кровотечение, инфекция и печеночная недостаточность. У больных, страдавших ПБХ – большой риск развития хронического отторжения [24].

Выживаемость пациентов с ПБХ после трансплантации печени. В ретроспективном исследовании базы данных United Network for Organ Sharing выживаемость пациентов через год, три и пять лет при трансплантации печени от живого донора составила 95,5; 93,6 и 92,5%, а при трансплантации печени от посмертного донора – 90,9; 86,5 и 84,9% соответственно [33]. Общая выживаемость пациентов с ПБХ после трансплантации печени составляет: годовая – 93–94%, трехлетняя – 90–91% и пятилетняя – 82–86% [34]. В исследовании L. Chen et al. (2020) [18] одно- и трехлетняя выживаемость после трансплантации печени составили 98,6 и 95,1% соответственно. Более 70% больных живут свыше 10 лет [35, 36]. Отдаленное наблюдение (до 15 лет) за пациентами после пересадки печени по поводу ПБХ показало превосходную функцию трансплантата и выживаемость пациентов [37].

Возвратный ПБХ. Первичный билиарный холангит, так же как и другие аутоиммунные заболевания (первичный склерозирующий холангит и аутоиммунный гепатит), может рецидивировать после трансплантации печени [38, 39]. Трансплантационные центры сообщали о развитии рекуррентного ПБХ после пересадки как печени от трупного донора [37, 40], так и доли печени от живого донора [41–43]. Возврат заболевания не влиял на долгосрочную выживаемость пациента или трансплантата [44]. Возвратный ПБХ имеет легкое клиническое течение, медленно прогрессирует и редко бывает причиной ретрансплантации печени [45, 46]. Результаты трансплантации печени пациентам, страдавшим ПБХ, являются превосходными, с пятилетней выживаемостью пациента и трансплантата, превышающей 90 и 75%. Вместе с тем в последние годы проблема возврата ПБХ после пересадки печени все чаще признается в качестве причины дисфункции трансплантата, смерти и необходимости повторной трансплантации [47].

Частота и сроки развития возвратного ПБХ. Возврат ПБХ после трансплантации печени встречается у значительного числа реципиентов [48]. Его

частота может достигать от 32% [37] до 50% [24]. R.F. Liermann Garcia et al. (2001) [49] диагностировали возвратный ПБХ у 67 (17%) из 400 пациентов. Гистологические признаки возврата заболевания наблюдали в среднем через три года после трансплантации печени. Одному пациенту через восемь лет после первичной пересадки печени потребовалась ретрансплантация.

R. Kurdow et al. (2003) [50] наблюдали в среднем в течение 114 месяцев за 18 пациентами с ПБХ, которым была выполнена трансплантация печени. У шести пациентов, по данным исследования биоптатов печени, развился возврат первичного заболевания, а у одного из них возникла и недостаточность трансплантата. Антимитохондриальные антитела присутствовали у всех пациентов в первый же год после трансплантации. Серологические параметры повысились у 16 из 18 пациентов. В другом исследовании [51] возвратный ПБХ развился в трансплантационной печени у семи (15, 2%) из 46 пациентов. Все эти пациенты были живы через три и пять лет после диагностики возврата заболевания.

J. Neuberger et al. (2004) [38] привел данные о 485 пациентах с ПБХ. После пересадки печени в ежегодных протокольных биоптатах трансплантата гистологические признаки рецидива заболевания были обнаружены у 114 (24,8%) больных в среднем через 79 месяцев после операции.

J.E. Guy et al. (2005) [52] наблюдал после трансплантации печени 48 пациентов с ПБХ. Через год после операции у 27 (56, 3%) пациентов было увеличение в сыворотке крови уровня щелочной фосфатазы. В биоптатах трансплантата достоверные признаки возвратного заболевания были у четырех (8%) пациентов, подозрение на рецидив – у 11 (23%) пациентов и неспецифическое повреждение, возможно, связанное с рецидивом ПБХ, – у двух (4%) пациентов.

По данным D.A. Jacob et al. (2006) [37], между апрелем 1989-го и апрелем 2003 года было выполнено 1553 трансплантации печени 1415 пациентам в Вирховской клинике Берлина. Биопсии печени по протоколу выполняли через один, три, пять, семь, 10 и 13 лет после операции. У 100 (7%) пациентов был гистологически доказан возврат ПБХ. Первичная иммуносупрессия включала циклоспорин (n = 54) или такролимус (n = 46). Сразу после трансплантации печени все пациенты получили урсодезокси-холевую кислоту. Кортикостероиды отменяли через три–шесть месяцев после пересадки печени. Средний возраст 85 женщин и 15 мужчин был 55 лет (диапазон – от 25 до 66 лет). Средний срок наблюдения за пациентами после трансплантации печени – 118 месяцев (диапазон – от 16 до 187 месяцев), а после возврата заболевания – 30 месяцев (диапазон – от 4 до 79 месяцев). Актуальное выживание пациентов

через 5, 10 и 15 лет было 87, 84 и 82% соответственно. Десять (10%) пациентов умерли в среднем через 32 месяца после трансплантации печени. У двух из них дисфункция трансплантата развилась вследствие возврата ПБХ. По гистологическим данным, возврат ПБХ произошел у 14 (14%) пациентов в среднем через 61 месяц (диапазон – от 36 до 122 месяцев) после пересадки печени. У пациентов, находившихся на иммуносупрессии такролимусом, возврат заболевания происходил чаще ($p < 0,05$) и в более ранние сроки ($p < 0,05$). У 57 пациентов развилось острое отторжение, а у двух – хроническое отторжение. После гистологически диагностированного возврата ПБХ функция трансплантированной печени не изменялась в течение последующих пяти лет.

На основании метаанализа M. Gautam et al. (2006) [53] установили, что рекуррентный ПБХ развился у 204 (16%) из 1241 пациентов в среднем через 46,5 месяца (диапазон – от 25 до 78 месяцев); средний возраст пациентов во время трансплантации печени был 52 года (диапазон – от 46,2 до 56 лет); большинство из них были женщины (90%).

T. Kogiso et al. (2017) [54] провели ретроспективное многоцентровое исследование рекуррентного ПБХ у 388 пациенток после трансплантации печени от живого донора. Послеоперационные факторы были оценены у 312 пациенток, которые выжили более одного года после трансплантации печени от живого донора. Рекуррентный ПБХ диагностировали при аномальном повышении уровня печеночных ферментов в сочетании с типичными гистологическими изменениями в биоптатах печени. У 58 (14,9%) пациентов рекуррентный ПБХ развился в среднем через 4,6 (0,8–14,5) года после трансплантации печени.

В исследовании L. Chen et al. (2020) [18] были включены 69 пациентов с ПБХ, которым была выполнена пересадка печени. Пятилетняя общая выживаемость и частота возврата ПБХ составили 95,1 и 21,8% соответственно. Индекс отношения аспаратаминотрансферазы к тромбоцитам реципиента, превышающий 2, был отрицательно связан с выживаемостью ($p = 0,0018$).

В Японии отмечена довольно высокая частота развития рекуррентного ПБХ. При наблюдении в среднем в течение 10 лет (диапазон 1,4–18,7) у 29 (48%) пациентов с ПБХ после трансплантации печени от живых доноров был диагностирован возврат заболевания в среднем через 4,6 года (диапазон 1,3–14,5) [55].

Возвратный ПБХ развивается в среднем через 3–5,5 года после трансплантации печени [37, 49, 56]. Только в исследовании J.E. Guy et al. (2005) [52] среднее время возврата ПБХ составило 1,6 года. Частота рецидивов ПБХ колеблется от 1 до 35% [14, 58]. Через пять, 10 и 15 лет после трансплантации печени возврат ПБХ был выявлен у 9,6; 20,6 и 40,4% паци-

ентов соответственно [57]. Возврат ПБХ в краткосрочной и среднесрочной перспективе редко влияет на выживаемость пациента и трансплантата, но в долгосрочной перспективе может оказывать негативное влияние на эти показатели [18].

Этиология и патогенез возвратного ПБХ. Этиология возвратного ПБХ такая же, как и заболевания нативной печени. Механизм повреждения желчных протоков антимитохондриальными антителами связан с иммунной атакой на абберантно экспрессированные молекулы антигенов (например, E2-комплекса пируватдегидрогеназы) эпителиоцитов желчных протоков.

Факторы риска возвратного ПБХ. Риск рекуррентного ПБХ увеличивается со временем, прошедшим после трансплантации печени, но не коррелирует с частотой потери ее функции [59]. В исследовании H. Chen et al. (2020) [18] частота рецидива ПБХ после трансплантации увеличивалась по мере увеличения сроков после операции: 3,5% через один год, 8,1% через три года и 21,8% через пять лет. У половины пациентов появляются гистологические признаки возврата ПБХ через 10 лет после операции, но у них редко возникают клинические проблемы [24]. Поскольку длительность наблюдения за пациентами с ПБХ увеличилась, становится очевидным, что возврат этого заболевания в трансплантированной печени не является редким осложнением [60].

Иммуносупрессивная терапия может влиять на время и скорость развития возвратного ПБХ. Однако по этому вопросу нет единого мнения, в литературе встречаются противоречивые взгляды: одни авторы находят различия в частоте этого осложнения в зависимости от используемых иммуносупрессивных препаратов [59], другие же, и их большинство, отрицают такую зависимость [36, 38, 51, 61]. Ранее считали, что ингибиторы кальциневрина связаны с риском развития возвратного ПБХ [38, 62]. Позднее было установлено, что они не оказывают существенного влияния на развитие возвратного ПБХ [36].

Относительно высокую частоту рекуррентного ПБХ связывали с ранней отменой стероидов после трансплантации печени, а также с отменой ингибиторов кальциневрина. По мнению T.C. Schreuder et al. (2009) [59], фактором риска возвратного ПБХ является использование такролимуса, а не циклоспорина. Многофакторный анализ подтвердил это положение [37].

A.J. Montano-Loza et al. (2019) [63] полагают, что лечение циклоспорином предупреждает развитие возвратного ПБХ. Напротив, T. Kogiso et al. (2017) считают, что начальное лечение циклоспорином достоверно ($p < 0,05$) связано с развитием рекуррентного ПБХ [54]. В японском многоцентровом исследовании также нашли, что циклоспорин был фактором риска рецидива ПБХ. Однако переход с такролимуса

на циклоспорин через год после трансплантации печени значительно снижал риск его развития [57].

Многие авторы придают большое значение возрасту реципиента [49, 54]. Считается, что реципиенты моложе 48 лет подвержены большему риску рецидива ПБХ [57]. В недавнем исследовании многофакторный регрессионный анализ показал, что возраст реципиентов моложе 48 лет является независимым фактором риска возврата ПБХ ($p = 0,03$) [18]. Многоцентровое исследование, включавшее 785 пациентов с ПБХ, перенесших трансплантацию печени, показало, что в более молодом возрасте применение такролимуса и дисфункция печени в ранние сроки после операции были связаны с повышенным риском возврата ПБХ [63].

Риск развития возвратного ПБХ связан также со многими другими факторами: более короткое время операции [54], персистенция сывороточных антимитохондриальных антител, более высокий уровень сывороточного иммуноглобулина М [54], несоответствие с полом донора [54, 57, 64], различные типы HLA, несоответствие по HLA [42, 61, 65–67] и наличие HLA B60 [54].

На развитие возвратного ПБХ влияют не только факторы реципиента, но и факторы донора. Однако они менее многочисленны и менее значимы. К ним относят возраст донора и время тепловой ишемии [49].

Диагностика возвратного ПБХ. Основным показателем при диагностике возвратного ПБХ является наличие гистологических признаков в пункционных биоптатах трансплантированной печени; биопсии выполняют не ранее первых трех месяцев после операции [59]. В отличие от биопсий, выполняемых только после появления дисфункции печени, регулярные протокольные биопсии могут обнаружить возврат ПБХ в более ранние сроки [40]. Поэтому в ранней диагностике ПБХ особенно большая роль принадлежит именно биопсиям, выполненным по протоколу [59]. Их выполнение позволило обнаружить возврат заболевания у 14 (14%) пациентов, только у двух из них развилась дисфункция трансплантата [37]. Антимитохондриальные антитела не являются надежным маркером рецидива, так как после операции они могут сохраняться в сыворотке крови пациентов [24]. Таким образом, пункционная биопсия печени является «золотым стандартом» при диагностике возвратного ПБХ [18].

Патоморфология возвратного ПБХ. Гранулематозный деструктивный холангит, или «цветущее поражение протока» («florid duct lesion») – наиболее специфический гистологический признак ПБХ и его возврата [68]. К сожалению, он часто отсутствует в биоптатах и только у 4,8% пациентов был найден в биоптатах трансплантированной печени в среднем через 2,75 года после операции [46]. Тем не менее

многие авторы относят гранулематозный холангит хотя и к редкому, но наиболее характерному признаку возврата ПБХ [45, 56, 62].

Эпителиоидные гранулемы в портальных трактах – менее специфический и также редко встречающийся гистологический признак – позволяют только предположить возврат ПБХ. Они были обнаружены у 3,8% пациентов в среднем через 2,75 года после операции.

К другим признакам возвратного ПБХ относят повреждение желчных протоков и их потерю, хроническое портальное воспаление, реактивные изменения желчных протоков и фиброз. Необходимо учитывать, что в трансплантированной печени часто бывает одновременно не одно, а сочетание двух или нескольких заболеваний, что делает трудным или невозможным постановку точного гистологического диагноза возвратного ПБХ. Поэтому, возможно, имеется гиподиагностика из-за строгого подхода к оценке гистологических критериев и короткого времени наблюдения за пациентами [46].

P.V. Sylvestre et al. (2003) [56] сравнили морфологию биоптатов трансплантированной печени 100 пациентов, страдавших ПБХ, и 35 пациентов, у которых первичные заболевания нативной печени были другими. В протокольных биоптатах трансплантированной печени из 100 пациентов с ПБХ у 14 было обнаружено выраженное повреждение желчных протоков, а у трех – деструктивный лимфоцитарный холангит в пределах плотного портального инфильтрата. У контрольной группы из 35 пациентов подобные повреждения не были обнаружены.

Дифференциальная диагностика. При дифференциальной диагностике необходимо исключить вирусный гепатит, билиарную обструкцию и острое или хроническое отторжение [68], болезнь «трансплантат против хозяина», лекарственные воздействия [69], также гепатит или повреждение больших желчных протоков [68]. Дифференциация возврата ПБХ от других поздних осложнений, чаще от отторжения, затруднена. Возвратный ПБХ особенно трудно дифференцировать от хронического отторжения [38]. Поэтому рабочая группа Банфа по патологии аллотрансплантата печени предлагает проводить экстенсивные клинико-патоморфологические корреляции при дисфункции трансплантата печени, возникающей более чем через один год после операции [70].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Первичный билиарный холангит был длительное время одним из ведущих показаний для трансплантации печени и составлял до 50% от таких операций. В настоящее время произошло значительное снижение числа пересадок печени при ПБХ. Это связано с ранней диагностикой заболевания и своевременным началом лечения урсодезоксихолевой

кислотой и другими препаратами, но примерно у 40% пациентов развивается терминальная стадия заболевания, требующая по-прежнему проведения трансплантации печени. Выживаемость пациентов и трансплантатов превышает 90 и 75%. После операции возможно развитие инфекционных и билиарных осложнений, частота которых составляет 62 и 21% соответственно. В последние годы проблема возврата ПБХ после пересадки печени все чаще признается в качестве причины дисфункции трансплантата, смерти и необходимости повторной трансплантации. Риск рекуррентного ПБХ увеличивается со временем, прошедшим после трансплантации печени. Основным методом диагностики возвратного ПБХ является наличие гистологических признаков в пункционных биоптатах трансплантированной печени. Необходимо учитывать, что в трансплантированной печени часто бывает одновременно не одно, а сочетание двух или нескольких заболеваний, что делает трудным или невозможным постановку точного гистологического диагноза возвратного ПБХ. Для своевременной диагностики возвратного ПБХ рабочая группа Банффа предлагает проводить экстенсивные корреляции клинических и патоморфологических показателей при дисфункции трансплантата печени, возникающей более чем через один год после операции.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Milkiewicz P.* Liver transplantation in primary biliary cirrhosis. *Clin Liver Dis.* 2008; 12 (2): 461–472. doi: 10.1016/j.cld.2008.02.015.
2. *Boonstra K, Beuers U, Ponsioen CY.* Epidemiology of primary sclerosing cholangitis and primary biliary cirrhosis: a systematic review. *J Hepatol.* 2012 May; 56 (5): 1181–1188. doi: 10.1016/j.jhep.2011.10.025.
3. *Griffiths L, Dyson JK, Jones DE.* The new epidemiology of primary biliary cirrhosis. *Semin Liver Dis.* 2014 Aug; 34 (3): 318–328. doi: 10.1055/s-0034-1383730.
4. *Kuiper EM, Hansen BE, de Vries RA, den Ouden-Muller JW, van Ditzhuijsen TJ et al.* Improved prognosis of patients with primary biliary cirrhosis that have a biochemical response to ursodeoxycholic acid. *Gastroenterology.* 2009; 136: 1281–1287.
5. *Schoning W, Schmeding M, Ulmer F, Andert A, Neumann U.* Liver transplantation for patients with cholestatic liver diseases. *Viszeralmedizin.* 2015; 31: 194–198. doi: 10.1159/000431017.
6. *Sun CK, Chen CL, Concejero AM, Wang CC, Wang SH, Liu YW et al.* Liver transplantation for primary biliary cirrhosis in a hepatitis endemic region: a single-center Asian experience. *Clinical Transplantation.* 2011; 25: 47–53. doi: 10.1111/j.1399-0012.2010.01288.x.
7. *Harms MH, Janssen QP, Adam R, Duvoux C, Mirza D, Hidalgo E et al.* European Liver and Intestine Transplant Association (ELITA). Trends in liver transplantation for primary biliary cholangitis in Europe over the past three decades. *Aliment Pharmacol Ther.* 2019 Feb; 49 (3): 285–295. doi: 10.1111/apt.15060.
8. *Lee J, Belanger A, Doucette JT, Stanca C, Friedman S, Bach N.* Transplantation trends in primary biliary cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2007 Nov; 5 (11): 1313–1315. doi: 10.1016/j.cgh.2007.07.015.
9. *Pares A, Caballeria L, Rodes J.* Excellent long-term survival in patients with primary biliary cirrhosis and biochemical response to ursodeoxycholic Acid. *Gastroenterology.* 2006; 130 (3): 715–720. doi: 10.1053/j.gastro.2005.12.029.
10. *Corpechot C, Abenavoli L, Rabahi N, Chretien Y, Andreani T, Johanet C et al.* Biochemical response to ursodeoxycholic acid and long-term prognosis in primary biliary cirrhosis. *Hepatology.* 2008; 48 (3): 871–877. doi: 10.1002/hep.22428.
11. *Lammers WJ, van Buuren HR, Hirschfield GM, Jansen HL, Invernizzi P, Mason AL et al.* Global PBC Study Group. Levels of alkaline phosphatase and bilirubin are surrogate end points of outcomes of patients with primary biliary cirrhosis: an international follow-up study. *Gastroenterology.* 2014 Dec; 147 (6): 1338–1349.e5; quiz e15. doi: 10.1053/j.gastro.2014.08.029.
12. *Poupon R, Ping C, Chretien Y, Corpechot C, Chazouilleres O, Simon T et al.* Genetic factors of susceptibility and of severity in primary biliary cirrhosis. *J Hepatol.* 2008; 49: 1038–1045.
13. *Hohenester S, Oude-Elferink RP, Beuers U.* Primary biliary cirrhosis. *Semin Immunopathol.* 2009; 31: 283–307.
14. *Akamatsu N, Sugawara Y.* Primary biliary cirrhosis and liver transplantation. *Intractable & Rare Diseases Research.* 2012; 1: 66–80. doi: 10.5582/irdr.2012.v1.2.66.
15. *Aguilar MT, Carey EJ.* Current Status of Liver Transplantation for Primary Biliary Cholangitis. *Clin Liver Dis.* 2018 Aug; 22 (3): 613–624. doi: 10.1016/j.cld.2018.03.011.
16. *Ter Borg PC, Schalm SW, Hansen BE, van Buuren HR.* Dutch PBC Study Group. Prognosis of ursodeoxycholic Acid-treated patients with primary biliary cirrhosis. Results of a 10-yr cohort study involving 297 patients. *Am J Gastroenterol.* 2006 Sep; 101 (9): 2044–2050. doi: 10.1111/j.1572-0241.2006.00699.x.
17. *Hirschfield GM, Dyson JK, Alexander GJM, Chapman MH, Collier J, Hübscher S et al.* The British Society of Gastroenterology/UK-PBC primary biliary cholangitis treatment and management guidelines. *Gut.* 2018 Sep; 67 (9): 1568–1594. doi: 10.1136/gutjnl-2017-315259.
18. *Chen L, Shi X, Lv G, Sun X, Sun C et al.* The long-term outcomes of deceased-donor liver transplantation for primary biliary cirrhosis: a two-center study in China. *PeerJ.* 2020; 8: e9563. Published 2020 Aug 19. doi: 10.7717/peerj.9563.
19. *Singal AK, Fang X, Kaif M, Hasanin M, Mcguire BM, Kuo YF, Wiesner RH.* Primary biliary cirrhosis has high wait-list mortality among patients listed for liver trans-

- plantation. *Transpl Int*. 2017 May; 30 (5): 454–462. doi: 10.1111/tri.12877.
20. Murillo Perez CF, Goet JC, Lammers WJ, Gulamhussein A, van Buuren HR, Ponsoen CY et al. GLOBAL PBC Study Group. Milder disease stage in patients with primary biliary cholangitis over a 44-year period: A changing natural history. *Hepatology*. 2018 May; 67 (5): 1920–1930. doi: 10.1002/hep.29717.
 21. Webb GJ, Rana A, Hodson J, Akhtar MZ, Ferguson JW, Neuberger JM et al. Twenty-Year Comparative Analysis of Patients With Autoimmune Liver Diseases on Transplant Waitlists. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2018 Feb; 16 (2): 278–287.e7. doi: 10.1016/j.cgh.2017.09.062.
 22. Lleo A, Jepsen P, Morengi E, Carbone M, Moroni L, Battezzati PM et al. Evolving Trends in Female to Male Incidence and Male Mortality of Primary Biliary Cholangitis. *Sci Rep*. 2016 May 19; 6: 25906. doi: 10.1038/srep25906.
 23. Silveira MG, Talwalkar JA, Lindor KD, Wiesner RH. Recurrent primary biliary cirrhosis after liver transplantation. *Am J Transplant*. 2010; 10: 720–726.
 24. Mac Quillan GC, Neuberger J. Liver transplantation for primary biliary cirrhosis. *Clin Liver Dis*. 2003; 7: 941–956.
 25. Naik P, Sritharan V, Bandi P, Madhavarapu M. A single centre prospective study of liver function tests in post liver transplant patients. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 2013; 28: 38–45. doi: 10.1007/s12291-012-0245-4.
 26. Zhang W, Wang M, Xie HY, Zhou L, Meng XQ, Shi J, Zheng S. Role of reactive oxygen species in mediating hepatic ischemia-reperfusion injury and its therapeutic applications in liver transplantation. *Transplantation Proceedings*. 2007; 39: 1332–1337. doi: 10.1016/j.transproceed.2006.11.021.
 27. Li C, Wen TF, Mi K, Wang C, Yan LN, Li B. Analysis of infections in the first 3-month after living donor liver transplantation. *World Journal of Gastroenterology*. 2012; 18: 1975–1980. doi: 10.3748/wjg.v18.i16.1975.
 28. Vera A, Contreras F, Guevara F. Incidence and risk factors for infections after liver transplant: single-center experience at the University Hospital Fundacion Santa Fe de Bogota, Colombia. *Transplant Infectious Disease*. 2011; 130: 608–615. doi: 10.1111/j.1399-3062.2011.00640.x.
 29. Wojcicki M, Milkiewicz P, Silva M. Biliary tract complications after liver transplantation: a review. *Digestive Surgery*. 2008; 25: 245–257. doi: 10.1159/000144653.
 30. Khalaf H. Vascular complications after deceased and living donor liver transplantation: a single-center experience. *Transplantation Proceedings*. 2010; 42: 865–870. doi: 10.1016/j.transproceed.2010.02.037.
 31. Mejia GA, Olarte-Parra C, Pedraza A, Rivera JB, Benavides CA. Biliary complications after liver transplantation: incidence. Risk factors and impact on patient and graft survival. *Transplantation Proceedings*. 2016; 48: 665–668. doi: 10.1016/j.transproceed.2016.02.033.
 32. Ma L, Lu Q, Luo Y. Vascular complications after adult living donor liver transplantation: evaluation with ultrasonography. *World Journal of Gastroenterology*. 2016; 22: 1617–1626. doi: 10.3748/wjg.v22.i4.1617.
 33. Kashyap R, Safadjou S, Chen R, Mantry P, Sharma R, Patil V et al. Living donor and deceased donor liver transplantation for autoimmune and cholestatic liver diseases – an analysis of the UNOS database. *Journal of Gastrointestinal Surgery*. 2010; 14: 1362–1369. doi: 10.1007/s11605-010-1256-1.
 34. Liberal R, Zen Y, Mieli-Vergani G, Vergani D. Liver transplantation and autoimmune liver diseases. *Liver Transplantation*. 2013; 19: 1065–1077. doi: 10.1002/lt.23704.
 35. Maheshwari A, Yoo HY, Thuluvath PJ. Long-term outcome of liver transplantation in patients with PSC: a comparative analysis with PBC. *Am J Gastroenterol*. 2004; 99: 538–542.
 36. Jacob DA, Neumann UP, Bahra M et al. Liver transplantation for primary biliary cirrhosis: influence of primary immunosuppression on survival. *Transplant Proc*. 2005; 37: 1691–1692.
 37. Jacob DA, Neumann UP, Bahra M et al. Long-term follow-up after recurrence of primary biliary cirrhosis after liver transplantation in 100 patients. *Clin Transpl*. 2006; 20: 211–220.
 38. Neuberger J, Gunson B, Hubscher S, Nightingale P. Immunosuppression affects the rate of recurrent primary biliary cirrhosis after liver transplantation. *Liver Transpl*. 2004; 10: 488–491.
 39. Ziarkiewicz-Wrobiewska B, Wroblewski T, Wasiutynski A. Morphological features and differential diagnosis of hepatitis C recurrence after liver transplantation – literature review and results of single transplantation center. *Ann Transplant*. 2008; 13 (2): 12–20.
 40. Charatcharoenwitthaya P, Pimentel S, Talwalkar JA et al. Long-term survival and impact of ursodeoxycholic acid treatment for recurrent primary biliary cirrhosis after liver transplantation. *Liver Transpl*. 2007; 13: 1236–1245.
 41. Haga H, Miyagawa-Hayashino A, Taira K et al. Histological recurrence of autoimmune liver diseases after living-donor liver transplantation. *Hepatol Res*. 2007; 37: 463–469.
 42. Hashimoto E, Taniai M, Yatsuji S et al. Long-term clinical outcome of living-donor liver transplantation for primary biliary cirrhosis. *Hepatol Res*. 2007; 37: 455–461.
 43. Yamagiwa S, Ichida T. Recurrence of primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis after liver transplantation in Japan. *Hepatol Res*. 2007; 37: 449–454.
 44. Duclos-Vallee JC, Sebagh M. Recurrence of autoimmune disease, primary sclerosing cholangitis, primary biliary cirrhosis, and autoimmune hepatitis after liver transplantation. *Liver Transpl*. 2009; 15 (Suppl 2): S25–34. doi: 10.1002/lt.21916.
 45. Neuberger J. Liver transplantation for primary biliary cirrhosis: indications and risk of recurrence. *J Hepatol*. 2003; 39: 142–148.
 46. Hytiroglou P, Gutierrez JA, Freni M et al. Recurrence of primary biliary cirrhosis and development of autoimmune hepatitis after liver transplant: A blind histologic study. *Hepatol Res*. 2009; 39 (6): 577–584.

47. Mendes F, Couto CA, Levy C. Recurrent and *de novo* autoimmune liver diseases. *Clin Liver Dis.* 2011; 15 (4): 859–878. doi: 10.1016/j.cld.2011.08.008.
48. Carbone M, Neuberger J. Liver transplantation in PBC and PSC: Indications and disease recurrence. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2011; 35: 446–454. doi: 10.1016/j.clinre.2011.02.007.
49. Liermann Garcia RF, Evangelista Garcia C, McMaster P, Neuberger J. Transplantation for primary biliary cirrhosis: Retrospective analysis of 400 patients in a single center. *Hepatology.* 2001; 33: 22–27.
50. Kurdow R, Marks HG, Kraemer-Hansen H et al. Recurrence of primary biliary cirrhosis after orthotopic liver transplantation. *Hepatogastroenterology.* 2003; 50: 322–325.
51. Levitsky J, Hart J, Cohen SM, Te HS. The effect of immunosuppressive regimens on the recurrence of primary biliary cirrhosis after liver transplantation. *Liver Transpl.* 2003; 9: 733–736.
52. Guy JE, Qian P, Lowell JA, Peters MG. Recurrent primary biliary cirrhosis: peritransplant factors and ursodeoxycholic acid treatment post-liver transplant. *Liver Transpl.* 2005; 11: 1252–1257.
53. Gautam M, Cheruvattath R, Balan V. Recurrence of autoimmune liver disease after liver transplantation: a systematic review. *Liver Transpl.* 2006; 12 (12): 1813–1824.
54. Kogiso T, Egawa H, Teramukai S, Taniai M, Hashimoto E et al. Risk factors for recurrence of primary biliary cholangitis after liver transplantation in female patients: A Japanese multicenter retrospective study. *Hepatol Commun.* 2017 May 16; 1 (5): 394–405. doi: 10.1002/hep4.1037.
55. Yamashiki N, Haga H, Ueda Y, Ito T, Yagi S et al. Use of Nakanuma staging and cytokeratin 7 staining for diagnosing recurrent primary biliary cholangitis after living-donor liver transplantation. *Hepatol Res.* 2020 Apr; 50 (4): 478–487. doi: 10.1111/hepr.13476.
56. Sylvestre PB, Batts KP, Burgart LJ et al. Recurrence of primary biliary cirrhosis after liver transplantation: histologic estimate of incidence and natural history. *Liver Transpl.* 2003; 9: 1086–1093.
57. Egawa H, Sakisaka S, Teramukai S, Sakabayashi S, Yamamoto M, Umeshita K et al. Long-term outcomes of living-donor liver transplantation for primary biliary cirrhosis: a Japanese multi-center study. *Am J Transplant.* 2016; 16: 1248–1257.
58. Bosch A, Dumortier J, Maucort-Boulch D, Scoazec JY, Wendum D, Conti F et al. Preventive administration of UDCA after liver transplantation for primary biliary cirrhosis is associated with a lower risk of disease recurrence. *Journal of Hepatology.* 2015; 63: 1449–1458. doi: 10.1016/j.jhep.2015.07.038.
59. Schreuder TC, Hubscher SG, Neuberger J. Autoimmune liver diseases and recurrence after orthotopic liver transplantation: what have we learned so far? *Transpl Int.* 2009; 22: 144–152.
60. Kotlyar DS, Campbell MS, Reddy KR. Recurrence of diseases following orthotopic liver transplantation. *Am J Gastroenterol.* 2006; 101: 1370–1378.
61. Sanchez EQ, Levy MF, Goldstein RM et al. The changing clinical presentation of recurrent primary biliary cirrhosis after liver transplantation. *Transplantation.* 2003; 76: 1583–1588.
62. Khettry U, Anand N, Faul PN, Lewis WD, Pomfret EA, Pomposelli J et al. Liver transplantation for primary biliary cirrhosis: a long-term pathologic study. *Liver Transpl.* 2003; 9: 87–96.
63. Montano-Loza AJ, Hansen BE, Corpechot C, Roccarina D, Thorburn D, Trivedi P et al. Global PBC Study Group. Factors Associated With Recurrence of Primary Biliary Cholangitis After Liver Transplantation and Effects on Graft and Patient Survival. *Gastroenterology.* 2019 Jan; 156 (1): 96–107.e1. doi: 10.1053/j.gastro.2018.10.001.
64. Grąt M, Lewandowski Z, Patkowski W, Wronka KM, Grąt K, Krasnodębski M et al. Relevance of male-to-female sex mismatch in liver transplantation for primary biliary cirrhosis. *Ann Transplant.* 2015; 20: 116–123.
65. Morioka D, Egawa H, Kasahara M, Jo T, Sakamoto S, Ogura Y et al. Impact of human leukocyte antigen mismatching on outcomes of living donor liver transplantation for primary biliary cirrhosis. *Liver Transpl.* 2007; 13: 80–90.
66. Balan V, Ruppert K, Demetris AJ, Ledneva T, Duquesnoy RJ, Detre KM et al. Long-term outcome of human leukocyte antigen mismatching in liver transplantation: results of the National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases Liver Transplantation Database. *Hepatology.* 2008; 48: 878–888.
67. Manousou P, Arvaniti V, Tsochatzis E, Isgro G, Jones K, Shirling G et al. Primary biliary cirrhosis after liver transplantation: influence of immunosuppression and human leukocyte antigen locus disparity. *Liver Transpl.* 2010; 16: 64–73.
68. Hubscher SG, Portmann BC. Transplantation pathology. In: Burt A.D., Portmann B.C., Ferrell L.D. editors. *MacSween's Pathology of the Liver.* 5th edn. London: Churchill Livingstone. 2007: 815–879.
69. Faust ThW. Recurrent Primary Biliary Cirrhosis, Primary Sclerosing Cholangitis, and Autoimmune Hepatitis After Transplantation. *Liver Transplantation.* 2001; 7 (11), Suppl 1: 99–108.
70. Demetris AJ, Adeyi O, Bellamy CO, Clouston A, Charlotte F et al. Liver biopsy interpretation for causes of late liver allograft dysfunction. Banff Working Group. *Hepatology.* 2006; 44 (2): 489–501. doi: 10.1002/hep.21280.

Статья поступила в редакцию 25.11.2020 г.
The article was submitted to the journal on 25.11.2020

DOI: 10.15825/1995-1191-2022-1-23-30

ИСТОРИЯ И ОПЫТ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ В УЗБЕКИСТАНЕ

З.Т. Маткаримов, Ф.Ш. Бахритдинов, Р.А. Ибадов, А.С. Суюмов, К.О. Махмудов, А.Р. Ахмедов, Ш.И. Шерназаров, М.О. Рустамов, З.У. Абдугафуров, У.М. Саатова, Ж.Б. Уринов

ГУ «Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр хирургии имени академика В. Вахидова», Ташкент, Узбекистан

В данной работе представлен краткий очерк истории развития трансплантационной службы в РУз, зародившейся в Центре трансплантации почки АН РУз. Освещена роль выдающихся ученых Узбекистана, их труды и усилия на пути создания отдельного направления клинической и научной медицины в РУз. Показаны достижения научной школы академика АН Республики Узбекистан У.А. Арипова, выполнившего в 1972 г. первую успешную трансплантацию почки. Отражены взлеты и падения отечественной службы трансплантационной нефрологии, а также зарождение отечественной школы трансплантации почки в Государственном учреждении «Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр хирургии (РСНПМЦХ) имени академика В. Вахидова» во главе с академиком Ф.Г. Назировым, придавшей стимул «второго дыхания» отечественной трансплантологической школе. Отдельное внимание обращено на актуальные проблемы отечественной трансплантологии, отражены морально-этические и нормативно правовые вопросы, неизбежно сопровождающие указанное научно-клиническое направление. Приведены результаты трансплантации почки в Узбекистане, обозначены перспективы дальнейших научных и клинических направлений.

Ключевые слова: пересадка почки, история трансплантации почки, живые родственные доноры, иммуносупрессивная терапия.

HISTORY AND BACKGROUND OF KIDNEY TRANSPLANTATION IN UZBEKISTAN

Z.T. Matkarimov, F.S. Bahritdinov, R.A. Ibadov, A.S. Suyumov, Q.O. Mahmudov, A.R. Ahmedov, S.I. Shernazarov, M.O. Rustamov, Z.U. Abdugafurov, U.M. Saatova, J.B. Urinov

Vakhidov Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Surgery, Tashkent, Uzbekistan

This paper presents a brief outline of the history of transplantation service in the Republic of Uzbekistan, which originated at the country's Center for Kidney Transplantation. The role played by outstanding scientists in Uzbekistan, their works and efforts towards the creation of a separate area of clinical and scientific medicine in Uzbekistan, are highlighted. Achievements by the research school of U.A. Aripov, Academician of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, who performed the first successful kidney transplantation in 1972, are shown. The ups and downs of national transplantation nephrology, as well as the birth of a national school of kidney transplantation, domiciled at the Vakhidov Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Surgery, headed by academician F.G. Nazirov, and giving a stimulus to the «second breath» of the national school of transplantology, is reflected. Separate attention is devoted to the actual problems of national transplantology, moral, ethical and regulatory issues that inevitably accompany this scientific and clinical direction are reflected. Kidney transplant outcomes in Uzbekistan are given, the prospects for further scientific and clinical directions are indicated.

Keywords: kidney transplantation, kidney transplant history, living related donors, immunosuppressive therapy.

Для корреспонденции: Маткаримов Зоҳиджон Турдалиевич. Адрес: 700138, Ташкент, Учтепинский район, 15-й квартал, д. 21, кв. 17. Тел. +998 (90) 995-31-03. E-mail: dok.mzt@mail.ru

Corresponding author: Zohidjon Matkarimov. Address: apt 17, building 21, block 15, Uchtepa District, Tashkent, 700138, Uzbekistan. Phone: +998 (90) 995-31-03. E-mail: dok.mzt@mail.ru

Как известно, трансплантация почки (ТП) является единственным радикальным способом помощи пациентам, страдающим хроническими прогрессирующими заболеваниями почки. По данным ВОЗ, на сегодняшний день количество пациентов, страдающих терминальными заболеваниями почки, в мире превышает 4 млн человек, в то же время неуклонно растет и количество оперативных вмешательств, направленных на замену утратившего свои функции органа. С улучшением хирургической техники, а также более детальным пониманием механизмов иммуносупрессии ТП позволяет добиться пяти- и десятилетней выживаемости, равной 90 и 74% соответственно (по данным UNOS, США) [1].

В то же время заболеваемость хроническими прогрессирующими заболеваниями почки, приводящая на своих поздних стадиях к хронической почечной недостаточности (ХПН), не имеет тенденции к снижению. Кроме того, в связи с постоянно расширяющимся нозологическим рядом заболеваний, требующих ТП, по-прежнему острой актуальной проблемой является нехватка донорских органов. В связи с вышесказанным особую актуальность приобрело использование почечных трансплантатов от живых родственных доноров. Немедленное восстановление функции пересаженной почки и редкие кризы отторжения при родственной трансплантации помимо лучших непосредственных результатов, безусловно, позволяют прогнозировать и более высокую, чем при пересадке трупного органа, отдаленную выживаемость трансплантатов и больных. Указанное связано не только с большей степенью иммунологической совместимости донора и реципиента, но и во многом определяется сокращением времени холодовой ишемии, и соответственно, снижением тяжести реперфузионных повреждений [2].

История трансплантации почки в Узбекистане тесно связана с именем академика АН Республики Узбекистан Уктама Ариповича Арипова. В 1964 году У.А. Арипов, став первым заместителем министра здравоохранения Узбекистана, приложил большие усилия для развития специализированных медицинских служб, подготовки высококвалифицированных научно-педагогических кадров, отвечавших нуждам Республики. Являясь поливалентным хирургом, выполняющим сложнейшие операции, он создал все условия для всестороннего изучения актуальных проблем абдоминальной хирургии и трансплантологии. С 1971-го по 1984 г. У.А. Арипов, находясь на посту ректора ТашГосМИ, организовал проблемную научно-исследовательскую лабораторию по преодолению тканевой несовместимости трансплантированных органов и тканей, он также был назначен на должность руководителя первого в Средней Азии



Рис. 1. Академик У.А. Арипов

Fig. 1. Academician U.A. Arifov

центра пересадки почки с лабораторией гемодиализа. На базе указанного центра им был сформирован коллектив молодых талантливых ученых-единомышленников, объединявший врачей разных специальностей. На базе центра разрабатывались проблемы трансплантационного иммунитета, создания отечественных иммунодепрессантов, организовывались системы клинической трансплантологии и лечения больных с ХПН. В результате 14 сентября 1972 г. в Узбекистане была выполнена первая пересадка почки больному с терминальной стадией ХПН [3].

В 1974 г. У.А. Арипов был избран академиком АН РУз, а в 1978-м – почетным доктором Будапештского медицинского университета им. Земмельвейса. В 1983 г. за разработку и внедрение в клиническую практику новых усовершенствованных методов лечения больных ХПН, создание отечественных препаратов академик У.А. Арипов и ряд его сотрудников были удостоены Государственной премии Узбекистана им. А. Беруний в области науки и техники [3].

Таким образом, в 1972 г. на базе Проблемной научно-исследовательской лаборатории по преодолению тканевой несовместимости при пересадке органов и тканей Ташкентского ордена Трудового Красного Знамени государственного медицинского института был организован Республиканский центр трансплантации почек. Данный центр являлся лечебным, консультативным, научным и учебным центром лечения больных с ХПН [4].

Центр трансплантации почек на 40 коек располагался на базе Клинической больницы Министерства здравоохранения УзССР. Работой Центра руководили академик АН УзССР У.А. Арипов и профессор Н.П. Пак. В центре работали два старших и два младших научных сотрудника, 11 ординаторов. Кроме того, работа в центре производилась в тесном взаи-



Рис. 2. Профессор Н.П. Пак

Fig. 2. Professor N.P. Pak

модействии с Республиканским нефрологическим центром [4].

Старшим научным сотрудником и руководителем клинической группы по пересадки почки Ташкентского центра трансплантации почки был Николай Петрович Пак – лауреат Государственной премии в области науки и техники им. Беруний Республики Узбекистан, доктор медицинских наук, профессор, академик Международной академии наук о природе и обществе и академик Европейской академии естественных наук. Н.П. Пак на протяжении 19 лет был главным специалистом по гемодиализу и трансплантации почки Министерства здравоохранения Республики Узбекистан.

Кроме того, инициативность и научный интерес академика У.А. Арипова позволили сформировать собственную научную школу, взрастить талантливых учеников. Так, под руководством У.А. Арипова работали такие ученые, как академик М.С. Абдуллаходжаева, профессор Р.Н. Акалаев, иммунолог профессор Ф.Ю. Гариб, д. м. н. А.В. Барабаш, д. м. н. К.Г. Уразметов, М.Д. Уразметова, к. м. н. Б.Ф. Исламов и другие. В клинических и экспериментальных исследованиях ими было показано, что препарат гаммаглобулин, полученный из смеси сывороток плацентарной крови (ПГГ), в отличие от аналогичных препаратов из венозной (донорской) крови в концентрации 0,5–1,0 мг/мл обладает способностью угнетать пролиферативный ответ лимфоцитов человека на трансплантационные антигены в смешанной культуре (СКЛ).

По результатам научной деятельности вышеупомянутых ученых были сформированы и в последующем представлены материалы касательно осложнений трансплантации почки в клинике, результаты изучения токсичности «средних молекул» при ХПН, экспериментальные исследования механизмов действия ряда препаратов, рассматриваемых как потенциальные иммуномодуляторы.

Отдельный вклад в развитие направления внесла врач высшей категории Евгения Григорьевна Холодова, более 20 лет проработавшая заведующей отделением гемодиализа и реабилитации больных с трансплантированными органами в Республиканской клинической больнице № 1 г. Ташкента (ранее Центр трансплантации почки). За отличную работу она награждена правительственной наградой – орденом «Мехнат шухрати».

Отдельные последователи и ученики академика У.А. Арипова в дальнейшем продолжили начатую им программу, так, профессор Дмитрий Львович Арустамов, заслуженный деятель здравоохранения Республики Узбекистан, лауреат премии им. Абу Райхана Беруний и ордена «Дустлик», в годы заведования кафедрой урологии ТашГосМИ являлся директором Республиканского специализированного центра урологии. Под его руководством написаны множество научных работ, монографий, методические рекомендации, получены авторские свидетельства на изобретения, посвященные вопросам трансплантации органов и тканей.



Рис. 3. Е.Г. Холодова – заведующая отделением гемодиализа и реабилитации больных с трансплантированными органами

Fig. 3. E.G. Kholodova, Head of Department of Hemodialysis and Rehabilitation of Transplant Recipients



Рис. 4. Профессор Д.Л. Арустамов

Fig. 4. Professor D.L. Arustamov

В структуру Нефрологического центра в составе оргметоддела входили: отделение для больных с заболеваниями почек без почечной недостаточности, отделение для больных с ХПН, отделение для пациентов с острой почечной недостаточностью, отделение хронического диализа и Центр трансплантации почек.

В составе самого Центра трансплантации почек работали клинические группы: группа предоперационной подготовки больных, группа гемодиализа, группа забора и консервации почек, группа послеоперационного ведения больных, группа тканевого типирования и иммунологического контроля.

Группа предоперационной подготовки проводила обследование потенциальных реципиентов, консервативными мероприятиями готовила их к операции пересадки почки, а также консультировала больных в подразделениях нефрологического центра и в других лечебных учреждениях.

Группа гемодиализа занималась вопросами составления программ и непосредственного проведения гемодиализа. Лаборатория располагала центральным постом для приготовления диализирующей жидкости и 14 местами для гемодиализа. За время существования центра сотрудниками лаборатории гемодиализа были внедрены такие прогрессивные и экономические формы лечения больных, как создание различных модификаций наложения артериовенозных фистул, перевод части больных на амбулаторный гемодиализ, широкое применение специальных способов гемодиализа: диафильтрации и гемосорбции.

Группа забора и консервации почек имела тесную связь с реанимационными, травматологическими и

нейрохирургическими отделениями больниц города, проводила забор и консервацию почек для последующей трансплантации.

Группа послеоперационного ведения больных занималась непосредственно выхаживанием больных после оперативных вмешательств, вопросами иммуносупрессивной терапии и профилактики ее осложнений.

Свой первый месяц после трансплантации почек больные проводили в палатах повышенной стерильности боксированного типа с круглосуточным постом врача, медсестры и санитарки.

Группа тканевого типирования и иммунологического контроля проводила иммунологическое исследование потенциальных реципиентов, занималась вопросами селекции пар «донор–реципиент», проводила послеоперационный контроль эффективности иммуносупрессивной терапии.

При непосредственном содействии и участии сотрудников Центра были открыты отделения гемодиализа в Самарканде, Фергане, Андижане, Бухаре, Алма-Ате, Ашхабаде, Душанбе, Чимкенте. Центр имел тесную связь с центром трансплантации почек Алма-Аты, с которым проводился обмен донорскими почками и информацией о реципиентах [4].

Центр оказывал консультативную помощь во всех областях республики, а также в областях соседних республик Средней Азии. Ежегодно сотрудниками Центра обеспечивались до 200 вызовов по линии санитарной авиации.

Научные исследования сотрудниками Центра велись по комплексному плану к заданию Государственного комитета по науке и технике при Совете Министров СССР, Министерства здравоохранения УзССР и Всесоюзного научного Совета по трансплантации и созданию искусственных органов.

Одной из актуальных проблем трансплантологии был поиск и внедрение в клиническую практику новых иммуносупрессивных препаратов. Накопленный опыт позволил отечественной трансплантологической школе не только изучать действие фармацевтических препаратов и их влияние на механизмы иммуносупрессии, но и синтезировать собственные. Так, в 80-х годах Институт биоорганической химии АН УзССР уже располагал 10 наименованиями собственных иммуносупрессантов. В свою очередь, для клинического изучения были отобраны препараты батриден и мегосин, первый из которых, пройдя клиническую апробацию, был разрешен для медицинского применения в качестве иммуносупрессора при пересадке почек и для клинического изучения при аутоиммунных заболеваниях.

Для решения проблем профилактики и лечения осложнений иммуносупрессивной терапии у паци-

ентов после ТП в Центре трансплантации почки совместно с Институтом биорганической химии АН УзССР и лабораторией физико-химических методов исследования ЦНИЛ изучались пути метаболизма иммуносупрессоров, органы-мишени для агрессивных метаболитов этих препаратов, поиск возможных протекторов от побочных действий иммуносупрессоров.

Накопленный опыт позволил также вывести научный потенциал на совершенно новый уровень, так, уже к 1982 году сотрудниками в Центре были защищены 2 докторские и 9 кандидатских диссертаций, изданы 2 монографии и 5 методических рекомендаций, опубликованы более 200 научных статей; совместно с проблемной лабораторией по преодолению тканевой несовместимости были изданы 8 сборников научных трудов.

На базе Ташкентского центра пересадки почек в 1977 году было проведено совещание экспертов – членов СЭВ (Совет экономической взаимопомощи) по проблемам ТП, а в 1979 году была проведена Всесоюзная конференция «Иммуносупрессия при аллотрансплантации».

Отдельно следует отметить и количество выполняемых процедур, так, если в Центре в 1972 году было проведено 2 ТП, а сеансов гемодиализа – 300, то к 1981 году количество пересадки почки достигло 227 (20–25 операций в год), а количество сеансов гемодиализа – 25 500. Средняя выживаемость в течение 6 месяцев при этом составляла 65% [4].

Центр часто посещали иностранные делегации, и сотрудники Центра имели связи с Будапештским медицинским университетом им. Земмельвейса (был подписан договор о научном сотрудничестве), центрами пересадки почек ГДР, Польши и Чехословакии.

Однако принятие Уголовного кодекса Республики Узбекистан в новой редакции от 1994 года существенно повлияло на всю службу трансплантации почки. Так, новым законом допускалось изъятие органов от трупа только с разрешения родственников или прижизненного согласия умершего, что полностью остановило трансплантацию почки в нашей стране.

За период функционирования Центра трансплантации почки всего было выполнено 358 трансплантаций почки. В 311 случаях произведены трансплантации трупной почки, 47 больным проведена пересадка почки от живого родственного донора.

Лишь в 2002 году Министерство здравоохранения Республики Узбекистан издало приказ о разрешении пересадки почки от живого родственного донора, что дало старт новой программе – прижизненного донорства. Первая подобная операция была выполнена в Центре трансплантации почки (нынешняя РКБ № 1). Однако уже спустя 4 года указанный приказ

был отозван, и оперативные вмешательства данного рода снова прекратились. Сложившаяся ситуация, обусловленная отсутствием нормативно правовой поддержки программы, вынуждала пациентов искать помощи за рубежом.

Таким образом, как и в других странах мира, становление службы трансплантации органов и тканей в Узбекистане прошло через серию сложных моментов своего развития. Сложная материально-техническая и политическая обстановка в странах постсоветского пространства в конце 80-х и начале 90-х годов привели к полной утере ранее созданной фундаментальной базы и накопленного опыта. Попытки реабилитировать трансплантологическую службу сталкивались с отсутствием четко сформулированных законодательных актов, сложным морально-этическим фоном, исключающим трансплантацию органов от доноров со смертью мозга.

Близкородственная трансплантация оставалась единственным доступным вариантом для многодетных семей Узбекистана. Неоднократные попытки академика Васита Вахидовича Вахидова – директора ведущего в стране центра хирургии – реализовать это направление оказались безуспешными, все больше потенциальных пациентов с необходимостью в этом типе оперативного лечения продолжали уезжать в зарубежные клиники. И лишь спустя десятилетие его талантливому ученику, хирургу и организатору здравоохранения академику Ферузу Гафуровичу Назирову удалось сдвинуть эту проблему с места. Ценою его колоссальных усилий трансплантология Узбекистана обрела «второе дыхание». На базе ГУ «Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр хирургии им. академика В. Вахидова» программа трансплантации органов была не только реанимирована, но также обрела совершенно иные черты.



Рис. 5. Академик В.В. Вахидов

Fig. 5. Academician V.V. Vakhidov



Рис. 6. Академик Ф.Г. Назыров

Fig. 6. Academician F.G. Nazirov

Были созданы специализированные отделения, в частности, отделение сосудистой хирургии и трансплантации почки, руководителем которого по настоящее время является профессор Фазлитдин Шамситдинович Бахритдинов, и отделение гемодиализа, которым руководил Улугбек Каримович Юлдашев, ныне заведующий отделением трансплантологии и лаборатории РСНПМЦНТП. Также создана узкопрофильная трансплантационная комиссия, укреплена

материально-техническая база, проведена переподготовка кадров в ведущих зарубежных клиниках, расширены показания к проведению оперативного вмешательства, создан прочный фундамент для научной работы в остроактуальном для страны направлении. Все вышесказанное нашло свое отражение не только в увеличении числа выполняемых вмешательств, но и в непосредственном улучшении их качества. Стали выполняться трансплантации пациентам с сахарным диабетом и другими сопутствующими заболеваниями, ранее не позволяющими рассчитывать на благоприятный исход вмешательства.

Таким образом, начиная с 2010 года в ГУ «РСНПМЦХ им. акад. В. Вахидова» были возобновлены операции по трансплантации почек, а в феврале 2018 года, после выхода в свет законопроекта «о близкородственной трансплантации почки и доли печени» академиком Ф.Г. Назировым была проведена первая в стране трансплантация печени от живого родственного донора. Кроме того, уже к концу 2021 года количество трансплантаций почки в ГУ «РСНПМЦХ им. акад. В. Вахидова» достигло 540.

В то же время создавались не только новые направления клинической трансплантологии, но и модифицировались и совершенствовались уже разработанные техники. Так, в 2015 году в центре была выполнена первая трансплантация почки с использованием лапароскопического забора донорского органа.



Рис. 7. Сотрудники отделения сосудистой хирургии и трансплантации почки под руководством профессора Ф.Ш. Бахритдинова

Fig. 7. Staff at the Department of Vascular Surgery and Kidney Transplantation, headed by Professor F.S. Bakhritdinov

Достиженные в ГУ «РСНПМЦХ им. акад. В. Вахидова» успехи не только показали безопасность, но и наглядно продемонстрировали необходимость дальнейшего развития трансплантологической службы в стране, явившись стимулом дальнейшего совершенствования законодательной и нормативно-правовой базы. Так, уже в декабре 2019 года были внесены изменения и дополнения к законопроекту «О порядке близкородственной трансплантации почки и (или) доли печени», существенно расширяющие донорский пул.

В настоящее время в Узбекистане изъятие органов для трансплантации возможно только у живых доноров, являющихся родственниками реципиента, и с их добровольного согласия.

Все больные с пересаженной почкой, проживающие в Республике Узбекистан, находятся на диспансерном учете в отделении гемодиализа и реабилитации больных с трансплантированными органами в Республиканской клинической больнице № 1 г. Ташкента.

Кроме того, по результатам научных исследований в ГУ «РСНПМЦХ им. акад. В. Вахидова» были защищены две диссертации (PhD) и разработаны методические рекомендации («Оптимизация тактико-технических аспектов при трансплантации почки от живого родственного донора»). Предложенные рекомендации позволили улучшить эффективность подготовки больных к трансплантации почки и оптимизировать технические аспекты оперативного вмешательства. Была разработана «Программа для оценки операционного риска реципиента при трансплантации почки». Применение предложенной программы с определением 33 отягощающих факторов течения заболевания позволяет оценить операционный риск в дооперационном периоде и оптимизировать процесс подготовки к трансплантации. Полученные научные результаты внедрены в практическую деятельность здравоохранения, в частности, начаты совместные операции по пересадке почки в областях (в отделении хирургии Навоинского областного многопрофильного медицинского центра и других). Внедрение результатов научных исследований позволило сократить частоту осложнений в ближайшем послеоперационном периоде с 29,5 до 11,2%, а в отдаленном – с 47,5 до 22,7% и общей летальности с 8,2 до 4,1%.

В ГУ «РСНПМЦХ хирургии им. акад. В. Вахидова» в успешном проведении пересадок почки также большую роль сыграли бригады специалистов различных направлений: отделение общей реаниматологии и интенсивной терапии под руководством д. м. н. Р.А. Ибадова, отделение анестезиологии под руководством к. м. н. Л.А. Назыровой, отделение

гемодиализа под руководством М.А. Абдуллаевой, отделение экспериментальной хирургии под руководством профессора Р.А. Садыкова, отделение радиоизотопной диагностической лаборатории под руководством Г.Г. Арифходжаева, отдел биохимии с группой микробиологии под руководством д. м. н. З.Р. Хайбуллиной, отделение функциональной диагностики под руководством д. м. н. Н.У. Шарапова, отделение компьютерной и магнитно-резонансной томографии под руководством д. м. н. Н.М. Джураевой, консультативно-диагностическое отделение под руководством к. м. н. С.С. Ганиходжаева.

В развитии трансплантации других органов, в частности печени, в центре хирургии под руководством директора центра академика Ф.Г. Назырова внесли свою лепту главный научный сотрудник отделения хирургии портальной гипертензии и панкреатодуоденальной зоны д. м. н. А.В. Девятов, руководитель отделения хирургии печени и желчных путей д. м. н. М.М. Акбаров и другие сотрудники отделений. За 2018 и 2019 гг. успешно проведено 10 операций по трансплантации печени.

В то же время проделанная работа открыла дополнительные возможности в плане развития указанного направления, так, в перспективе рассматривается возможность проведения операций по пересадке сердца и сердечно-легочного комплекса, поджелудочной железы и легких.

Кроме того, трансплантация органов и тканей сегодня стала выполняться уже в нескольких лечебно-профилактических центрах страны. Так, благодаря усилиям А.М. Хаджибаева, с 2018 года программа трансплантации почки была начата и в РСНПЦЭМП, а достигнутые коллективным центра результаты соответствуют ведущим международным клиникам.

В то же время, несмотря на достигнутые успехи в области трансплантологии, в стране по-прежнему сохраняется ряд нерешенных вопросов. Среди указанных особую роль занимают вопросы острой нехватки узкоспециализированных специалистов, квалифицирующихся в области трансплантологии. Известно, что служба трансплантации не строится лишь на трансплантационных хирургах, для успешной реализации программы необходимы врач-морфологи, иммунологи, специалисты в области интервенционных вмешательств и многие другие. Таким образом, несмотря на проделанную работу, развитие данного направления клинической медицины неоспоримо требует еще больших усилий, направленных на создание и укрепление прочной материально-технической базы специализированных отделений, совершенствование собственной научной и клинической школы. Кроме того, одной из приоритетных задач может считаться создание

отечественного трансплантационного центра, позволяющее не только объединить специалистов различных профилей, специализирующихся в области клинической трансплантологии, но и существенно консолидировать усилия, направленные на развитие отечественной трансплатологической службы.

Таким образом, родственная пересадка почки, открывшая в прошлом веке эру клинической трансплантации жизненно важных органов, в настоящее время приобрела второе дыхание. Перспективы пересадки почки в Узбекистане в XXI веке связаны с преодолением этических проблем трансплантации органов, совершенствованием тактико-технических аспектов ТП, открытием новых трансплантационных центров и центров по реабилитации больных после трансплантации органов, обладающих всеми современными возможностями обследования и лечения тяжелых больных.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Parajuli S, Aziz F, Clark DF. Kidney Transplant Management, Introduction to Kidney Transplantation. *Springer Nature Switzerland AG*. 2019; 1–3.
2. Мойсюк ЯГ, Шаршаткин АВ, Арутюнян СМ. Трансплантация почки от живого родственного донора. *Нефрология и диализ*. 2001; 3: 328–334. Mojsjuk JaG, Sharshatkin AV, Arutjunjan SM. Transplantacija pochki ot zhivogo rodstvennogo donora. *Nefrologija i dializ*. 2001; 3: 328–334.
3. Академик Уктам Арипович Арипов (к 90-летию со дня рождения). *Анналы хирургической гепатологии*. 2017; 1: 125–127. Akademik Uktam Aripovich Aripov (k 90-letiju so dnja rozhdenija). *Annaly hirurgicheskoy gepatologii*. 2017; 1: 125–127.
4. Пак НП, Абдурахманов ША. Республиканский центр трансплантации почек. Т.: Проспект, 1982. 15. Pak NP, Abdurahmanov ShA. Respublikanskij centr transplantacii pochek. Т.: Prospekt, 1982. 15.

*Статья поступила в редакцию 6.09.2021 г.
The article was submitted to the journal on 6.09.2021*

APPLICATION OF INDOCYANINE GREEN FLUORESCENCE FOR URETER IMAGING: REVIEW

A.D. Smagulov¹, M.S. Rysmakhanov^{1, 2}, Zh.M. Koishybayev¹, Y.B. Sultangereyev², N.M. Mussin¹

¹ West Kazakhstan Medical University, Aktobe, Kazakhstan

² Department of Surgery and Transplantation, Aktobe Medical Center, Aktobe, Kazakhstan

Introduction. Indocyanine green has been used in medicine for more than 70 years in cardio-thoracic surgery, hepatobiliary and colorectal surgery, urology, gynecology, transplantology, etc. This review based on literature dates describing the use of ICG for intraoperative imaging and evaluation of the ureteral perfusion. **Method.** The research searched in the electronic database PubMed, Scopus, Elsevier, Springer, and Web of Science between January 2000 and December 2020, using the following search terms: ICG imaging, ureteral vessels. Additional literature data identified from separately published sources. **Results.** There are 21 articles were obtained in the specified database: 9 – with intravenous ICG, 12 – with intraureteral administration. The use of intravenous ICG followed by next clinical situation: ureteral imaging is described for ureteral strictures, for isolation and preservation of the ureteral branch of the uterine artery during radical hysterectomy, for robotic radical cystectomy with ureteroenterostomy, for laparoscopic removal of ureteral endometriosis, for evaluation of ureteral perfusion during kidney transplantation, and for identification and prevention of ureteral damage during pelvic surgery in patients with colorectal tumors and gynecological pathologies. **Conclusions.** Both intravenous and intraureteral ICG imaging are safe, easy to perform, and easily reproducible. It allows objectively identifying the degree of perfusion of the ureteral wall, clearly determining the boundaries of the stricture. It is effectively helps in the prevention of ureteral wall damage in extraurinal surgical interventions.

Keywords: ICG, ICG fluorescence, ureter detection.

INTRODUCTION

Indocyanine green (ICG) has been used in clinical medicine for more than 70 years, when it was first used to assess cardiac and hepatic function [1–3]. ICG is a tricarbo-cyanine molecule with a half-life of 150–180 seconds, completely excreted into the bile by the liver [4]. The literature also describes the metabolism of ICG in the renal parenchyma, which occurs with the participation of the protein bilitranslocase [5]. Intravenous administration of ICG is non-toxic and effective at low doses [6]. It was also shown that ICG has an effective intraoperative contrast identifier in real time with the possibility of penetration into tissues up to 5 mm [7].

The first report on the use of ICG for perfusion evaluation of a kidney transplant was reported in 2004 [8]. In the future, this method was used to assess the blood flow of the renal parenchyma during partial nephrectomy, donor nephrectomy, and vascular anastomoses of the renal graft [9–12]. Although there are many reports on the use of ICG in urology, there are few studies on the visualization and assessment of the ureteral condition.

This review focuses on the current literature that describes the use of ICG to intraoperative visualize and evaluate the condition of the ureter.

To do this, a search was conducted for studies in the electronic database PubMed, Scopus, Elsevier, Springer and Web of Science in the period from January 2000 to December 2020, using the following search terms: «ICG imaging, ureteral». Additional literature data were identified from separately published sources. As a result, 21 articles were received in the specified database. Of these, 9 articles describe the use of ICG imaging of the ureter with intravenous administration, 12 – with intra-ureteral administration.

VISUALIZATION OF THE URETER DURING INTRAVENOUS ADMINISTRATION OF ICG

Sekijima M. et al. reported in 2004 on the use of intravenous ICG (IV-ICG) to visualize the urinary system in a kidney transplant recipient. This method made it possible to record and reproduce images of organ vessels in real time during the operation [8].

IV-ICG imaging has proven to be particularly useful in robotic surgery in cases of ureteral scar strictures. At

the same time, it allows you to completely resect the scar-altered ureteral tissue and perform ureteral reimplantation with preserved perfusion. Marc A. Bjurlin et al. 42 robotic operations for the reconstruction of the upper urinary tract were performed using this technique. At the same time, perioperative complications occurred in 14.3% of cases. The authors of this study hypothesized that the use of NIRF imaging can prevent postoperative ureteral stricture, especially during repeated operations, and also helps to ensure adequate blood flow in the area of the urinary anastomosis [13]. Although the authors indicate a lack of clinical data for long-term follow-up.

In two cases report by Ying Long et al. successful isolation and preservation of the ureteral branch of the uterine artery during radical hysterectomy with IV-ICG angiography for cervical cancer was demonstrated [14]. This procedure prevents damage to the ureteral branch with subsequent ischemia of the distal ureter leading to its necrosis and stricture. During 4 months of follow-up of these patients, there were no complications associated with the ureter.

After a robotic radical cystectomy with urinary diversion (RCUD), a severe complication is the development of ureteral anastomosis stricture. Jim K. Shen et al. conducted a comparative study of patients who underwent ureteroenterostomy in two groups of $n = 93$ in each: with IV-ICG imaging of the ureter, and without IV-ICG [15]. In the group of patients with IV-ICG imaging with a median follow-up of 12.0 months, there was no complication from ureteroenterostomy. While in the group without IV-ICG imaging (median follow-up 24.3 months), the number of complications was 7.5% ($p = 0.01$). Thus, the use of the IV-ICG method of visualization of ureteral perfusion allowed to significantly reduce the frequency of ureteroenterostomy strictures.

Another study analyzed 345 cases of ureteroenterostomy during robot-assisted radical cystectomy, of which 89 cases used IV-ICG imaging to assess vascularization of the distal ureter [16]. According to the results of this study, there was a significant decrease in the frequency of ureteral anastomosis strictures from 10.6% to 0% after IV-ICG evaluation of vascularization of the distal ureter. This highlights the clinical significance of this strategy for minimizing the complications of robot-assisted radical cystectomy.

The use of IV-ICG imaging of ureteral blood flow in open radical cystectomy with urinary diversion Chirag P. Doshi et al. studied in a group of 31 patients with 62 ureteroenteroanastomoses [17]. In the group with IV-ICG, ureteroenteroanastomosis stricture was observed in 3.2% of cases, in the group without IV-ICG – 16.7%. This study also confirms a decrease in the frequency of formation of ureteroenteroanastomosis structures when

using the IV-ICG imaging technique to assess vascularization of the distal ureter.

Diego Raimondo et al. in preliminary study was conducted in 23 women who underwent laparoscopic removal of ureteral endometriosis using ICG for intraoperative assessment of ureteral perfusion [18]. Intraoperative assessment of the degree of ureteral blood flow made it possible to optimally choose the tactics of further surgical approach after removal of the endometrioid nodule: Double J ureteral stenting – 3 patients, ureteral stenting – 2 patients. In the remaining 28 cases (90.3%), the blood flow was assessed as satisfactory (regular fluorescence) and did not require any intervention. NIR-ICG has proven to be a safe and feasible tool for assessing residual ureteral vascularization after conservative surgery for ureteral endometriosis.

Currently, there are two preliminary studies on the use of ICG to assess ureteral perfusion in kidney transplantation. In the study (preliminary experience) Vignolini G. et al. 6 recipients with robotic kidney transplantation from a living donor were included [19]. The second study, conducted by H. Boullenois et al., included 11 recipients, 10 of which were conducted from a cadaveric donor (Fig. 1) [20]. In both studies, the use of ICG visualization of ureteral perfusion did not take time, and allowed objective and reliable visualization of ureteral vascularization. However, the correlation between ICG fluorescence and postoperative complications could not be studied due to the small number of patients, which requires further larger studies studies.

VISUALIZATION OF THE URETER DURING INTRAURETHRAL ADMINISTRATION OF ICG

Recently, intraurethral administration of ICG (IU-ICG) has been used for diagnostic purposes. The first mention in the available literature of ICG imaging with intraurethral administration describes a series of 7 patients with ureteral stricture who underwent robot-assisted reconstructive surgery [21]. Subsequently, intraoperative IU-ICG imaging was used to identify various ureteral pathologies in a larger cohort (8 and 25) of patients (Fig. 2) [22–25]. IU-ICG imaging made it possible to quickly and accurately identify the ureter, localize the level of structure with less tissue damage and protect its blood supply, and the technique itself is safe and easy to perform. This technique has been successfully used in operations on pathological kidneys [25, 26, 27].

The IU-ICG technique has been successfully used to identify and prevent ureteral damage during pelvic surgery in patients with colorectal tumors and gynecological pathologies [28–32]. Intraureteral ICG imaging was

effective for intraoperative identification of the ureter in complex gynecological and colorectal operations.

CONCLUSION

Thus, based on the described literature review, it can be concluded that ICG imaging (both intravenous and intraureteral) is safe, simple to perform and easily reproducible. It allows you to objectively identify both the degree

of perfusion of the ureteral wall, and clearly determine the boundaries of the stricture. In case of extraurinary surgical interventions, such visualization effectively helps in the prevention of damage to the ureteral wall. Based on this, the use of ICG imaging in kidney transplant recipients will be the subject of our further study.

The authors declare no conflict of interest.

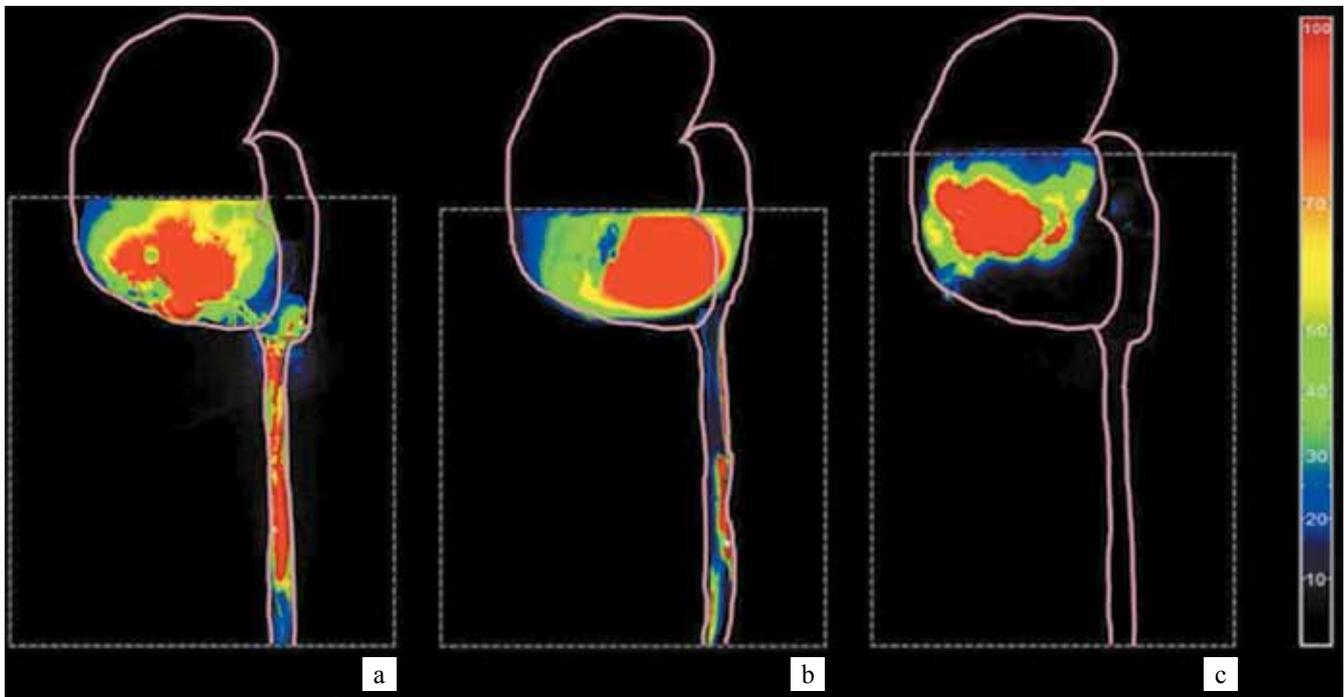


Fig. 1. Projection on a transplant diagram of an intraoperative image of indocyanin green fluorescence of a ureter in semi-quantitative analysis: a – complete and intense fluorescence of the ureter except the last centimeters in favor of good vascularization; b – partial and weak fluorescence of the ureter in favor of weak and partial vascularization; c – zero fluorescence of the ureter and the lower pole of the transplant in favor of no vascularization of the ureter and the lower pole of the transplant. Illustration: H. Boullenois et al. 2020

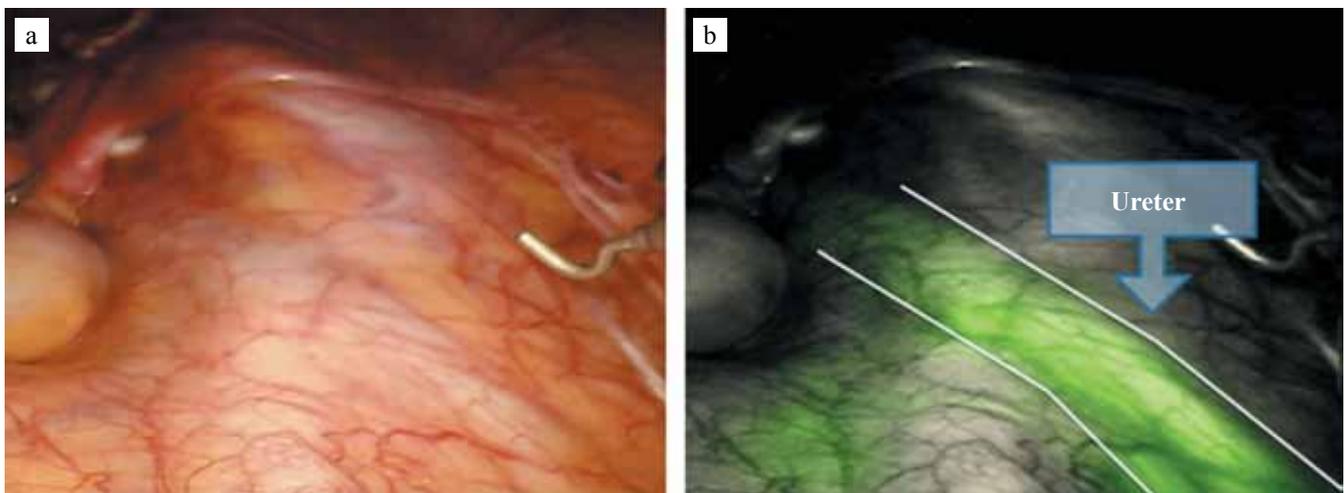


Fig. 2. Ureteral identification (a) in the absence of near-infrared fluorescence (NIRF) and (b) under NIRF. Reproduced with permission from Zihoo Lee et al. 2015

REFERENCES

1. Symposium on diagnostic applications of indicator dilution techniques. *Proceedings of the Staff Meeting of Mayo Clinic*. 1957; 32: 463–508.
2. Cherrick GR, Stein SW, Leevy CM, Davidson CS. Indocyanine green: observations on its physical properties, plasma decay, and hepatic extraction. *J Clin Invest*. 1960; 39 (4): 592–600.
3. Reinhart MB, Huntington CR, Blair LJ, Heniford BT, Augenstein VA. Indocyanine Green: Historical Context, Current Applications, and Future Considerations. *Surgical Innovation*. 2016; 23 (2): 166–175. doi: 10.1177/1553350615604053.
4. Kaplan-Marans E, Fulla J, Tomer N, Bilal K, Palese M. Indocyanine Green (ICG) in Urologic Surgery. *Urology*. 2019 Oct; 132: 10–17. doi: 10.1016/j.urology.2019.05.008. Epub 2019 May 23. PMID: 31129192.
5. Golijanin DJ, Marshall J, Cardin A, Singer EA, Wood RW, Reeder JE et al. Bilitranslocase (BTL) is immunolocalised in proximal and distal renal tubules and absent in renal cortical tumors accurately corresponding to intraoperative near infrared fluorescence (NIRF) expression of renal cortical tumors using intravenous indocyanine green (ICG). *The Journal of Urology*. 2008; 179 (4): 137. doi: 10.1016/s0022-5347(08)60394-8.
6. Majlesara A, Golriz M, Hafezi M, Saffari A, Stenau E, Maier-Hein L et al. Indocyanine green fluorescence imaging in hepatobiliary surgery. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. 2017; 17: 208–215. doi: 10.1016/j.pdpdt.2016.12.005.
7. Alander JT, Kaartinen I, Laakso A, Pätälä T, Spillmann T, Tuchin VV et al. A review of indocyanine green fluorescent imaging in surgery. *Int J Biomed Imaging*. 2012; 2012: 940585. doi: 10.1155/2012/940585. Epub 2012 Apr 22. PMID: 22577366; PMCID: PMC3346977.
8. Sekijima M, Tojimbara T, Sato S, Nakamura M, Kawase T, Kai K et al. An intraoperative fluorescent imaging system in organ transplantation. *Transplant Proc*. 2004 Sep; 36 (7): 2188–2190. doi: 10.1016/j.transproceed.2004.09.001. PMID: 15518796.
9. Tobis S, Knopf J, Silvers C, Yao J, Rashid H, Wu G, Golijanin D. Near infrared fluorescence imaging with robotic assisted laparoscopic partial nephrectomy: initial clinical experience for renal cortical tumors. *J Urol*. 2011 Jul; 186 (1): 47–52. doi: 10.1016/j.juro.2011.02.2701. Epub 2011 May 14. PMID: 21571337.
10. Boni L, David G, Mangano A, Dionigi G, Rausei S, Spampatti S et al. Clinical applications of indocyanine green (ICG) enhanced fluorescence in laparoscopic surgery. *Surg Endosc*. 2015 Jul; 29 (7): 2046–2055. doi: 10.1007/s00464-014-3895-x. Epub 2014 Oct 11. PMID: 25303914; PMCID: PMC4471386.
11. Aslim EJ, Lee FJ, Gan VHL. The Utility of Intraoperative Near Infrared Fluorescence (NIR) Imaging with Indocyanine Green (ICG) for the Assessment of Kidney Allograft Perfusion. *J Transplant*. 2018 Aug 19; 2018: 6703056. doi: 10.1155/2018/6703056. PMID: 30210867; PMCID: PMC6120275.
12. Arichi N, Mitsui Y, Ogawa K, Nagami T, Nakamura S, Hiraoka T et al. Intraoperative fluorescence vascular imaging using indocyanine green for assessment of transplanted kidney perfusion. *Transplant Proc*. 2014; 46 (2): 342–345. doi: 10.1016/j.transproceed.2013.11.129. PMID: 24655959.
13. Bjurlin MA, Gan M, McClintock TR, Volpe A, Borofsky MS, Mottrie A, Stifelman MD. Near-infrared fluorescence imaging: emerging applications in robotic upper urinary tract surgery. *Eur Urol*. 2014 Apr; 65 (4): 793–801. doi: 10.1016/j.eururo.2013.09.023. Epub 2013 Sep 27. PMID: 24099660.
14. Long Y, Yao Y, Yao DS. Indocyanine green angiography for preserving the ureteral branch of the uterine artery during radical hysterectomy: Two case report. *Medicine (Baltimore)*. 2018 Oct; 97 (40): e12692. doi: 10.1097/MD.00000000000012692. PMID: 30290662; PMCID: PMC6200471.
15. Shen JK, Jamnagerwalla J, Yuh BE, Bassett MR, Chenam A, Warner JN et al. Real-time indocyanine green angiography with the SPY fluorescence imaging platform decreases benign ureteroenteric strictures in urinary diversions performed during radical cystectomy. *Ther Adv Urol*. 2019 Apr 4; 11: 1756287219839631. doi: 10.1177/1756287219839631. PMID: 31057669; PMCID: PMC6452578.
16. Ahmadi N, Ashrafi AN, Hartman N, Shakir A, Cacciamani GE, Freitas D et al. Use of indocyanine green to minimise uretero-enteric strictures after robotic radical cystectomy. *BJU Int*. 2019 Aug; 124 (2): 302–307. doi: 10.1111/bju.14733. Epub 2019 Apr 11. PMID: 30815976.
17. Doshi CP, Wozniak A, Quek ML. Near-infrared Fluorescence Imaging of Ureters With Intravenous Indocyanine Green During Radical Cystectomy to Prevent Ureteroenteric Anastomotic Strictures. *Urology*. 2020 Oct; 144: 220–224. doi: 10.1016/j.urology.2020.06.026. Epub 2020 Jun 30. PMID: 32619603.
18. Raimondo D, Borghese G, Mabrouk M, Arena A, Ambrosio M, Del Forno S et al. Use of Indocyanine Green for Intraoperative Perfusion Assessment in Women with Ureteral Endometriosis: A Preliminary Study. *J Minim Invasive Gynecol*. 2021 Jan; 28 (1): 42–49. doi: 10.1016/j.jmig.2020.04.004. Epub 2020 Apr 10. PMID: 32283326.
19. Vignolini G, Sessa F, Greco I et al. Intraoperative assessment of ureteral and graft reperfusion during robotic kidney transplantation with indocyanine green fluorescence videography. *Minerva Urologica e Nefrologica = The Italian Journal of Urology and Nephrology*. 2019 Feb; 71 (1): 79–84. doi: 10.23736/s0393-2249.18.03278-2.
20. Boullenois H, Verrier C, Ingels A, Parier B, Serey-Eiffel S, Kozal S et al. Visualiser la vascularisation urétérale des transplants rénaux par fluorescence au vert d'indocyanine: étude exploratoire [Indocyanine green fluorescence to visualize the ureteric vascularization of kidney transplants: An exploratory study]. *Prog Urol*. 2020 Mar; 30 (3): 155–161. French. doi: 10.1016/j.purol.2020.01.005. Epub 2020 Feb 28. PMID: 32122748.

21. Lee Z, Simhan J, Parker DC, Reilly C, Llukani E, Lee DI et al. Novel use of indocyanine green for intraoperative, real-time localization of ureteral stenosis during robot-assisted ureteroureterostomy. *Urology*. 2013 Sep; 82 (3): 729–733. doi: 10.1016/j.urology.2013.05.032. PMID: 23987169.
22. Lee Z, Moore B, Giusto L, Eun DD. Use of indocyanine green during robot-assisted ureteral reconstructions. *Eur Urol*. 2015 Feb; 67 (2): 291–298. doi: 10.1016/j.eururo.2014.08.057. Epub 2014 Sep 12. PMID: 25220372.
23. Lee Z, Sterling ME, Keehn AY, Lee M, Metro MJ, Eun DD. The use of indocyanine green during robotic ureteroenteric reimplantation for the management of benign anastomotic strictures. *World J Urol*. 2019 Jun; 37 (6): 1211–1216. doi: 10.1007/s00345-018-2493-2. Epub 2018 Sep 18. PMID: 30229414.
24. Huang BW, Wang J, Zhang P, Li Z, Bi SC, Wang Q et al. Application of indocyanine green in complex upper urinary tract repair surgery. *Beijing Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2020 Aug 18; 52 (4): 651–656. Chinese. doi: 10.19723/j.issn.1671-167X.2020.04.010. PMID: 32773795; PMCID: PMC7433627.
25. Morozov AO, Alyaev YG, Rapoport LM, Tsarichenko DG, Bezrukov EA, Butnaru DV, Sirota ES. Near-Infrared Fluorescence with Indocyanine Green for Diagnostics in Urology: Initial Experience. *Urologia Journal*. 2017; 84 (3): 197–202. doi: 10.5301/uj.5000235.
26. Lee M, Lee Z, Eun D. Intraureteral and intravenous indocyanine green to facilitate robotic partial nephroureterectomy in a patient with complete ureteral triplication. *Korean J Urol*. 2015 Jun; 56 (6): 473–476. doi: 10.4111/kju.2015.56.6.473. Epub 2015 May 27. PMID: 26078846; PMCID: PMC4462639.
27. Kanno T, Takahashi T, Somiya S, Ito K, Higashi Y, Yamada H. Indocyanine Green Fluorescence-Guided Laparoscopic Lower-Pole Heminephrectomy for Duplex Kidney in Adult. *J Endourol Case Rep*. 2020 Dec 29; 6 (4): 384–387. doi: 10.1089/cren.2020.0123. PMID: 33457680; PMCID: PMC7803210.
28. Siddighi S, Yune JJ, Hardesty J. Indocyanine green for intraoperative localization of ureter. *Am J Obstet Gynecol*. 2014 Oct; 211 (4): 436.e1-2. doi: 10.1016/j.ajog.2014.05.017. Epub 2014 May 14. PMID: 24835212.
29. Santi C, Casali L, Franzini C, Rollo A, Violi V. Applications of indocyanine green-enhanced fluorescence in laparoscopic colorectal resections. *Updates Surg*. 2019 Mar; 71 (1): 83–88. doi: 10.1007/s13304-018-00609-w. Epub 2018 Dec 3. PMID: 30511261.
30. Mandovra P, Kalikar V, Patankar RV. Real-Time Visualization of Ureters Using Indocyanine Green During Laparoscopic Surgeries: Can We Make Surgery Safer? *Surg Innov*. 2019 Aug; 26 (4): 464–468. doi: 10.1177/1553350619827152. Epub 2019 Feb 8. PMID: 30734638.
31. White LA, Joseph JP, Yang DY, Kelley SR, Mathis KL, Behm K, Viers BR. Intraureteral indocyanine green augments ureteral identification and avoidance during complex robotic-assisted colorectal surgery. *Colorectal Dis*. 2021 Mar; 23 (3): 718–723. doi: 10.1111/codi.15407. Epub 2020 Nov 5. PMID: 33064915.
32. Kamada T, Nakaseko Y, Yoshida M, Kai W, Takahashi J, Nakashima K et al. Indocyanine green fluorescence-guided laparoscopic colorectal cancer surgery with prophylactic retrograde transileal conduit ureteral catheter placement after previous total cystectomy: a case report. *Surg Case Rep*. 2021 Mar 12; 7 (1): 67. doi: 10.1186/s40792-021-01153-3. PMID: 33710480; PMCID: PMC7954966.

The article was submitted to the journal on 2.11.2021

DOI: 10.15825/1995-1191-2022-1-36-47

АУТОТРАНСПЛАНТАЦИЯ ПОЧКИ – МЕТОД ЛЕЧЕНИЯ ПОРАЖЕНИЯ МОЧЕТОЧНИКА В УРОЛОГИЧЕСКОЙ И ОНКОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

С.В. Арзуманов, Н.В. Поляков, А.Б. Рябов, Д.А. Галицкая

Научно-исследовательский институт урологии и интервенционной радиологии имени Н.А. Лопаткина – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

Первая аутотрансплантация почки была выполнена в 1902 г., с этого времени техника ее выполнения претерпела ряд изменений. В литературном обзоре представлены показания и хирургическая техника. Аутотрансплантация почки является методом выбора лечения, направленного на сохранение почечной функции. Описаны 3 клинических наблюдения по применению аутотрансплантации почки в урологической и онкологической практике: пациент после ятрогенного повреждения мочеточника и два пациента с неорганный опухолью забрюшинного пространства. Анализ литературы и клинические наблюдения из урологической и онкологической практики показывают возможность безопасного применения аутотрансплантации почки по строго выбранным показаниям.

Ключевые слова: аутотрансплантация почки, повреждение мочеточника, неорганные забрюшинные опухоли.

KIDNEY AUTOTRANSPLANTATION: A METHOD FOR TREATING URETERAL LESIONS IN UROLOGICAL AND ONCOLOGICAL PRACTICE

S.V. Arzumanov, N.V. Polyakov, A.B. Ryabov, D.A. Galitskaya

Lopatkin Research Institute of Urology and Interventional Radiology, Moscow, Russian Federation

The first successful kidney autotransplantation was performed in 1902. The technique has undergone several changes since then. The indications and surgical technique are presented in this literature review. Kidney autotransplantation is the treatment of choice for preserving renal function. Three clinical observations on the use of kidney autotransplantation in urological and oncological practice are described: a patient after iatrogenic ureteral injury and two patients with primary retroperitoneal tumor. Literature analysis and clinical observations from urological and oncological practice show that kidney autotransplantation could be safely used for strictly selected indications.

Keywords: kidney autotransplantation, ureteral injury, primary retroperitoneal tumors.

История аутотрансплантации почки берет свое начало в 1902 году. На заседании Венского медицинского общества хирург венгерского происхождения Imre (Emerich) Ullmann сделал доклад о выполненной им аутотрансплантации почки собаке. В этом же году I. Ullmann выполнил первую аллотрансплантацию почки собаке, используя для сосудистой имплантации сонную артерию и яремную вену реципиента. Техника операции состояла в следующем: сонные

артерия и вена лигировались краниально, в проксимальную часть сосудов вставлялись магнелиевые медицинские трубки, к которым присоединялась удаленная без промывки сосудистого русла почка, завернутая в пропитанную теплым физиологическим раствором салфетку. Пересаженный орган в течение 5 дней производил мочу. Несколько месяцев спустя I. Ullmann продемонстрировал ксенотрансплантацию почки от собаки на шею козы. В 1912 году

Для корреспонденции: Галицкая Дарья Александровна. Адрес: 105425, Москва, 3-я Парковая ул., 51, стр. 1. Тел. (915) 128-80-95. E-mail: dgalitsk@gmail.com

Corresponding author: Daria Galitskaya. Address: 51/1, Tretya Parkovaya str., Moscow, 105425, Russian Federation. Phone: (915) 128-80-95. E-mail: dgalitsk@gmail.com

Нобелевский лауреат А. Carrel, разработавший технику сосудистого анастомоза, повторил эксперименты I. Ullmann. На тот момент ученым и клиницистам не были известны проблемы ишемического и реперфузионного повреждения. Более 50 лет тема аутотрансплантации не была востребованной, однако за это время исследователями были апробированы различные техники аллотрансплантации почки с использованием бедренных сосудов и сосудов предплечья, а также ортотопической позиции, открыты механизмы аллоиммунитета и выполнена первая успешная трансплантация почки от живого донора в гетеротопическую (подвздошная ямка) позицию [1, 2].

В 1956 году бразилец С. Freire впервые выполнил аутотрансплантацию почки мужчине с аневризмой почечной артерии, однако ранний тромбоз заставил его сделать нефрэктомии [3].

Только в 1961 году R. Schackmann и W. Dampster опубликовали случай первой успешной, выполнен-

ной ими с целью сохранения почечной функции аутотрансплантации почки пациенту, страдавшему стенозом почечной артерии и вторичной артериальной гипертензией [4]. После выполненной операции артериальное давление пациента нормализовалось и не требовало назначения гипотензивной терапии. Данное заболевание считалось ранее инакурабельным или лечилось выполнением нефрэктомии. В 1964 году К. Ota выполнил аутотрансплантацию почки пациенту 39 лет для восстановления почечной артерии в связи с врожденной сосудисто-почечной гипертензией и полной облитерацией правой почечной артерии (рис. 1, б) [5]. Аутотрансплантацию правой почки выполнили в левую подвздошную ямку с микрохирургической коррекцией сосудов, правую почечную артерию расширили с помощью венозного графта-заплатки.

James Hardy (США) в 1963 году выполнил ауто-трансплантацию правой почки в правую подвздош-

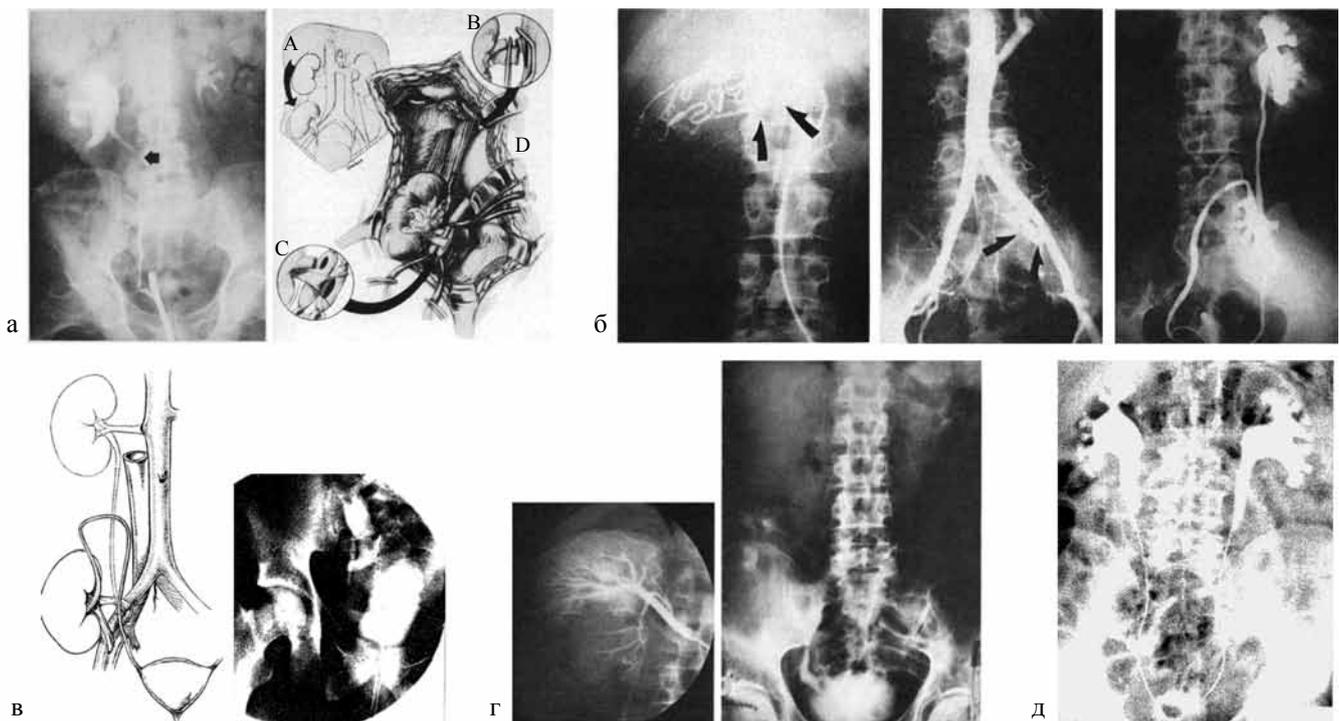


Рис. 1. Этапы развития аутотрансплантации почки: а – слева направо: стриктура правого мочеточника, диагностированная по пиелoureтерогамме справа (через нефростомический дренаж) и ретроградной уретерогамме, схема операции; б – слева направо: стрелками обозначена полная облитерация правой почечной артерии, аортограмма – стрелки указывают на правую почечную артерию после микрохирургической коррекции, ретроградная пиелогамма; в – слева направо: положения репозиционированной почки и ход мочеточника – схема, цистоуретеропиелогамма; г – двустороннее опухолевое поражение почек, слева направо: селективная ангиограмма, после левосторонней нефрэктомии и субтотальной экстракорпоральной нефрэктомии и аутотрансплантации 1/3 почки; д – предоперационная ретроградная пиелoureтерогамма

Fig. 1. Stages of kidney autotransplantation: а – left to right: right ureteral stricture diagnosed by right-sided retrograde pyeloureterogram (through nephrostomy tube) and retrograde urethrogram, operation scheme; б – left to right: arrows indicate complete obliteration of the right renal artery, aortogram – arrows point to the right renal artery after microsurgical correction, retrograde pyelogram; в – left to right: positions of the repositioned kidney and course of the ureter – diagram, cystoureteropyelogram; г – bilateral renal tumor lesion, left to right: selective angiogram, after left-sided nephrectomy and subtotal extra-corporeal nephrectomy and 1/3 kidney autotransplantation; д – preoperative retrograde pyeloureterogram

ную область в связи с протяженной стриктурой мочеточника, обусловленной его травматическим повреждением (рис. 1, а). Примечательно, что J. Hardy использовал умеренную гипотермию всего организма (32–36 °С), а не трансплантата, для минимизации ишемического повреждения [1, 2].

Бурное развитие клинической трансплантологии в 70-х годах прошлого столетия дало толчок и к развитию темы аутотрансплантации почки. В 1970 году J. Whitsell описал серию экспериментов по гетеротопической аутотрансплантации на собаках без пересечения мочеточника и клинический случай успешного лечения пациента с протяженным (2,5 см) стенозом артерии единственной правой почки. Сосуды почки были реимплантированы в общие подвздошные сосуды, а мочеточник дугообразно уложен на брыжейку тонкой кишки (рис. 1, в) [6]. Первую аутотрансплантацию почки по поводу злокачественного новообразования выполнил знаменитый пионер трансплантологии R. Calne в 1971 году. Пациенту с двусторонним опухолевым поражением почек, с сохранной 1/3 паренхимой правой почки (по данным селективной ангиограммы) была выполнена левосторонняя нефрэктомия с субтотальной экстракорпоральной нефрэктомией справа *ex vivo* резекцией почки (рис. 1, г) и имплантацией ее в подвздошную область [3, 7]. В 1972 году С. Linke и А. Мау впервые описали применение аутотрансплантации почки в лечении урологической патологии (рис. 1, д), а точнее забрюшинного фиброза, вызвавшего атрофию и протяженный стеноз мочеточника [8]. Предоперационная ретроградная пиелоуретерограмма продемонстрировала двусторонний гидроуретеронефроз с внешней компрессией и медиальным отклонением обоих мочеточников. В дальнейшем производилась многоэтапная коррекция компрессии мочеточников,

которая завершилась правосторонней аутотрансплантацией почки.

Таким образом, сформировался круг показаний для выполнения аутотрансплантации почки, включающий в себя различные поражения сосудов почечной ножки, мочеточника и паренхимы почки инфекционно-воспалительного, метаболического, фибротического, диспластического и неопластического характера (табл.).

СОСУДИСТЫЕ ПОКАЗАНИЯ

Сосудистая патология до недавнего времени являлась наиболее частым показанием для выполнения аутотрансплантации почки (табл.). В настоящее время современные эндоваскулярные технологии пришли на смену аутотрансплантации в лечении артериальной гипертензии, обусловленной патологией артерии почки, обладая явными преимуществами в виде малой инвазивности и возможности повторного вмешательства без значительной травматизации пациента. Эти же технологии практически рутинно применяются при лечении венозной почечной гипертензии. Но в некоторых случаях, например, при мешкообразной аневризме почечной артерии больших размеров, аутотрансплантация и ныне является методом выбора [2, 9].

Отдельного внимания стоит синдром средней аорты (синдром атипичной коарктации абдоминальной аорты). Это редкая сосудистая патология различного этиологического характера, приводящая к сужению нисходящей аорты на уровне VI грудного – I поясничного позвонков. Причиной заболевания являются конгинетальный или приобретенный артериит (Болезнь Такаюсу), нейрофиброматоз, фибромускулярная дисплазия. Синдром средней аорты зачастую приводит к развитию реноваскулярной гипертензии

Таблица

Показания к аутотрансплантации почки Indications for kidney autotransplantation

Сосудистые	Аневризма почечной артерии
	Атеросклероз почечной артерии и аорты (стеноз или расслоения стенки)
	Фибромускулярная дисплазия
	Аневризмы почечной вены
	Синдром шелкунчика (аортомезентериальная компрессия левой почечной вены)
	Мешкообразная аневризма почечной артерии больших размеров
	Синдром средней аорты
Урологические (основные)	Протяженные стриктуры мочеточника
	Отрыв мочеточника
	Идиопатический ретроперитонеальный фиброз
Онкологические	Сложное внутриорганный поражение
	Двустороннее опухолевое поражение
	Перед радиотерапевтическим лечением
	Саркомы забрюшинного пространства

и снижению почечной функции. При неэффективности эндоваскулярного вмешательства методом выбора является шунтирование брюшного отдела аорты с билатеральной ортотопической аутотрансплантацией почек [10].

УРОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАНИЯ

Урологическая патология в настоящее время является основным показанием для выполнения ауто-трансплантации почки (табл.). Она выполняется в случаях, когда необходимо протезирование мочеточника, а выполнение пластических операций, таких как уретеронеоцистостомии, уретероуретеростомии, пиелоцистостомии, ипсилатеральной уретероуретеростомии, нижней нефрэксии, операции Боари или маневра *psoas hitch*, не представляется возможным в связи с дефицитом тканей [11]. Альтернативным решением может быть замещение пораженного мочеточника участком тонкой кишки. Однако использование тонкой кишки приводит к более частой вероятности развития осложнений различной тяжести. Персистирующая инфекция мочевых путей, некорректируемый метаболический ацидоз, избыточная продукция слизи, спаечная болезнь могут встречаться в комбинации почти у трети пациентов, неся в себе дополнительные риски потери функции почки и сепсиса. Помимо этого, использование тонкой кишки может быть ограничено спаечным процессом в брюшной полости и забрюшинном пространстве вследствие предшествующих вмешательств [12].

Широкое применение в последние десятилетия эндоскопических методов литоэкстракции и эндоурологического лечения уротеральных опухолей привело к увеличению числа протяженных повреждений и проксимальных отрывов мочеточника [13]. Это приводит к необходимости выполнения временной деривации мочи (нефростомии) для сохранения функционирования почки и многоэтапного лечения. В таких случаях выполнение аутотрансплантации почки можно рассматривать как метод, позволяющий в максимально короткие сроки решить проблему восстановления мочевых путей и избежать осложнений, связанных с дополнительной деривацией мочи из поврежденной почки и последующим отсроченным реконструктивным вмешательством [11, 14].

Идиопатический ретроперитонеальный фиброз (аутоиммунный парааортит) – редкое заболевание с частотой возникновения 0,1–0,3 случая на 100 тысяч человек в год, вовлекающее брюшную аорту, подвздошные сосуды и прилегающее забрюшинное пространство с частым вовлечением средней и нижней третей обеих мочеточников, приводящее к их обструкции и терминальной почечной недостаточности. Заболевание обусловлено хроническим воспалительно-фибротическим процессом, в котором участвуют секретирующие Ig4 плазматические

клетки, и зачастую требует дифференциальной диагностики со злокачественными новообразованиями забрюшинного пространства [15, 16]. При неэффективности консервативного лечения, включающего в себя иммуносупрессивную терапию, прогрессирования обструкций мочевых путей выполнение билатеральной аутотрансплантации почки в гетеротопическую позицию позволяет сохранить функционирующую почечную паренхиму, предотвращая прогрессирование хронической болезни почек [8].

ОНКОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАНИЯ

В последнее десятилетие совершенствование хирургической техники и комплексного, в том числе химиотерапевтического, лечения онкологических пациентов, увеличение прогноза их безрецидивной выживаемости привело к развитию концепции «органосохраняющего» оперативного лечения злокачественных новообразований. Появилась новая субспециальность – онко-нефрология. Задачами этого направления являются: решение проблем, связанных с острым почечным повреждением и хронической почечной недостаточностью у онкологических пациентов, оценка нефротоксических рисков противоопухолевой терапии, как традиционной химио-, так и новейшей молекулярно-таргетной терапии, лечение почечной манифестации паранеопластического процесса, лечение пациентов, перенесших нефрэктомиию по поводу рака почки, с аспектами заместительной почечной терапии на фоне активного лечения онкологического процесса, возможностями выполнения трансплантации почки пациентам, перенесшим онкологическое лечение, лечение онкологической патологии у пациентов после трансплантации почки [17, 18]. Краеугольным камнем онко-нефрологии является концепция «нефрон-сохраняющего» лечения (табл.). Важность такого подхода обусловлена тем, что развитие острого почечного повреждения или хронической почечной недостаточности ведет к значительному повышению рисков смертности у онкологических пациентов от неонкологических причин, в первую очередь от сердечно-сосудистой патологии [19, 20].

Для пациентов, у которых распространение опухоли не выходит за пределы почки, органосохраняющее лечение улучшает ожидаемую продолжительность жизни [21]. Особую важность этот факт приобретает в лечении пациентов с опухолевым поражением единственной почки, где все усилия должны быть направлены на сохранение органа, во избежание необходимости проведения хронической заместительной почечной терапии. В таких условиях выполнение аутотрансплантации почки с *ex vivo* резекцией или энуклеацией опухоли представляется вполне применимой методикой, однако в последнее десятилетие интерес к данной операции значительно

снизился [22]. Это обусловлено тем, что минимально инвазивная «нефрон-сохраняющая» хирургия злокачественных новообразований почки, такая как лапароскопическая или роботическая парциальная нефрэктомия с суперселективной ишемией паренхимы, а также аблативные методики обеспечивают эквивалентную онкоспецифическую выживаемость в сравнении с радикальной нефрэктомией [23].

Аутотрансплантация с *ex vivo* резекцией опухоли может быть применена в случаях со сложным внутриорганным поражением, вовлекающим ворота почки и/или чашечно-лоханочную систему, когда выполнение резекции несет риски большой кровопотери или ишемизации оставшейся, непораженной части почечной паренхимы [24]. Эта операция также может быть применима при множественном двустороннем опухолевом поражении почек, когда выполнение органосохраняющего лечения абсолютно очевидно, однако стандартный подход к резекции с двусторонней локальной тепловой ишемией несет высокий риск развития острого почечного повреждения в раннем послеоперационном периоде и хронической почечной недостаточности в отдаленной перспективе [7, 25].

С другой стороны, выполнение аутотрансплантации по поводу опухоли почки может привести к достаточно большому спектру осложнений, среди которых кровотечение (3,3–5% случаев), инфекции мочевых путей (7,4%), тромбоз почечной вены (4,1%), потеря функции трансплантата (12,3%). Хотя необходимо учесть, что в группу аутотрансплантации попадают пациенты с исходно более анатомически сложным распространением опухолевого процесса [26].

T. Bolling описал казуистический случай выполнения аутотрансплантации почки пациентке с опухолью Юнга, охватывавшей область 11-го ребра слева. Во избежание ее лучевого поражения почка была перемещена в левую подвздошную область перед началом радиотерапевтического воздействия [27].

В 2010 году V. Vonsal впервые опубликовал данные по удалению забрюшинной липосаркомы блоком с мочеточником с последующей аутотрансплантацией почки в подвздошную область для восстановления пассажа мочи [28].

Основным методом лечения местно-распространенных сарком забрюшинного пространства является оперативное вмешательство. Ни лучевая терапия, ни химиотерапевтическое комбинированное лечение значительно не улучшают прогноз и контроль опухоли. Необходимость выполнения мультивисцеральных операций при удалении сарком ретроперитонеального пространства обусловлена принципами радикализма при удалении злокачественного новообразования, однако современное и обоснованное стремление к выполнению органосохраняющих операций опреде-

лило необходимость поиска более рационального, но и технически сложного хирургического подхода [29]. По статистике, до 40% оперативных вмешательств, выполненных по поводу саркомы забрюшинного пространства, сочетаются с односторонней, а иногда и с билатеральной нефрэктомией. По данным С. Mussi, вовлечение в опухолевый процесс почки и мочеточника отмечается в 78,5 и 45,8% случаев соответственно, однако инфильтративное поражение происходит с гораздо меньшей частотой – 10,7 и 12,5%, а в остальных случаях вовлечение носит сдавливающий характер, который особенно характерен для липосаркомы. Неинфильтративный характер роста сарком жировой природы позволяет с большей вероятностью выполнить операцию с сохранением массы функционирующих нефронов [30].

В сложных анатомо-топографических условиях забрюшинного пространства применение трансплантационных и экстракорпоральных хирургических методик расширяет возможности органосохраняющего лечения, не уменьшая радикальности выполнения вмешательства. Протяженное вовлечение в процесс мочеточника при гигантских саркомах забрюшинного пространства может привести к необходимости его удаления *en bloc* с окружающими опухолевыми тканями. Дефицит длины мочеточника в таких случаях практически невозможно восполнить с помощью стандартных урологических подходов. Выполнение аутотрансплантации в гетеротопическую позицию вторым этапом после удаления опухоли позволяет сохранить функцию почки и целостность мочевых путей [28, 31].

При распространении забрюшинной саркомы в верхние области забрюшинного пространства, на уровне каваренального сегмента нижней полой вены, вовлечение сосудистой ножки почки и трудность интраоперационной дифференцировки опухолевой ткани от паранефральной клетчатки может привести к необходимости туморнефрэктомии [32, 33]. В таких случаях для сохранения функции почки возможно выполнение *ex vivo* диссекции почки из окружающих опухолевых тканей с последующей ее аутотрансплантацией [28].

В России и в странах постсоветского пространства изучением применения аутотрансплантации почки при онкологических заболеваниях активно занимались А.Е. Зотиков [34], И.Б. Щепотин [35] и Р.И. Расулов [36].

ТЕХНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВЫПОЛНЕНИЯ АУТОТРАНСПЛАНТАЦИИ

Техника выполнения аутотрансплантации почки не имеет принципиальных отличий от выполнения трансплантации аллогенной почки, но существует ряд нюансов, которые требуют особого внимания.

Главным условием сохранения функционирующей почечной паренхимы при аутотрансплантации является минимизация ее ишемического повреждения. В качестве первой линии защиты от гипоксического повреждения при трансплантации органов применяется управляемая гипотермия. Как правило, органы охлаждаются до температуры от 0 до +4 °С. Охлаждение снижает клеточный метаболизм и потребность в кислороде. Однако при такой температуре в клетках человеческого организма сохраняется определенный уровень метаболизма, что приводит в конечном итоге к апоптозу и некрозу [37]. Поэтому применение локальной гипотермии показано еще на этапе эксплантации опухолевого конгломерата, когда за счет тракции на этапе его выделения и мобилизации возможен перегиб почечной ножки с перекрытием органного кровотока. Также абсолютно необходимым считается применение фармако-холодовой защиты на этапе *ex vivo*. Аутотрансплантация почки не подразумевает под собой длительных сроков холодовой ишемии. Промывание сосудистого русла охлажденным до +4 °С физиологическим раствором в объеме 500,0 мл с добавлением в него 10 000 Ед гепарина считается достаточным для консервации почечного аутотрансплантата в течение 2–4 часов. С другой стороны, применение специальных консервирующих растворов (НТК, UW, IGL и др.), которые сейчас широко доступны, позволяет пролонгировать сроки холодовой ишемии без значимого повреждения до 24 часов [38].

Важнейшим фактором удачной аутотрансплантации почки является получение достаточных для выполнения соответствующих анастомозов по длине и диаметру почечной артерии и вены. Зачастую длительное сдавление опухолевой тканью этих сосудов ведет к истончению стенки и уменьшению их диаметра, что может привести к развитию сосудистых осложнений после реимплантации почки как в раннем, так и в отдаленном послеоперационном периоде [39]. Маркировка почечных сосудов на этапе удаления блока «опухоль–почка» позволяет выполнить отсечение сосудов наиболее проксимально для получения достаточной длины и быстро находить их в конгломерате для быстрой канюляции и перфузии консервирующим раствором, минимизируя время тепловой ишемии [39, 36].

На этапе экстракорпоральной диссекции почки необходимо применение прецизионной хирургической техники с использованием хирургических бинокулярных луп (рекомендуемое увеличение 2,5). Это позволяет максимально обезопасить важные анатомические структуры ворот почки от повреждения во время диссекции, а также оценить возможную инвазию в ворота и капсулу удаленной почки [36].

Выбор гетеротопической позиции при трансплантации почки не случаен. Эта позиция несет в себе

определенные хирургические преимущества, позволяющие минимизировать осложнения в сравнении с ортотопической аутотрансплантацией. Как правило, сосуды почечного аутотрансплантата несколько короче и тоньше, чем сосуды аллотрансплантата. Для профилактики кинкинга и твистинга артериального и венозного анастомозов необходимо сохранение некоторой подвижности в зоне анастомоза. Широкая мобилизация наружной подвздошной вены, в некоторых случаях с пересечением внутренней подвздошной вены, мобилизация наружной подвздошной артерии на протяжении или использование внутренней подвздошной артерии, при исключении ее атеросклеротического поражения, позволяет избежать нарушений кровотока в почке и выбрать оптимальную позицию трансплантата в подвздошной ямке [40, 41].

Необходимо отметить, что у пациентов, страдающих злокачественными образованиями больших объемов, баланс свертывающей системы крови смещен в сторону гиперкоагуляции. Применение антикоагулянтной терапии с первых суток после аутотрансплантации позволяет снизить вероятность тромбоза в зоне сосудистых анастомозов и в микроциркуляторном русле почки [42, 43].

Второе преимущество гетеротопической позиции связано с возможностями восстановления пассажа мочи пересаженной почки. Подавляющее количество урологических осложнений после трансплантации почки связано с нарушением кровоснабжения мочеточника и лоханки. Поскольку мочеточник аутотрансплантата питается только от почечных сосудов, всегда есть риск ишемизации дистальных его отделов. Укорочение мочеточника обычно решает эту проблему. Близость к мочевому пузырю также позволяет выполнять любые доступные варианты пластики, если длина мочеточника оказывается недостаточной [44, 45].

КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ 1

Пациент З., 29 лет, поступил в НИИ урологии и интервенционной радиологии имени Н.А. Лопаткина – филиал «НМИЦ радиологии» с жалобами на нефростомический дренаж слева в октябре 2013 г. В анамнезе по месту жительства за 12 месяцев до поступления в нашу клинику больному выполнена попытка контактной уретеролитотрипсии слева по поводу камня верхней трети левого мочеточника, в ходе которой произошел ятрогенный отрыв левого мочеточника. Пациенту был установлен чрескожный пункционный нефростомический дренаж слева.

При обследовании в НИИ урологии секреторная функция левой почки по данным радиоизотопного исследования снижена на 23%, справа функция почки удовлетворительная. По данным ультразвукового исследования (УЗИ) и мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ), правая почка

размерами $12,5 \times 6$ см, толщина паренхимы 1,5 см, расширения чаше-лоханочной систем (ЧЛС) нет. Тип кровоснабжения – магистральный. Левая почка размерами $11,8 \times 5,8$ см, толщина паренхимы 1,5 см, расширения ЧЛС нет, в просвете лоханки визуализируется нефростомический дренаж. Тип кровоснабжения – магистральный. По данным антеградной пиелографии слева (рис. 2, а), контрастное вещество выполняет чашечно-лоханочную систему левой почки. Контрастное вещество в левый мочеточник из лоханки не поступает. При ретроградной уретерографии слева мочеточниковый катетер заведен на 3 см выше устья левого мочеточника, где встречено непреодолимое препятствие. Контрастное вещество выше 3 см левого мочеточника от его устья не поступает (рис. 2, б).

Пациенту, учитывая молодой возраст, сохранную функцию левой почки, а также технические возможности клиники, выполнена аутотрансплантация левой почки открытым способом. Произведено изъятие левой почки с артерией и веной. Выполнен доступ в левую подвздошную ямку. Артерия и вена левой почки анастомозированы с подвздошной артерией и веной. Левый мочеточник смоделирован из мочевого пузыря по методике Боари и анастомозирован на внутреннем стенке № 6 с лоханкой левой почки. Время операции составило 145 минут, кровопотеря 250 мл. Послеоперационный период протекал гладко. Пациент выписан на 14-е сутки после операции. Внутренний стент и нефростомический дренаж удалены спустя 8 недель после операции. По данным контрольной компьютерной томографии, левая почка находится в левой подвздошной области, пассаж контрастного вещества из левой почки не нарушен (рис. 2, в, г).

Пациент на протяжении восьми лет находится под нашим наблюдением. При контрольном ультразвуковом исследовании в сентябре 2020 г. и доплерографии почек правая почка интактна, левая расположена в левой подвздошной области, без нарушения кровоснабжения. Размеры левой почки $11,4 \times 5,8$ см, толщина паренхимы 1,5 см, расширения чашечно-лоханочной системы нет.

Пациент ведет активный образ жизни. Работает (офисный работник), занимается спортом (бегает полумарафоны).

КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ 2

Пациентка Д., 51 год, с диагнозом «неорганная забрюшинная опухоль IIIВ ст. сT4N0M0 (по данным гистологического исследования биопсийного материала – забрюшинная многоузловая липосаркома (G1–G2)» (рис. 3, а) поступила в отделение.

Произведено удаление забрюшинной неорганной опухоли (рис. 3, б) с аутотрансплантацией левой почки, корпоркаудальной резекцией поджелудочной железы и спленэктомией, резекцией левого купола диафрагмы, левосторонней гемиколэктомией, экстирпации матки с придатками, формирование подвесной еюностомы.

Этапы аутотрансплантации почки: 1 – формирование сосудистого анастомоза между почечной и левой внутренней подвздошной артериями (рис. 3, в, г); 2 – окончательный вид аутотрансплантационной почки в гетеротопическую позицию после сформированных межсосудистых анастомозов и межмочеточникового анастомоза (рис. 3, д).

Время операции составило 435 минут, интраоперационная кровопотеря – 2800 мл. Отмечалось те-



Рис. 2. Исследование функции почек, пациент З., 29 лет: а – антеградная пиелография слева; б – ретроградная уретерография слева; в, г – МСКТ почек с внутривенным болюсным контрастированием

Fig. 2. Examination of kidney function, patient Z., 29 years old: а – antegrade pyelography (left); б – retrograde ureterography (left); в, г – renal MSCT with intravenous bolus contrast enhancement

чение послеоперационного периода согласно объему выполненного хирургического пособия.

По данным морфологического исследования установлена забрюшинная многоузловая липосаркома (G1–G2), преимущественно высокодифференцированная липомоподобная (G1) с подрастанием к участку диафрагмы, капсуле селезенки, поджелудочной железы, надпочечнику, обрастанием этих органов и узлом миксоидной липосаркомы (G2) с врастанием в стенку одного из фрагментов толстой кишки.

Морфологическое исследование удаленного препарата показало онкологическую радикальность операции. Пациентка выписана на 18-е сутки после операции. На протяжении 9 месяцев пациентка находится под нашим наблюдением с ремиссией и сохраненной функцией аутотрансплантированной почки.

КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ 3

Пациентка В., 48 лет, с диагнозом «неорганный забрюшинная опухоль IV ст. pT4N0M0 (по данным гистологического исследования биопсийного материала – недифференцированная липосаркома low grade, G1)» (рис. 4, а) поступила в отделение.

Произведено удаление неорганный забрюшинной опухоли блоком с левой почкой адреналэктомией сле-

ва, с последующей экстракорпоральной резекцией верхнего полюса левой почки и ее аутотрансплантацией в подвздошную область, также была выполнена холецистэктомия, подвесная еюнотомия. (рис. 4, б–ж).

Время операции составило 370 минут, интраоперационная кровопотеря – 1200 мл. Отмечалось безосложненное течение послеоперационного периода согласно объему выполненного хирургического пособия.

По данным морфологического исследования установлена недифференцированная липосаркома low grade (G1) веретенноклеточного строения, с участками мало- и умеренноклеточными, с очагами некроза, с 4 митозами на 10 п. зр. $\times 40$.

Морфологическое исследование удаленного препарата показало онкологическую радикальность операции. Пациентка выписана на 14-е сутки после операции. Проводится послеоперационная реабилитация (1,5 мес. после операции).

ОБСУЖДЕНИЕ

Аутотрансплантация почки является методом выбора лечения, направленного на сохранение почечной функции. С момента внедрения в клиническую практику и по сегодняшнее время показания

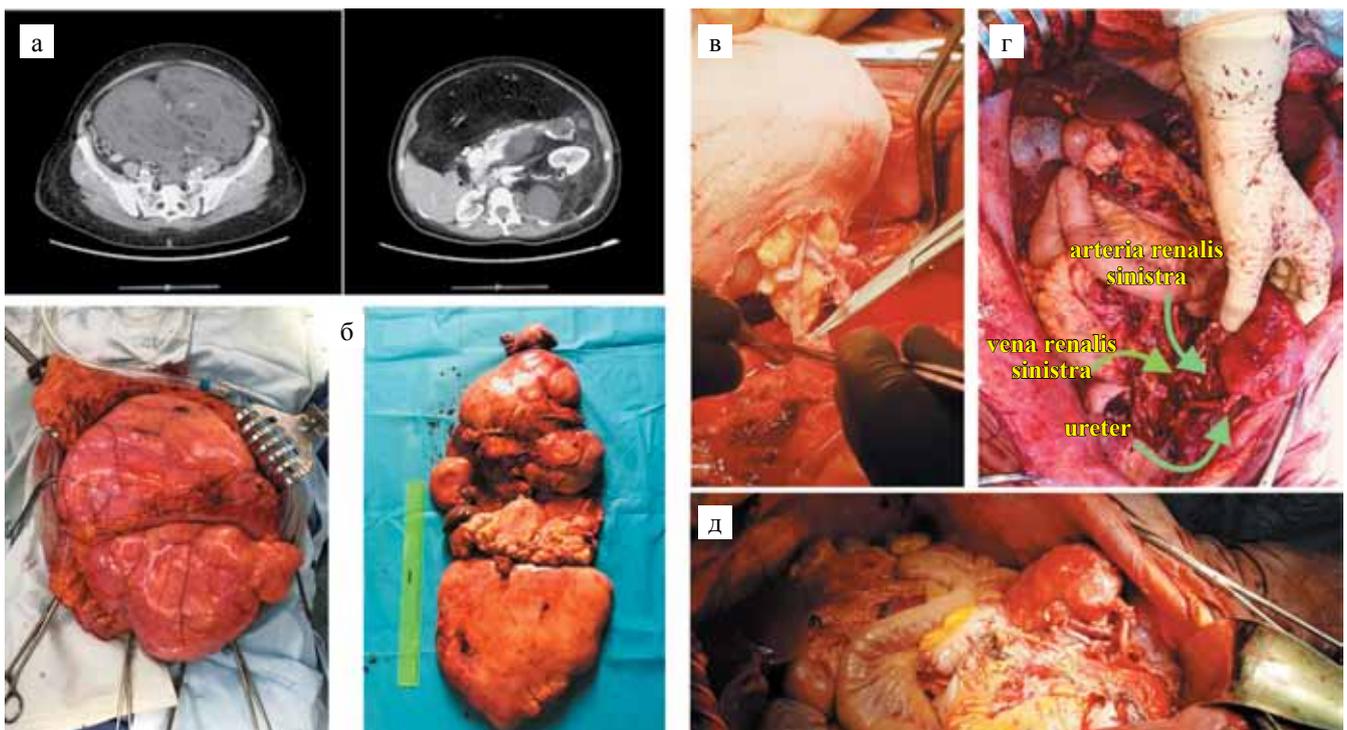


Рис. 3. Этапы обследования и лечения, пациентка Д., 51 год: а – МСКТ органов брюшной полости и ретроперитонеального пространства с внутривенным болюсным контрастированием; б – интраоперационная картина удаления забрюшинной неорганный опухоли; в–д – этапы аутотрансплантации почки

Fig. 3. Stages of examination and treatment, patient D., 51 years old: а – MSCT of abdominal organs and retroperitoneal space with intravenous bolus contrast enhancement; б – intraoperative view of primary retroperitoneal tumor resection; в–д – kidney autotransplantation stages

к ее выполнению видоизменялись. Развитие новых технологий, к примеру, эндоваскулярной хирургии, уменьшило спектр сосудистых показаний к ауто-трансплантации почек.

Протяженное поражение мочеточника остается одним из рассматриваемых показаний к ауто-трансплантации почки, когда есть необходимость в нефрон-сберегающем лечении или социальной

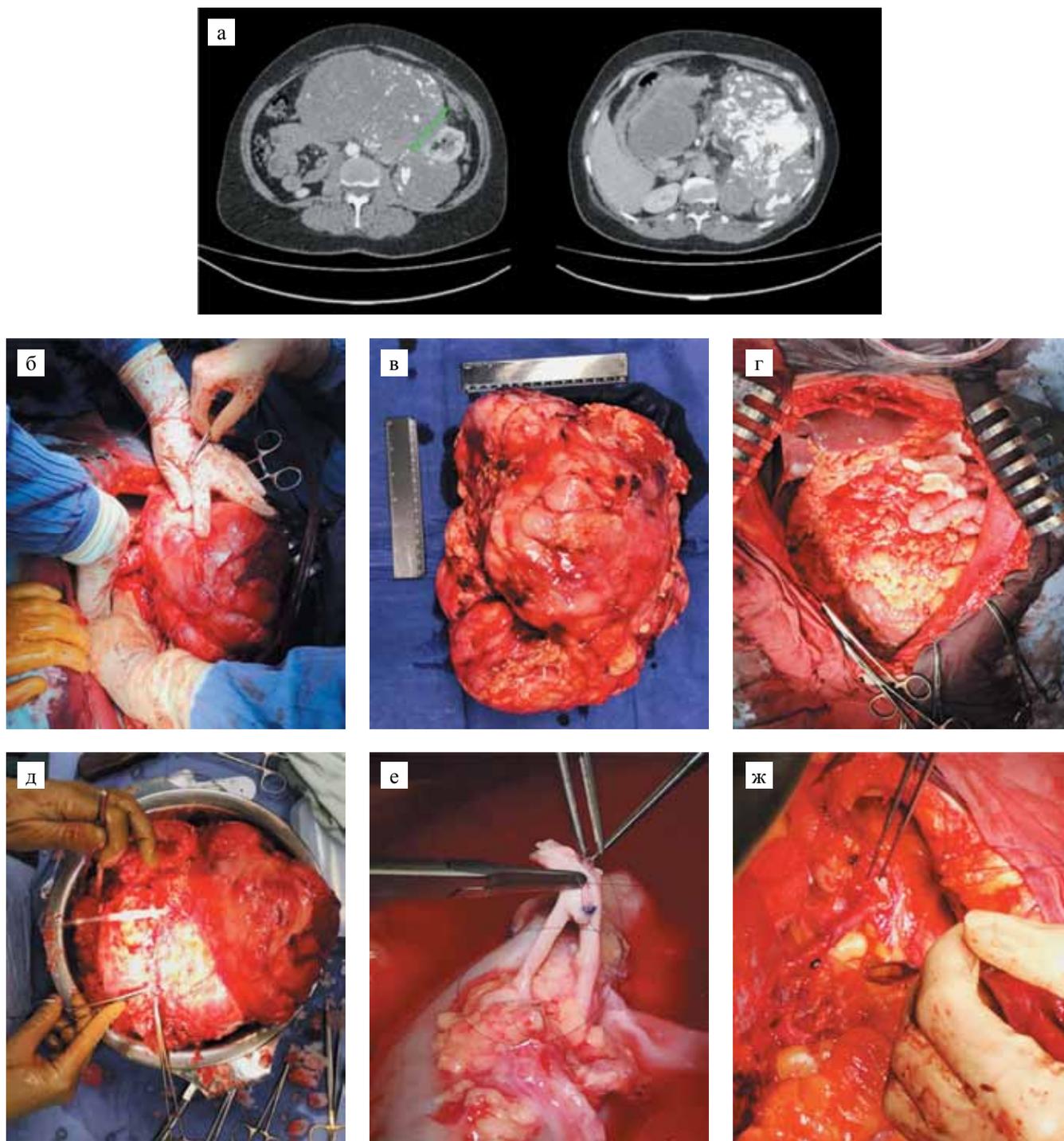


Рис. 4. Этапы обследования и лечения, пациентка В., 48 лет: а – МСКТ органов брюшной полости и ретроперитонеального пространства с внутривенным болюсным контрастированием; б – интраоперационный вид опухоли в процессе удаления; в – удаленный макропрепарат; г – интраоперационный вид брюшной полости после удаления опухоли; д – выделение почки *ex vivo*; е – подготовка почки к трансплантации; ж – завершение этапа аутотрансплантации почки

Fig. 4. Stages of examination and treatment, patient V., 48 years old: а – MSCT of abdominal organs and retroperitoneal space with intravenous bolus contrast enhancement; б – intraoperative view of the tumor during resection; в – removed macro specimen; г – intraoperative view of the abdominal cavity after tumor resection; д – *ex vivo* kidney isolation; е – kidney preparation for transplantation; ж – completion of kidney autotransplantation stage

адаптации (избавление пациентов от пожизненного использования нефростомического дренажа или мочеточникового стента).

В последнее время в лечении неорганных забрюшинных опухолей (НЗО) отмечена тенденция к отказу от моноблочной и циторедуктивной хирургии в пользу сбалансированного подхода. К сбалансированному подходу при неорганных забрюшинных опухолях относят: нефросберегающие вмешательства; удаление высококодифференцированных НЗО отдельными «компартаментами» с целью максимальной органосохранности; аутотрансплантацию почки. Важность нефросберегающих вмешательств при НЗО обусловлена минимизацией вероятности острого почечного повреждения и развития хронической болезни почек (ХБП), которые увеличивают риск смертности у онкологических пациентов от неонкологических причин – инсульта, ишемической болезни сердца (ИБС) [19, 20]. Сохранная функция почек дает свободу в назначении эффективных режимов адьювантной терапии. Однако показания со стороны НЗО крайне ограничены: высококодифференцированные (G1) липосаркомы; расположение почки в толще опухолевых узлов, вовлечение сосудов почки с сохраненной функцией почки; протяженное вовлечение мочеточника; единственная почка.

При подозрении на обширное вовлечение почки в опухолевый процесс с сохранением ее функции необходим мультидисциплинарный подход с участием специалистов трансплантологической службы. При правильном планировании хирургического вмешательства возможно обеспечить хорошие непосредственные и отдаленные результаты лечения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ литературы и приведенные нами клинические случаи из урологической и онкологической практики показывают возможность безопасного применения аутотрансплантации почки по строго выбранным показаниям.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Langer RM, Kahan BD. 100 years ago: Ullmann's pioneering operation – autotransplantation of the kidney. *Transplant Proc.* 2002 Mar; 34 (2): 429–433. doi: 10.1016/s0041-1345(02)02642-8. PMID: 12009580.
2. Alameddine M, Moghadamyeghaneh Z, Yusufali A, Col-lazo AM, Jue JS, Zheng I et al. Kidney Autotransplantation: Between the Past and the Future. *Curr Urol Rep.* 2018 Feb 5; 19 (3): 7. doi: 10.1007/s11934-018-0749-4. PMID: 29399714.
3. Gil-Vernet JM. Renal Allotransplantation. *Eur Urol.* 1982; 8: 61–73.
4. Schackman R, Dempster WY. Surgical kidney. A case demonstrated at the Post-Graduate Medical School of London. *Br med J.* 1924 i.v., (1963).
5. Ota K, Mori S, Awane Y, Ueno A. Ex situ repair of renal artery for renovascular hypertension. *Arch Surg.* 1967; 94 (3): 370–373. PMID: 5335236.
6. Whitsell JC, Goldsmith EI, Nakamura H. Renal autotransplantation without ureteral division: an experimental study and case report. *J Urol.* 1970; 103 (5): 577–582. doi: 10.1016/s0022-5347(17)62006-8.
7. Calne RY. Tumour in a single kidney: nephrectomy, excision, and autotransplantation. *Lancet Lond Engl.* 1971 Oct; 2 (7727): 761–762. doi: 10.1016/s0140-6736(71)92124-6.
8. Linke CA, May AG. Autotransplantation in retroperitoneal fibrosis. *J Urol.* 1972; 107 (2): 196–198. doi: 10.1016/s0022-5347(17)60981-9.
9. Berloco PB, Levi Sandri GB, Guglielmo N, Lai Q, Melandro F, Poli L et al. Bilateral ex vivo repair and kidney autotransplantation for complex renal artery aneurysms: a case report and literature review. *Int J Urol.* 2014 Feb; 21 (2): 219–221. doi: 10.1111/iju.12224. Epub 2013 Jul 10. PMID: 23841913.
10. Zhang H, Li F, Ren H, Zheng Y. Aortic bypass and orthotopic right renal autotransplantation for midaortic syndrome: a case report. *BMC Surg.* 2014; 14 (1): 86. doi: 10.1186/1471-2482-14-86.
11. Zhang HX, Zhao L, Ma LL, Hou XF, Liu L, Deng SH. Retroperitoneal laparoscopic nephrectomy with autotransplantation for severe iatrogenic ureteral injury. *Beijing Da Xue Xue Bao.* 2016 Feb; 48 (1): 622–626. PMID: 27538140.
12. Chung BI, Hamawy KJ, Zinman LN, Libertino JA. The Use of Bowel for Ureteral Replacement for Complex Ureteral Reconstruction: Long-Term Results. *J Urol.* 2006; 175 (1): 179–183. doi: 10.1016/S0022-5347(05)00061-3.
13. Geavlete P, Georgescu D, Niță G, Mirciulescu V, Cău-ni V. Complications of 2735 retrograde semirigid ureteroscopy procedures: a single-center experience. *J Endourol.* 2006 Mar; 20 (3): 179–185. doi: 10.1089/end.2006.20.179.
14. Alizadeh M, Valizadeh R, Rahimi MM. Immediate successful renal autotransplantation after proximal ureteral avulsion following ureteroscopy: a case report. *J Surg Case Rep.* 2017; 2017 (2): rjx028. doi: 10.1093/jscr/rjx028.
15. Stone JH, Khosroshahi A, Deshpande V, Chan JKC, Heathcote JG, Aalberse R et al. Recommendations for the nomenclature of IgG4-related disease and its individual organ system manifestations. *Arthritis Rheum.* 2012; 64 (10): 3061–3067. doi: 10.1002/art.34593.
16. Vaglio A, Maritati F. Idiopathic retroperitoneal fibrosis. *J Am Soc Nephrol.* 2016; 27 (7): 1880–1889. doi: 10.1681/ASN.2015101110.
17. Cosmai L, Porta C, Gallieni M, Perazella MA. Onconephrology: a decalogue. *Nephrol Dial Transplant Off*

- Publ Eur Dial Transpl Assoc – Eur Ren Assoc.* 2016; 31 (4): 515–519. doi: 10.1093/ndt/gfv320.
18. Mansouri I, Alencar de Pinho N, Snanoudj R, Jacqueline C, Lassalle M, Béchade C et al. Trends and Outcomes with Kidney Failure from Antineoplastic Treatments and Urinary Tract Cancer in France. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN.* 2020; 15 (4): 484–492. doi: 10.2215/CJN.10230819.
 19. Seylanova N, Crichton S, Zhang J, Fisher R, Ostermann M. Acute kidney injury in critically ill cancer patients is associated with mortality: A retrospective analysis. *PLoS One.* 2020; 15 (5): e0232370. doi: 10.1371/journal.pone.0232370.
 20. Бибков БТ, Томилина НА. Состав больных и показатели качества лечения на заместительной почечной терапии терминальной хронической почечной недостаточности в Российской Федерации в 1998–2013 гг. *Нефрология и диализ.* 2016; 18 (2): 98–164. [In Russ, English abstract]. Bibkov BT, Tomilina NA. Sostav bol'nyh i pokazateli kachestva lechenijana zamestitel'noj pochechnoj terapii terminal'noj hronicheskoj pochechnoj nedostatochnosti v Rossijskoj Federacii v 1998–2013. *Nefrologija i dializ.* 2016; 18 (2): 98–164.
 21. MacLennan S, Imamura M, Lapitan MC, Omar MI, Lam TBL, Hilvano-Cabungcal AM et al. Systematic review of perioperative and quality-of-life outcomes following surgical management of localised renal cancer. *Eur Urol.* 2012; 62 (6): 1097–117. doi: 10.1016/j.euro.2012.07.028.
 22. Moghadamyeghaneh Z, Hanna MH, Fazlalizadeh R, Obi Y, Foster CE, Stamos MJ, Ichii HA Nationwide Analysis of Kidney Autotransplantation. *Am Surg.* 2017 Feb 1; 83 (2): 162–169. PMID: 28228203.
 23. Berger A, Crouzet S, Canes D, Haber G-P, Gill IS. Minimally invasive nephron-sparing surgery. *Curr Opin Urol.* 2008 Sep; 18 (5): 462–466. doi: 10.1097/MOU.0b013e32830a4f10.
 24. Gwon JG, Kim YH, Han DJ. Analysis of Solitary Kidney Autotransplantation Cases. *Transplant Proc.* 2017; 49 (9): 2055–2059. doi: 10.1016/j.transproceed.2017.09.030.
 25. Eisenberg ML, Lee KL, Zumrutbas AE, Meng MV, Freise CE, Stoller ML. Long-Term Outcomes and Late Complications of Laparoscopic Nephrectomy With Renal Autotransplantation. *J Urol.* 2008; 179 (1): 240–243. doi: 10.1016/j.juro.2007.08.135.
 26. Kutikov A, Uzzo RG. The R.E.N.A.L. Nephrometry Score: A Comprehensive Standardized System for Quantitating Renal Tumor Size, Location and Depth. *J Urol.* 2009; 182 (3): 844–853. doi: 10.1016/j.juro.2009.05.035.
 27. Bölling T, Janke K, Wolters HH, Glashörster M, Ernst I, Willich N et al. Kidney-autotransplantation before radiotherapy: A case report. *Anticancer Res.* 2009; 29 (8): 3397–3400. PMID: 19661363.
 28. Bansal VK, Misra MC, Sharma A, Chhabra A, Murmu LR. Giant Retroperitoneal Liposarcoma – Renal Salvage by Autotransplantation. *Indian J Surg.* 2013; 75 (2): 159–161. doi: 10.1007/s12262-012-0474-z.
 29. Стилиди ИС, Никулин МП, Давыдов ММ, Губина ГИ. «Нефросохранные» операции в лечении больных с неорганными забрюшинными опухолями. *Анналы хирургии.* 2014; (3): 47–52. [In Russ, English abstract]. Stilidi IS, Nikulin MP, Davydov MM, Gubina GI. «Kidney-preserving» operations in retroperitoneal tumors surgery. *Annaly hirurgii.* 2014; (3): 47–52.
 30. Mussi C, Colombo P, Bertuzzi A, Coladonato M, Bagnoli P, Secondino S et al. Retroperitoneal sarcoma: Is it time to change the surgical policy? *Ann Surg Oncol.* 2011; 18 (8): 2136–2142. doi: 10.1245/s10434-011-1742-z.
 31. Paloyo SR, Ramirez AD, David-Paloyo FP, Dofitas RB. Wide Excision of a Retroperitoneal Liposarcoma with En Bloc Ureterectomy and Renal Salvage by Autotransplantation. *Case Rep Transplant.* 2019; 2019 (Figure 2): 1–3. doi: 10.1155/2019/9725169.
 32. Федоров ВД, Цвиркун ВВ. Хирургическое лечение больных с неорганными забрюшинными опухолями. *Актуальные вопросы хирургии (Сб. научных трудов к 50-летию Института хирургии им. А.В. Вишневского РАМН).* 1995: 207–214. [In Russ, English abstract]. Fedorov VD, Cvirkun VV. Hirurgicheskoe lechenie bol'nyh s neorgannymi zabrjushinnymi opuholjami. *Aktual'nye voprosy hirurgii (Sb. nauchnyh trudov k 50-letiju Instituta hirurgii im. A. V. Vishnevskogo RAMN).* 1995: 207–214.
 33. Kaprin AD, Ryabov AB, Khomyakov VM, Cheremissova VV, Vé K, Chissov VI et al. Resection of the inferior vena cava in locally advanced non-organ retroperitoneal tumors. *Onkologiya. Zhurnal imeni P.A. Gertsena.* 2017; 6: 28–38. doi: 10.17116/ONKOLOG20176128-38 [In Russ, English abstract].
 34. Теплов АА, Грицкевич АА, Пьянкин СС, Зотиков АЕ, Адырхаев ЗА, Кожанова АВ и др. Метод экстракорпоральной резекции почки в условиях фармако-холодовой ишемии без пересечения мочеточника с ортотопической реплантацией сосудов при почечно-клеточном раке. *Экспериментальная и клиническая урология.* 2015; 2: 52–63. [In Russ, English abstract]. Teplov AA, Gritskevich AA, Pyankin SS, Zotikov AE, Adirkhaev ZA, Kozhanova AV et al. Extracorporeal resection of the kidney in the setting of the pharmacological and cold temperature ischemia with orthotopic replantation of the vessels without ureter transaction in patients with renal cell carcinoma. *Experimental and clinical urology.* 2015; 2: 52–63.
 35. Щепотин ИБ, Лукашенко АВ, Колесник ЕА, Васильев ОВ, Разумей ДА, Приймак ВВ, Жуков ЮА. Современные технологии в хирургии сарком забрюшинного пространства. *Клиническая онкология.* 2011; 2 (2): 21–25. [In Russ, English abstract]. Shchepotin IB, Lukashenko AV, Kolesnik EA, Vasylyev OV, Rozumiy DA, Priymak VV, Gukov UA. Modern technologies in the surgery of retroperitoneal sarcomas. *Clinical Oncology.* 2011; 2 (2): 21–25.
 36. Расулов РИ, Муратов АА, Дворниченко ВВ, Мориков ДД, Тетерина ТП. Реплантация почки при расширенно-комбинированном удалении забрюшинной липосаркомы (клиническое наблюдение). *Acta Biomed Sci.* 2017; 2 (1): 130–135. [In Russ, English abstract]. Rasulov RI, Muratov AA, Dvornichenko VV, Morikov DD, Teterina TP. Renal replantation at extended and

- combined resection of retroperitoneal liposarcoma (case report). *Acta Biomed Sci.* 2017; 2 (1): 130–135.
37. Taylor MJ, Baicu SC. Current state of hypothermic machine perfusion preservation of organs: The clinical perspective. *Cryobiology.* 2010; 60 (3): S20–S35. doi: 10.1016/j.cryobiol.2009.10.006.
38. Badet L, Abdennebi HB, Petruzzo P, McGregor B, Espa M, Hadj-Aissa A et al. Evaluation of IGL-1, a new organ preservation solution: preclinical results in renal transplantation. *Progres En Urol J Assoc Francaise Urol Soc Francaise Urol.* 2005; 15 (3): 481–448. PMID: 16097154.
39. Novick AC, Stewart BH, Straffon RA. Extracorporeal renal surgery and autotransplantation: Indications, techniques and results. *J Urol.* 1980; 123 (6): 806–811. doi: 10.1016/s0022-5347(17)56141-8.
40. Kable T, Alcaraz A, Budde K, Humke U, Karam G, Lucan M et al. Трансплантация почки: Клинические рекомендации Европейской ассоциации урологов. Пер. с англ. М.Ю. Федянина. М.: АБВ-Пресс, 2011. Kable T, Alcaraz A, Budde K, Humke U, Karam G, Lucan M et al. Transplantatsiya pochki: Klinicheskie rekomendatsii Evropeyskoy assotsiatsii urologov. Per. s angl. M.Yu. Fedyanin. M.: ABV-Press, 2011.
41. Breda A, Budde K, Figueiredo A, Lledó García E, Olsburgh J, Regele H et al. EAU guidelines on renal transplantation. *Edn presented at the EAU Annual Congress London.* 2017, 2017.
42. de Francisco ALM, Macía M, Alonso F, García P, Gutiérrez E, Quintana LF et al. Onco-Nephrology: Cancer, chemotherapy and kidney. *Nefrol Publicacion Of Soc Espanola Nefrol.* 2019; 39 (5): 473–481. doi: 10.1016/j.nefro.2018.10.016.
43. Rubio-Jurado B, Balderas-Peña L-M-A, García-Luna EE, Zavala-Cerna MG, Riebeling-Navarro C, Reyes PA et al. Obesity, Thrombotic Risk, and Inflammation in Cancer. *Adv Clin Chem.* 2018; 85: 71–89. doi: 10.1016/bs.acc.2018.02.006.
44. Alberts VP, Idu MM, Legemate DA, Laguna Pes MP, Minnee RC. Ureterovesical anastomotic techniques for kidney transplantation: A systematic review and meta-analysis. *Transpl Int.* 2014; 27 (6): 593–605. doi: 10.1111/tri.12301.
45. Png JCD, Chapple CR. Principles of ureteric reconstruction. *Curr Opin Urol.* 2000; 10 (3): 207–212. doi: 10.1097/00042307-200005000-00004.

Статья поступила в редакцию 1.11.2021 г.
The article was submitted to the journal on 1.11.2021

DOI: 10.15825/1995-1191-2022-1-48-55

РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ К БЕСФЕРМЕНТНОМУ ПОЛУЧЕНИЮ ОСТРОВКОВОЙ ТКАНИ ИЗ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Г.Н. Скалецкая, Н.Н. Скалецкий, Г.Н. Бубенцова, В.И. Севастьянов

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

Успешность аллотрансплантации островков поджелудочной железы при лечении пациентов с трудноуправляемым течением сахарного диабета 1-го типа зависит главным образом от количества и качества островков, изолируемых из поджелудочной железы посмертных доноров с помощью ферментных препаратов, прежде всего коллагеназы. Многочисленные исследования по совершенствованию и стандартизации методов выделения островков достигли в последнее десятилетие предела своих возможностей, что сделало невозможным дальнейшее увеличение количества и качества клинических трансплантаций. Учитывая негативное влияние применения коллагеназной техники на морфофункциональные свойства изолируемых островков, в настоящей работе изучена возможность бесферментного получения островковой ткани, очищенной от экзокринного балласта. Эксперименты, проведенные с использованием поджелудочной железы новорожденных и молодых кроликов, показали реальность разработки методических подходов к получению островковоподобных культур без применения экзогенных ферментов.

Ключевые слова: поджелудочная железа, экзокринная ткань, островки, изоляция, коллагеназа, кролики, флотирующие островковоподобные культуры.

DEVELOPMENT OF APPROACHES TO ENZYME-FREE ISOLATION OF PANCREATIC ISLETS

G.N. Skaletskaya, N.N. Skaletskiy, G.N. Bubentsova, V.I. Sevastianov

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

The success of pancreatic islet allotransplantation in the treatment of patients with a difficult-to-manage type 1 diabetes depends mainly on the quantity and quality of islets isolated from the pancreas of deceased donors using enzyme preparations, primarily collagenase. Numerous studies on improvement and standardization of islet isolation techniques have reached their limits in the last decade. This has made it impossible to further boost the number and quality of clinical transplants. Taking into account the negative impact of collagenase technique on the morphofunctional properties of isolated islets, this work has studied the possibility of enzyme-free isolation of islet tissue purified of exocrine ballast. Experiments using the pancreas of newborn and young rabbits showed that developing methodological approaches to obtaining islet-like cultures without the use of exogenous enzymes is feasible.

Keywords: pancreas, exocrine tissue, islets, isolation, collagenase, rabbits, floating islet-like cultures.

ВВЕДЕНИЕ

Прорыв в эффективной аллотрансплантации островков поджелудочной железы (ПЖ) больным сахарным диабетом 1-го типа ознаменовался в самом начале XXI века разработкой Эдмонтонского протокола [1]. С тех пор произошло определенное улучшение результатов и повышение безопасности

трансплантации островков [2]. При этом некоторые трансплантационные центры неизменно были более успешными, чем другие [3], и это различие обусловлено в значительной, если не в определяющей, степени качеством изолированных островков, которое зависит от методического уровня и опыта исследователей, занимающихся этой проблемой.

Для корреспонденции: Скалецкая Галина Николаевна. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел.: (499) 190-42-66; (903) 771-18-13. E-mail: Skalink@mail.ru

Corresponding author: Galina Skaletskaya. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (499) 190-42-66; (903) 771-18-13. E-mail: Skalink@mail.ru

Правильность применения препаратов коллагеназы, являющихся важнейшими реагентами, используемыми для изоляции островков, существенно влияет на количество и качество островков (точнее, эквивалентов островков) и в конечном итоге определяет результаты их трансплантации больным сахарным диабетом [3]. В течение ряда лет для выделения островков из препаратов коллагеназного ряда наиболее широко использовалась Либераза Н1 (Roche), которая, по сути, считалась ферментом выбора [4]. Однако в 2007 году возникли опасения по поводу использования этого препарата. Дело в том, что в процессе его производства использовалось сырье, полученное из мозга крупного рогатого скота, которое теоретически потенциально может передавать заболевания, связанные с прионами [5]. С тех пор были предприняты усилия по замене этого препарата путем модификации его компонентов и изучения переваривающей активности новых ферментов [6]. В результате стали применять смеси ферментов, включающие Коллагеназу NB1 (Serva), версию Либеразы без использования тканей млекопитающих (Roche) и новую смесь Vitacyte [7–9]. Несмотря на то что Либераза Н1 и Коллагеназа NB1 были наиболее широко исследованными ферментами для выделения островков человека, количественные и качественные результаты, полученные в ряде центров, существенно различались и нередко оказывались противоречивыми. При этом критерием качественной оценки образцов островков, выделенных в нескольких центрах США от доноров с различными характеристиками, являлось определение функции островковых β -клеток (базальная и стимулированная секреция инсулина) [10].

Отсутствие стандартизации ферментной обработки ткани ПЖ человека может в определенной степени объяснить высокую вариабельность результатов изоляции островков. С целью определения разумного выбора наиболее приемлемого варианта обработки панкреатической ткани был проведен сравнительный метаанализ результатов применения смесей различных ферментных препаратов при изоляции островков из ПЖ посмертных доноров [11]. При этом оценивали влияние различных ферментов на эквивалентное количество островков, полученных из 1 грамма поджелудочной железы, определяя степень их очистки, жизнеспособность и стимулированную глюкозой секрецию инсулина. Проведенный метаанализ показал, что, по-видимому, исследования по стандартизации изоляции достаточного количества островков из донорской ПЖ достигли предела своих возможностей, и после всплеска достижений в начале 2000-х годов в этой области наступил стагнационный период, что сделало практически невозможным значимое увеличение эффективных пересадок островков в клинику. Многочисленные эксперименты с

использованием ПЖ лабораторных животных, прежде всего грызунов, продолжающиеся до настоящего времени, не позволили существенно улучшить метод изоляции островков [12–14] и экстраполировать полученные данные на протокол выделения островков из ПЖ посмертных доноров. Некоторую надежду на увеличение длительности выживания и повышение функциональных возможностей островков дают опыты по совместному их культивированию с мезенхимальными стромальными клетками [15, 16].

Важно отметить, что помимо экзогенных ферментных препаратов существенное влияние на количество и качество островков, изолируемых из донорской ПЖ, может оказывать активация ее собственных протеолитических ферментов, продуцируемых ацинарными клетками. Как известно, внешне-секреторная функция ПЖ заключается в выделении в двенадцатиперстную кишку панкреатического сока, способствующего расщеплению поступающего с пищей белка до аминокислот. Протеолитические ферменты, представленные трипсином, химотрипсином и карбоксипептидазой, выделяются в просвет двенадцатиперстной кишки в неактивном состоянии, и активация их наступает под влиянием энтерокиназы кишечного сока. Однако внутриорганная активация собственных ферментов в донорской ПЖ вполне реальна и связана главным образом с нарушением подачи кислорода во время ее извлечения, хранения на холоде и при выполнении процедуры изоляции островков [17]. Увеличение продукции лактата в результате анаэробного распада глюкозы при гипоксии/аноксии вызывает внутриклеточный ацидоз, который является одним из основных индукторов преждевременной внутриклеточной аутоактивации трипсиногена и последующего запуска ферментного каскада в ацинарных клетках [18]. Поскольку 90% белков, синтезированных ацинарными клетками, являются пищеварительными ферментами, неизбежные периоды ишемии обеспечивают «идеальные» условия для запуска аутолитических процессов в ПЖ [19]. Отрицательное влияние эндогенных панкреатических протеаз на функциональные способности островков было отмечено, в частности, при ишемическом/реперфузионном панкреатите, развивающемся в процессе консервации донорской ПЖ [20]. Выживанию островков во время ишемии может препятствовать также то, что островки непосредственно окружены ацинарными клетками, которые отличаются более высокой плотностью гранул зимогена по сравнению с телеинсулярными клетками. Эта гистологическая особенность делает островки особенно уязвимыми к протеолитическому повреждению [21].

Отсутствие прогресса в разработке методов изоляции островков сделало востребованным поиск новых, более эффективных подходов к получению островковой ткани в количестве, достаточном для

осуществления успешного трансплантационного лечения больных сахарным диабетом. В настоящей работе изучена возможность получения культур островковых клеток, очищенных от экзокринного балласта, без использования стандартных ферментных препаратов, которые, как было указано выше, в значительной мере снижают выживаемость и функциональные возможности выделяемых островков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве доноров ПЖ использовали лабораторных кроликов породы «советская шиншилла» различного возраста и массы тела: 60 голов новорожденных (1–2-дневных) с массой тела 60–70 г и 12 голов одномесячных с массой тела 600–700 г, то есть на порядок большей, чем у новорожденных кроликов. Животных получали из питомника лабораторных животных ООО «КролИнфо» с представлением ветеринарного свидетельства.

Учитывая описанное выше пагубное влияние на островки протеолитических ферментов, высвобождающихся при продолжительных манипуляциях с донорской ПЖ, нами были использованы приемы, уменьшающие это воздействие, минимизирующие, в частности, длительность ишемии органа. При этом нами предполагалось, что умеренный протеолиз эндогенными ферментами, неизбежный даже при самой кратковременной обработке панкреатической ткани, приведет к гибели только ацинарных клеток, но не окажет повреждающего действия на островки. Поэтому с целью предупреждения избыточного аутолиза панкреатической ткани сразу после эвтаназии животных и извлечения у них ПЖ последнюю помещали в холодный (4 °С) раствор Хенкса (ПанЭко), затем быстро с помощью глазных пинцетов удаляли капсулу, видимые кровеносные сосуды и выводные протоки и разрезали орган на фрагменты величиной около 2 мм, которые дважды промывали холодным раствором Хенкса, после чего в течение 7–10 минут тщательно измельчали острыми глазными ножницами. Продолжительность микродиссекции зависела от видимых особенностей обрабатываемой железы и определялась исследователем в каждом конкретном случае. Образовавшуюся густую тканевую суспензию не менее трех раз промывали холодным раствором Хенкса. В результате указанных манипуляций обрабатываемая при комнатной температуре (20–24 °С) панкреатическая ткань подвергалась предположительно лишь щадящему протеолитическому воздействию эндогенных панкреатических ферментов, которые после обильного промывания полученной тканевой суспензии удаляли вместе с обрывками аутолизированной экзокринной ткани. Полученная после обработки 1 ПЖ одномесячного кролика или 5 ПЖ новорожденных кроликов тканевая суспензия состояла в основном из микрофрагментов размером

менее 1 мм³, которые переносили в культуральный флакон площадью 25 см³ (Corning), куда сразу же вносили 10–12 мл среды RPMI-1640 HEPES без глутамина (ПанЭко) и добавляли 1 мл эмбриональной телячьей сыворотки (HyClone). Флаконы помещали в инкубатор и культивирование проводили при 37 °С. Замену ростовой среды на свежую выполняли каждые 2–3 суток. За изменениями, происходящими в процессе инкубации, наблюдали через инвертированный микроскоп Nikon Eclipse TS 100 путем ежедневного мониторинга, и значимые изменения фиксировали с помощью цифровой фотокамеры. Проводили гистологическое исследование нативных ПЖ новорожденных и одномесячных кроликов, а также образцов получаемых культур на разных сроках инкубации панкреатических микрофрагментов. Исследуемый материал фиксировали в формалине. После рутинной процедуры обезжизивания образцы заливали в парафин. Среды толщиной 4 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, а также подвергали иммуногистохимическому окрашиванию по стандартной методике с пероксидазой хрена для выявления основных типов островковых клеток с использованием соответствующих моноклональных антител: antiinsulin и antiglucagon (Sigma).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Гистологическое исследование ПЖ 1–2-дневных кроликов и ПЖ одномесячных кроликов выявило существенное различие в соотношении эндокринной (островковой) и экзокринной (ацинарной) тканей у этих разновозрастных животных. Доля экзокринной ткани у молодых животных существенно превышала таковую у новорожденных. При этом островки, имеющие овальную форму, были четко отграничены от окружающей экзокринной ткани прослойками соединительной ткани (рис. 1, а). В то же время у новорожденных животных из-за естественного отсутствия активного пищеварения экзокринный отдел ПЖ развит слабо, островки в неонатальной ПЖ заметно мельче, неправильной, «рваной» формы и не имеют выраженных соединительно-тканых прослоек на границе с экзокринными клетками (рис. 1, б).

Такие гистологические особенности делали нецелесообразным обработку панкреатической ткани новорожденных кроликов препаратами коллагеназного ряда из-за практического отсутствия точки приложения действия таких ферментов (коллагеновые волокна соединительно-тканых прослоек). Поэтому было решено изучить изменения, происходящие при культивировании ПЖ новорожденных кроликов, подвергшейся только механическому измельчению, без ферментной обработки.

Наблюдения, осуществлявшиеся с помощью инвертированного микроскопа, выявили существенное уменьшение массы экзокринной ткани уже на 2-е

3-и сутки инкубации микрофрагментов неонатальной ПЖ и их уплотнение и «ошаривание» на фоне окончательной гибели и элиминации ацинарных клеток к исходу 5–7-х суток (рис. 2).

Образующийся при деструкции ацинарных клеток детрит благополучно удалялся при очередной замене культуральной среды. В результате формировалась культура, почти полностью состоящая из флотирующих (свободно плавающих) плотных шаровидных или овоидных структур (рис. 3).

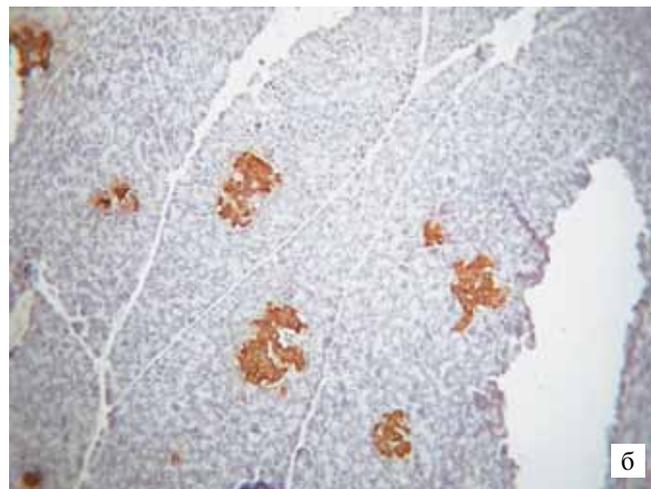
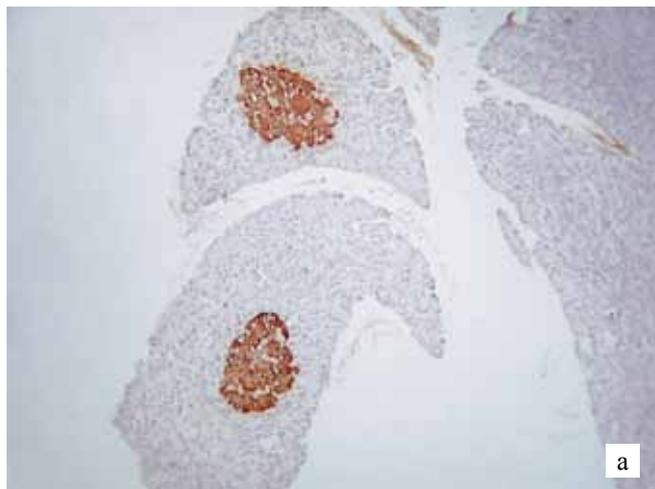


Рис. 1. Поджелудочная железа одномесячного кролика (а) и однодневного кролика (б). Иммуногистохимическое окрашивание β -клеток островков антителами к инсулину. $\times 200$

Fig. 1. Pancreas of a one-month-old rabbit (a) and of a one-day-old rabbit (b). Immunohistochemical staining of beta-cells of islets with insulin antibodies. $\times 200$

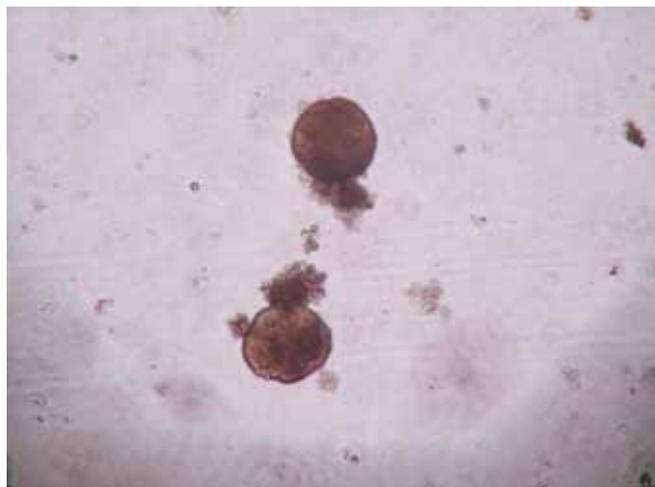


Рис. 2. Завершение процесса спонтанной очистки от экзокринной ткани микрофрагментов поджелудочной железы новорожденных кроликов. Инвертированный микроскоп. $\times 100$

Fig. 2. Completion of spontaneous purification of newborn rabbit pancreatic microfragments from exocrine tissue. Inverted microscope. $\times 100$

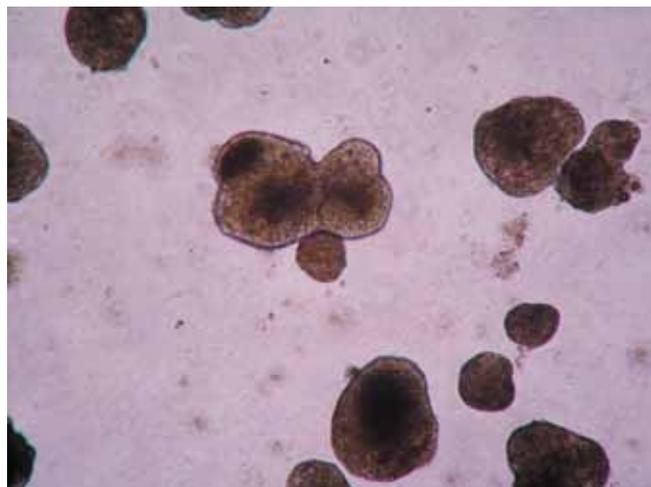


Рис. 3. Формирование флотирующих культур после 7-дневной инкубации микрофрагментов ПЖ новорожденных кроликов. Инвертированный микроскоп. $\times 100$

Fig. 3. Formation of floating cultures after 7-day incubation of pancreatic microfragments of newborn rabbits. Inverted microscope. $\times 100$

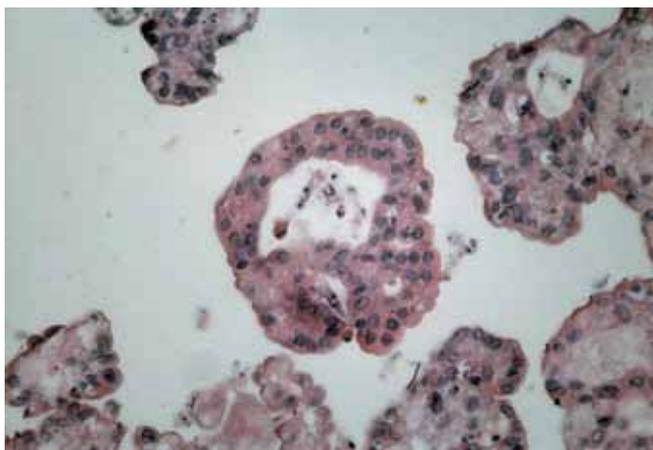


Рис. 4. Флотирующие культуры, полученные из поджелудочной железы новорожденных кроликов. Окрашивание гематоксилином и эозином. ×200

Fig. 4. Floating cultures obtained from the pancreas of newborn rabbits. H&E stain. ×200

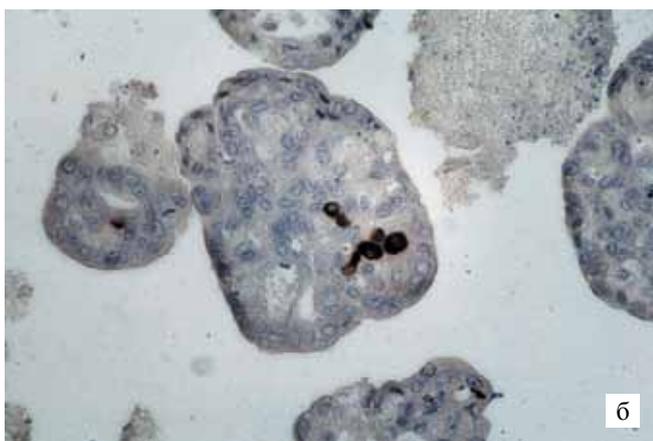
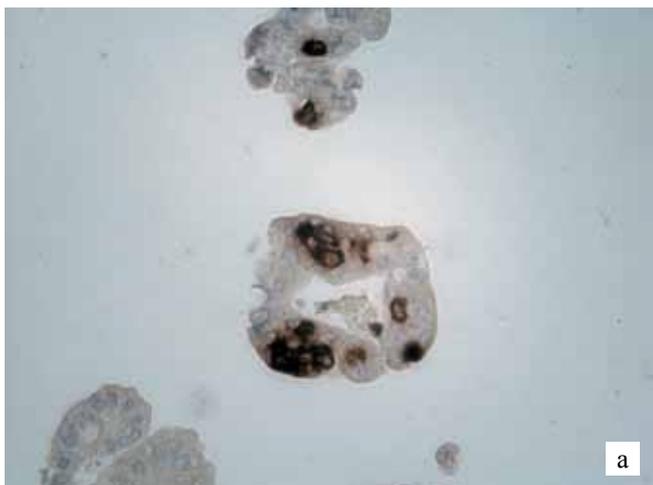


Рис. 5. Иммуногистохимическое окрашивание флотирующих культур, полученных из ПЖ новорожденных кроликов с помощью антител к инсулину (а) и глюкагону (б). ×200

Fig. 5. Immunohistochemical staining of floating cultures obtained from the pancreas of newborn rabbits using insulin (a) and glucagon (б) antibodies. ×200

назвать их флотирующими островковоподобными культурами (ФОК).

В отличие от результатов получения культур из ПЖ новорожденных кроликов использование аналогичных условий при инкубации микрофрагментов ПЖ одномесячных кроликов не привело к выраженному устранению экзокринной ткани. По всей видимости, причиной этой неудачи явилось наличие существенно большей доли экзокринной панкреатической ткани у молодых кроликов по сравнению с неонатальной ПЖ. Дегградация ацинусов происходила медленно, и значительное их количество сохранялось даже после 8–10-дневного срока инкубации (рис. 6).

При этом продолжительное действие высвобождающихся из ацинарных клеток протеолитических ферментов на островковую ткань, по-видимому, отрицательно сказывалось на ее морфофункциональном состоянии, что препятствовало формированию ФОК. В связи с этим было решено повысить температуру инкубации, что предположительно могло ускорить гибель экзокринной ткани и обеспечить более благоприятные конкурентные условия для выживания эндокринной ткани.

Несмотря на то что классическим условием инкубации является нормотермия (температура не выше 37 °С), нами, учитывая данную природой устойчивость островков ПЖ к неблагоприятным условиям и отсутствие таковой у экзокринной ткани, было решено впервые провести инкубацию панкреатических микрофрагментов при 38 °С, тем более что в норме температура внутри организма человека и млекопитающих животных может достигать 38 °С.

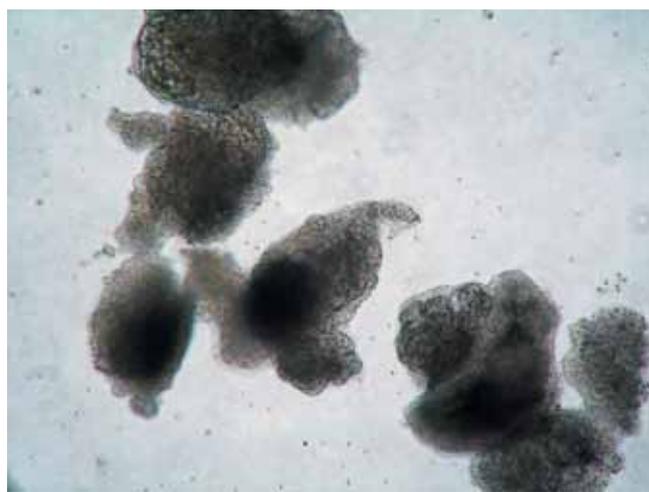


Рис. 6. Сохранившаяся экзокринная ткань в микрофрагментах ПЖ одномесячных кроликов после 10-дневной инкубации. Инвертированный микроскоп. ×100

Fig. 6. Preserved exocrine tissue in the pancreatic microfragments of one-month-old rabbit after 10-day incubation. Inverted microscope. ×100

Как показали наблюдения, проведенные с помощью инвертированного микроскопа, такой режим (формально гипертермический) способен ускорить гибель и элиминацию экзокринной панкреатической ткани, что значительно сокращает возможное протеолитическое воздействие на островки, способствуя их быстрой очистке и выживанию. Благодаря созданию таких температурных условий уже к 3–4-м суткам

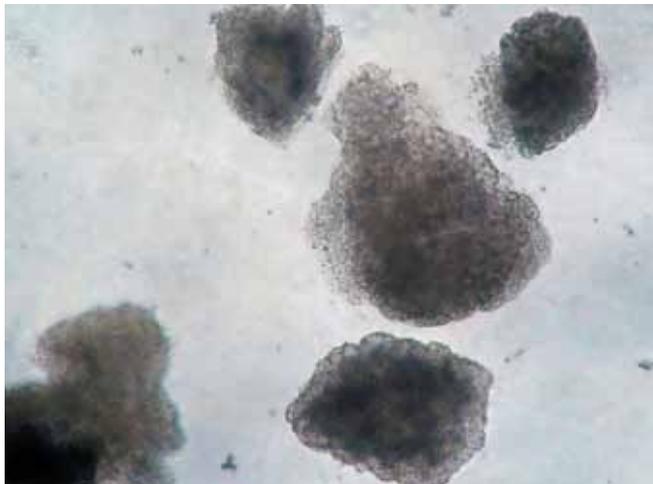


Рис. 7. Начало процесса спонтанной очистки от экзокринной ткани на 4-е сутки инкубации микрофрагментов ПЖ одномесячных кроликов в гипертермических условиях. Инвертированный микроскоп. $\times 100$

Fig. 7. Beginning of spontaneous purification against exocrine tissue at day 4 of incubation of pancreatic microfragments of one-month-old rabbits under hyperthermic conditions. Inverted microscope. $\times 100$

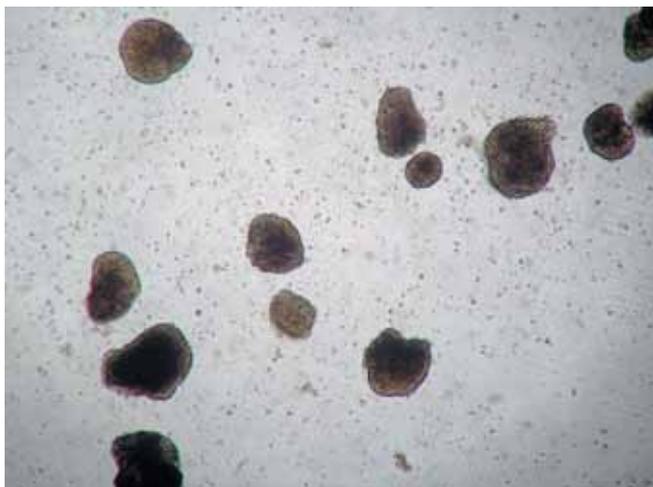


Рис. 8. Формирование флотирующих культур на 10-е сутки инкубации микрофрагментов ПЖ одномесячных кроликов в гипертермических условиях. Инвертированный микроскоп. $\times 40$

Fig. 8. Formation of floating cultures at day 10 of incubation of pancreatic microfragments of one-month-old rabbits under hyperthermic conditions. Inverted microscope. $\times 40$

инкубации наблюдалась отчетливая деградация экзокринной ткани (рис. 7), и к 8–10-м суткам происходило формирование очищенных от балласта культур (рис. 8).

Как показало гистологическое исследование полученных флотирующих культур, они состоят в основном из жизнеспособных эпителиальных клеток (рис. 9).

С помощью иммуногистохимического окрашивания в центральной их части были выявлены гранулы инсулина, свидетельствующие о секреторной активности островковых β -клеток (рис. 10). Таким образом, было подтверждено получение из поджелудочной железы одномесячных кроликов островковоподобных культур.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По нашему мнению, сама природная обособленность, закрытость островков от окружающей экзокринной ткани, этого «кипящего ферментами котла», позволяет надеяться на то, что собственная ферментная система ПЖ менее опасна для островков, чем агрессивная ферментная смесь, которая неестественным путем вводится в панкреатическую ткань с одной лишь целью – «выбить» островки, изолировать их от экзокринной ткани. Это соображение подтверждается тем фактом, что при острых панкреатитах крайне редко страдает эндокринная (островковая) ткань, и лишь в случаях многократно повторяющихся эпизодов рецидивирующего панкреатита или, чаще всего, в результате обширного панкреонекроза наступает гибель значимого коли-

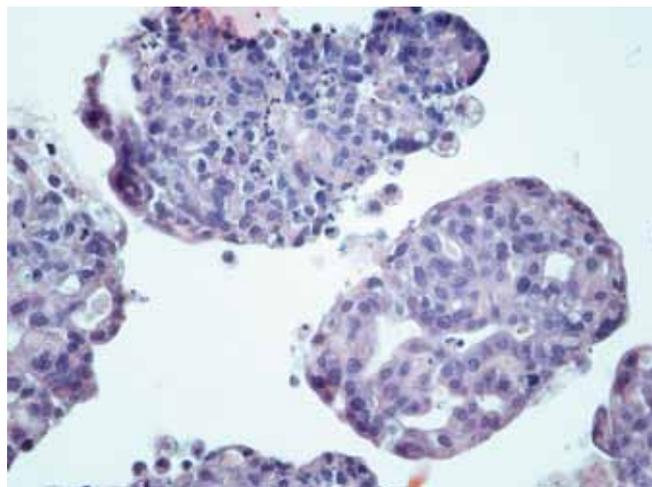


Рис. 9. Флотирующие культуры, полученные из поджелудочной железы одномесячных кроликов, 8-е сутки инкубации в гипертермических условиях. Окрашивание гематоксилином и эозином. $\times 400$

Fig. 9. Floating cultures obtained from the pancreas of one-month-old rabbits, day 8 of incubation under hyperthermic conditions. H&E stain. $\times 400$

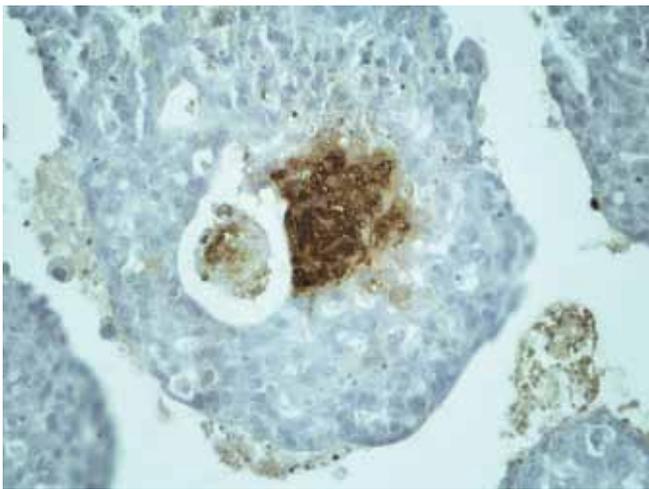


Рис. 10. Флотирующие культуры, полученные из поджелудочной железы одномесячных кроликов, 8-е сутки инкубации в гипертермических условиях. Иммуногистохимическое окрашивание с помощью антител к инсулину. $\times 400$

Fig. 10. Floating cultures obtained from the pancreas of one-month-old rabbits, day 8 of incubation under hyperthermic conditions. Immunohistochemical staining with insulin antibodies. $\times 400$

чества островков, которая приводит к выраженному дефициту инсулинпродуцирующих β -клеток, развитию инсулиновой недостаточности, и естественно, к клинической манифестации инсулинозависимого сахарного диабета. Результаты, полученные в настоящем исследовании, свидетельствуют о возможности отказа от применения экзогенных ферментов при обработке ткани донорской ПЖ в процессе получения культур, состоящих в основном из эндокринных (островковых) клеток. Многочисленные наблюдения с помощью инвертированного микроскопа показали, что в стандартных условиях инкубации микрофрагментов механически измельченной ПЖ происходит спонтанная гибель ее экзокринной ткани. Этот деструктивный процесс, по всей видимости, обусловлен происходящим при нормотермическом культивировании аутолизе ацинарных клеток под влиянием содержащихся в них пищеварительных ферментов. Образующийся в результате детрит своевременно удаляется при очередной замене культуральной среды. В то же время природно защищенные островки существенно не повреждаются, что можно объяснить наличием окружающей островок базальной мембраны, состоящей из различных белков внеклеточного матрикса [22, 23]. Базальная мембрана служит своеобразным интерфейсом между островками, эндотелиальными клетками и ацинарными клетками через интегрины и другие клеточные рецепторы [24, 25], образуя защитный барьер, обеспечивающий морфологическую целостность островков при неинтен-

сивном самопереваривании поджелудочной железы. В результате происходит как бы спонтанное самоочищение эндокринной (островковой) ткани от ненужной, балластной, но при этом высокоиммуногенной экзокринной ткани при сохранении необходимого для выживания и функционирования островковых клеток внеклеточного матрикса, представленного, в частности, упомянутой выше периостровковой мембраной. Наиболее быстро процесс избавления от экзокринной ткани происходит при стандартной температуре инкубации ($37\text{ }^{\circ}\text{C}$) микрофрагментов ПЖ новорожденных кроликов. Однако этот режим оказался не подходящим для ПЖ молодых (одномесячных) животных, что может быть объяснено наличием значительно большего процента экзокринной ткани. Было решено с целью интенсификации аутолитических процессов впервые применить нестандартную гипертермическую ($38\text{ }^{\circ}\text{C}$) инкубацию. Как и предполагалось, в новых температурных условиях уже к 5–7-м суткам была отмечена существенно бóльшая потеря экзокринной ткани, содержащейся в измельченных панкреатических микрофрагментах, их постепенное уплотнение и ошаривание. Эти процессы привели к формированию флотирующих островковоподобных культур, аналогичных тем, которые нами были получены из ПЖ новорожденных кроликов.

Таким образом, разрабатываемые в настоящем исследовании рациональные методические подходы позволяют получать очищенные от экзокринной ткани островковоподобные культуры без использования дорогостоящих и неоднозначно действующих ферментных препаратов. По нашему мнению, последующие опыты по модификации бесферментного метода получения культур островковых клеток из ПЖ взрослых кроликов позволят получить данные, которые могут быть экстраполированы на разработку более рационального и продуктивного способа выделения островков из ПЖ посмертных доноров человека.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Shapiro AM, Lakey JR, Ryan EA, Korbutt GS, Toth E, Warnock GL et al. Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *N Engl J Med.* 2000; 343: 230–238.
2. Barton FB, Rickels MR, Alejandro R, Hering BJ, Wease S, Naziruddin B et al. Improvement in outcomes of clinical islet transplantation: 1999–2010. *Diabetes Care.* 2012; 35: 1436–1445.

3. Misawa R, Ricordi C, Miki A, Barker S, Molano RD, Khan A et al. Evaluation of viable beta-cell mass is useful for selecting collagenase for human islet isolation: comparison of collagenase NB1 and liberase HI. *Cell Transplant*. 2012; 21: 39–47.
4. Linetsky E, Bottino R, Lehmann R, Alejandro R, Inverardi L, Ricordi C. Improved human islet isolation using a new enzyme blend, liberase. *Diabetes*. 1997; 46: 1120–1123.
5. Alejandro R, Barton FB, Hering BJ, Wease S. 2008 Update from the Collaborative Islet Transplant Registry. *Transplantation*. 2008; 86: 1783–1788.
6. Sabek OM, Cowan P, Fraga DW, Gaber AO. The effect of isolation methods and the use of different enzymes on islet yield and in vivo function. *Cell Transplant*. 2008; 17: 785–792.
7. Bertuzzi F, Cainarca S, Marzorati S, Bachi A, Antoniolli B, Nano R et al. Collagenase isoforms for pancreas digestion. *Cell Transplant*. 2009; 18: 203–206.
8. Szot GL, Lee MR, Tavakol MM, Lang J, Dekovic F, Kerlan RK et al. Successful clinical islet isolation using a GMP-manufactured collagenase and neutral protease. *Transplantation*. 2009; 88: 753–756.
9. Wang Y, Paushter D, Wang S, Barbaro B, Harvat T, Danielson K et al. Highly purified versus filtered crude collagenase: comparable human islet isolation outcomes. *Cell Transplant*. 2011; 20: 1817–1825. PMID: 21396158.
10. Kayton S, Poffenberger G, Henske J, Dai Ch, Thompson C, Aramandla R et al. Human islet preparations distributed for research exhibit a variety of insulin-secretoory profiles. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2015 Apr 1; 308 (7): E592–E602. doi: 10.1152/ajpendo.00437.2014.
11. Rheinheimer J, Klarmann Ziegelmann P, Carlessi R, Ross Reck L, Bauer AC, Leitão B. Different digestion enzymes used for human pancreatic islet isolation: A mixed treatment comparison (MTC) meta-analysis. *Islets*. 2014; 6 (4): e977118. Published online 2014 Nov 7.
12. Khatri R, Hussmann B, Rawat D, Gürol AO, Linn T. Intraportal Transplantation of Pancreatic Islets in Mouse Model. *J Vis Exp*. 2018 May 5; (135): 57559. doi: 10.3791/57559.
13. Saliba Y, Farès N. Isolation, Purification, and Culture of Mouse Pancreatic Islets of Langerhans. *Methods Mol Biol*. 2019; 1940: 255–265. doi: 10.1007/978-1-4939-9086-3_18. PMID: 30788831.
14. Corbin KL, West HL, Brodsky S, Whitticar NB, Koch WJ, Nunemaker CS. A Practical Guide to Rodent Islet Isolation and Assessment Revisited. *Biol Proced Online*. 2021 Mar 1; 23 (1): 7. doi: 10.1186/s12575-021-00143-x. PMID: 33641671.
15. Dietrich I, Girdlestone J, Giele H. Differential cytokine expression in direct and indirect co-culture of islets and mesenchymal stromal cells. *Cytokine*. 2021 Dec 17; 150: 155779. doi: 10.1016/j.cyto.2021.155779.
16. Hubber EL, Rackham CL, Jones PM. Protecting islet functional viability using mesenchymal stromal cells. *Stem Cells Transl Med*. 2021 May; 10 (5): 674–680. doi: 10.1002/sctm.20-0466.
17. Brandhorst D, Brandhorst H, Johnson PRV. Enzyme Development for Human Islet Isolation: Five Decades of Progress or Stagnation? *Rev Diabet Stud*. 2017 Spring; 14 (1): 22–38.
18. Gorelick FS, Otani T. Mechanisms of intracellular zymogen activation. *Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 1999; 13 (2): 227–240.
19. Piton G, Barbot O, Manzon C, Moronval F, Patry C, Navellou JC et al. Acute ischemic pancreatitis following cardiac arrest: a case report. *JOP*. 2010; 11 (5): 456–459.
20. Dembinski A, Warzecha Z, Ceranowicz P, Tomaszewska R, Dembinski M, Pabianczyk M et al. Ischemic preconditioning reduces the severity of ischemia/reperfusion-induced pancreatitis. *Eur J Pharmacol*. 2003; 473 (2–3): 207–216.
21. Trimble ER. In: Lanza RP, Chick WL. Pancreatic islet transplantation. 1994. Pancreatic islet-acinar relationships; 19–25.
22. van Deijnen JH, Hulstaert CE, Wolters GH, van Schilf-gaarde R. Significance of the peri-insular extracellular matrix for islet isolation from the pancreas of rat, dog, pig, and man. *Cell Tissue Res*. 1992; 267 (1): 139–146.
23. van Suylichem PT, van Deijnen JE, Wolters GH, van Schilf-gaarde R. Amount and distribution of collagen in pancreatic tissue of different species in the perspective of islet isolation procedures. *Cell Transplant*. 1995; 4 (6): 609–614.
24. Otonkoski T, Banerjee M, Korsgren O, Thornell LE, Virtanen I. Unique basement membrane structure of human pancreatic islets: implications for beta-cell growth and differentiation. *Diabetes Obes Metab*. 2008; 10 (Suppl): 119–127.
25. Jiang FX, Naselli G, Harrison LC. Distinct distribution of laminin and its integrin receptors in the pancreas. *J Histochem Cytochem*. 2002; 50 (12): 1625–1632.

Статья поступила в редакцию 12.11.2021 г.
The article was submitted to the journal on 12.11.2021

DOI: 10.15825/1995-1191-2022-1-56-63

ИНДУКЦИЯ ОСТЕОГЕНЕЗА КОСТНОЙ ТКАНИ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ КРОЛИКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КРИОГЕННО-СТРУКТУРИРОВАННОГО ГУБЧАТОГО АЛЬБУМИНОВОГО 3D-НОСИТЕЛЯ, НАГРУЖЕННОГО БИОРЕГУЛЯТОРОМ

А.И. Шайхалиев¹, М.С. Краснов², Е.В. Сидорский², В.П. Ямскова³, В.И. Лозинский²

¹ ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация

² ФГБУН «Институт элементоорганических соединений имени А.Н. Несмеянова Российской академии наук», Москва, Российская Федерация

³ Институт проблем биорегуляции, Москва, Российская Федерация

Цель работы: изучить *in vivo* на модели экспериментального костного дефекта нижней челюсти кролика индукцию остеогенеза, вызываемую внесением в область дефекта широкопористых криогенно-структурированных 3D-носителей на основе сывороточного альбумина, нагруженных биорегулятором, выделенным из сыворотки крови крупного рогатого скота. **Материалы и методы.** В качестве носителя биорегулятора использовали криогенно-структурированные губки в виде цилиндрических образцов диаметром 5 мм и высотой также 5 мм, приготовленные из бычьего сывороточного альбумина. Эксперименты с лабораторными животными проводили на кроликах породы Шиншилла весом 2–2,5 кг, самцах. Под наркозом (внутримышечный наркоз Zoletil 100) разрезом до 3 см в области угла нижней челюсти скелетировали костную ткань и фрезой диаметром 5 мм создавали дефект глубиной 2–3 мм для установки альбуминовой губки соответствующего размера. Всего в эксперименте присутствовало 24 животных. Проводили рентгенологический контроль области дефекта на 14-е сутки прижизненно на аппарате PanExam+ (Kavo), 20 мРентген. Гистологическое исследование тканей проводили на 30-е сутки после нанесения дефекта с использованием светового микроскопа. **Результаты.** Результаты проведенных экспериментов свидетельствуют об активном восстановлении костной ткани в области обширного дефекта при использовании альбуминового 3D-носителя именно с включением биорегулятора по сравнению с контрольными опытами. Зарегистрированы процессы остеоинтегративной и остеоиндуктивной активности, практически полное разложение (биодеградация) альбуминовой губки с формированием на месте дефекта островков плотной костной ткани с небольшими очагами грубоволокнистой ткани, что говорит о хорошей динамике восстановительных процессов на данном сроке заживления. **Заключение.** Полученные данные указывают на то, что под действием сывороточного биорегулятора в составе альбуминовой губки процесс репарации приводит к восстановлению нормальной костной ткани без формирования костной мозоли и измененной костной ткани, отличной от нативной ткани.

Ключевые слова: остеоиндукция, 3D-технологии, криогели, биорегуляторы.

Для корреспонденции: Краснов Михаил Сергеевич. Адрес: 119991, Москва, ул. Вавилова, 28. Тел. (916) 492-17-97. E-mail: embrmsk@mail.ru

Corresponding author: Mikhail Krasnov. Address: 28, Vavilova str., Moscow, 119991, Russian Federation. Phone: (916) 492-17-97. E-mail: embrmsk@mail.ru

INDUCTION OF OSTEOGENESIS IN RABBIT MANDIBULAR BONE TISSUE USING AN ALBUMIN-BASED CRYOGENICALLY STRUCTURED POROUS 3D CARRIER LOADED WITH A BIOREGULATOR

A.I. Shaikhaliev¹, M.S. Krasnov², E.V. Sidorsky², V.P. Yamskova³, V.I. Lozinsky²

¹ Sechenov University, Moscow, Russian Federation

² Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds, Moscow, Russian Federation

³ Institute of Bioregulation Problem, Moscow, Russian Federation

Objective: to study the induction of osteogenesis caused by introducing into the defect area broadly porous cryogenically structured 3D carriers, based on serum albumin and loaded with a bioregulator isolated from bovine serum on an experimental model of mandible defect in rabbits *in vivo*. **Materials and methods.** Cryogenically structured sponges in the form of cylindrical specimens, 5 mm in diameter and 5 mm in height, prepared from bovine serum albumin, were used as the bioregulator carrier. The experimental laboratory animals were male Chinchilla rabbits, weighing 2–2.5 kg. Bone tissue was skeletonized under anesthesia (intramuscular anesthetic Zoletil 100) with a 3-cm incision in the angle of the mandible and a 5-mm-diameter cutter was used to create a 2–3-mm deep defect to install an appropriate-size albumin sponge. A total of 24 animals participated in the experiment. X-ray control of the defect area was performed *in vivo* on day 14 using PanExam+ (Kavo) device (20 m X-ray). Histological examination of tissues was carried out at day 30 after the defect using a light microscope. **Results.** Experiments performed indicate an active restoration of bone tissue in the extensive defect area when using an albumin-based 3D carrier with the inclusion of a bioregulator as compared to the control experiments. There were osteointegrative and osteoinductive processes, almost complete decomposition (biodegradation) of albumin sponge with formation of islands of dense bone tissue with small foci of coarse fibrous tissue in the defect. This demonstrated good dynamics of recovery processes at this stage of healing. **Conclusion.** Under the action of a serum bioregulator contained in an albumin-based sponge, the repair process leads to restoration of normal bone tissue without formation of bone callus and altered bone tissue different from the native one.

Key words: osteoinduction, 3D technology, cryogels, bioregulators.

ВВЕДЕНИЕ

В челюстно-лицевой хирургии актуальна проблема восстановления дефектов костей с использованием специальных имплантационных материалов или композиций. Причем важно, какие именно материалы и с каким наполнением используются для замещения и восстановления костной ткани при различных патологических процессах. В частности, применяются методы с замещением костных дефектов с помощью ауто- и аллотрансплантатов, а также искусственных костей как декальцинированных, так и децеллюляризованных. Однако не всегда доступен собственный костный материал, особенно при больших дефектах, а при использовании аллотрансплантатов и искусственных материалов возможны осложнения, включая отторжение. В настоящее время пока еще нет имплантационных материалов и конструкций из них, которые бы в полной мере удовлетворяли всем предъявляемым требованиям. В связи с этим разработку новых материалов для имплантатов, а также средств и методов, повышающих их эффективность, следует признать весьма актуальной [1]. При этом интерес представляют имплантаты как собственно

костного происхождения, подвергнутые необходимой предварительной обработке [2], так и имплантаты, сформированные на основе подходящих для этой цели биополимерных предшественников [3, 4].

Кости, имеющие мембранозное происхождение, такие как кости черепа, обеспечивают лучшее приживление в области дефектов челюстно-лицевой области [5]. Пористые ткани, такие как губчатая кость, можно использовать для более быстрого прорастания в них кровеносных сосудов и ускорения процессов оссификации [6]. Также интересны трансплантаты из декальцинированного костного матрикса, поскольку показано, что именно деминерализированная кость способствует процессам остеоиндукции [7, 8].

Ранее нами было проведено исследование влияния биорегулятора сыворотки крови в составе криогенно-структурированных губчатых носителей (так называемых *криогелей* и *криоструктуратов* [9]) на восстановление дефектов бедренной кости у крыс Wistar на разных сроках (7, 14, 30, 90 дней). При этом показано, что в процессе ранозаживления происходит эффективное восстановление плотной костной ткани начиная с ранних сроков, приводя к стимуляции

остеогенеза с полным восстановлением к поздним срокам и с формированием плотной костной ткани в области экспериментального дефекта [10, 11]. Наилучшие результаты в этих опытах были достигнуты при использовании альбуминовых криогелей [12] в качестве носителей сывороточного биорегулятора [11]. Также сообщалось о применении для лечения костных дефектов криогелей на основе и других белков [13]. Так, в случае криогеля, сформированного из коллагена, наполненного наночастицами гидроксиапатита, была показана безопасность, биоразлагаемость и вызываемая этим материалом остеоинтеграция при длительном периоде (15 недель) *in vivo* [14].

Учитывая положительные результаты указанных выше экспериментов о позитивном влиянии сывороточного биорегулятора, включенного в альбуминовый криогель, на регенеративный процесс в случае модели заживления дефекта бедренной кости крысы, мы планировали изучить восстановление костей нижней челюсти кролика, поскольку имеются значимые отличия трубчатых костей от кости челюсти. Кость челюсти имеет пластинчатое строение, в верхней челюсти много губчатой костной ткани и более тонкая кортикальная пластина плотной ткани, нижняя челюсть имеет более плотную кортикальную пластину [15]. Поэтому кости челюсти, так же как и кости черепа, хуже поддаются восстановлению после повреждения. Ожидалось, что использование адсорбированной на белковом носителе формы биорегулятора в качестве транспортного кондуктора приведет к ускорению процесса стимуляции остеогенеза как фактора, направленного на восстановление искусственно созданного дефекта костной ткани челюсти.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали криогенно-структурированные губчатые носители в виде цилиндрических образцов диаметром 5 мм и высотой также 5 мм, приготовленные из бычьего сывороточного альбумина согласно ранее опубликованной методике [12]. Далее полученные губчатые носители инкубировали в водном растворе биорегулятора, замораживали и высушивали лиофильно. Контрольные образцы – альбуминовые носители, не содержащие биорегулятор, также высушенные лиофильно.

Биорегулятор выделяли из сыворотки крови крупного рогатого скота (коммерческий препарат, используемый в виде питательной добавки к культуральным средам, БиоЛот), по методике, включающей высаливание белков серноокислым аммонием, диализ, концентрирование и далее изоэлектрофокусирование в градиенте плотности сахарозы при pH 3–10 [16]. Высокая степень очистки биорегулятора была показана электрофорезом в ПААГ и обращенно-фазовой ВЭЖХ. В данной работе использовали коммерче-

ский препарат марки «Виоргон 1», производитель ООО «ИПБ».

Эксперименты с лабораторными животными проводили на кроликах породы Шиншилла весом 2–2,5 кг, самцах. Под наркозом (внутримышечный наркоз Zoletil 100) разрезом до 3 см в области угла нижней челюсти скелетировали костную ткань и фрезой диаметром 5 мм создавали дефект глубиной 2–3 мм для установки альбуминовой губки соответствующего размера. В образовавшиеся дефекты помещали исследуемые материалы – 3D-носители, содержащие и не содержащие биорегулятор из сыворотки крови. После заполнения дефектов зашивали мягкие ткани и кожу. Животные содержались в стандартных условиях вивария. Ушивание раны производили послойно после обработки 3% раствором перекиси водорода. Рана послойно ушита узловыми швами с полным укрыванием имплантата. Гемостаз произведен по ходу операции. Кожная рана ушита узловыми швами полигликолид 4/0. Каждому кролику устанавливали по одному испытуемому образцу альбуминовой губки, либо не содержащей в своем составе биорегулятор из сыворотки крови, либо содержащей в своем составе биорегулятор сыворотки крови. В отрицательном контроле в область дефекта ничего не вставляли и ушивали рану. Были сформированы следующие группы по 6 кроликов в каждой:

1. Нативный контроль – кролики без дефекта.
2. Отрицательный контроль – в область дефекта не вставляли альбуминовые губки.
3. Контрольная группа – в область дефекта вставляли альбуминовые губки без сывороточного биорегулятора.
4. Опытная группа 1 – в область дефекта вставляли альбуминовые губки, содержащие сывороточный биорегулятор в конечной концентрации 10^{-10} мг/мл.

Всего в эксперименте присутствовало 24 животных.

Проводили рентгенологический контроль области дефекта на 14-е сутки прижизненно на аппарате PanExam+ (Kavo), 20 мРентген.

Мы оценивали состояние костной ткани на рентгенограммах по трехбалльной системе.

1 балл – полное отсутствие элементов остеоидной ткани; дефект костной ткани определяется рентгенологически как тень и зона дефекта, больше заполненные фиброзной соединительной тканью.

2 балла – зона дефекта на 30–40% заполнена островками остеоидной ткани и частично грубоволокнистой соединительной тканью, которая предположительно должна реструктуризоваться в молодую костную ткань с трабекулярным строением.

3 балла – в зоне дефекта плотность костной ткани практически выравнивалась с плотностью материнской ткани; на фоне активного роста нормально

структурированной костной ткани наблюдаются небольшие островки соединительной ткани, но в целом сложно определить зону дефекта.

Состояние дефектов кости изучали на 14-е сутки с помощью рентгена, поскольку именно на ранних сроках происходят основные процессы регенерации, которые в дальнейшем определяют качество сформированной в области дефекта костной ткани. На 30-й день после операции животных выводили из эксперимента, костный материал извлекали из области дефекта, фиксировали в формалине, декальцинировали, заключали в парафин для приготовления гистологических срезов толщиной 10 мкм. Окраску гистологических срезов производили гематоксилином-эозином и изучали их с помощью световой микроскопии.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как указано во введении данной статьи, основной задачей этого исследования являлась проверка возможности индукции остеогенеза, вызываемого действием сывороточного биорегулятора в зоне искусственного дефекта костной ткани нижней челюс-

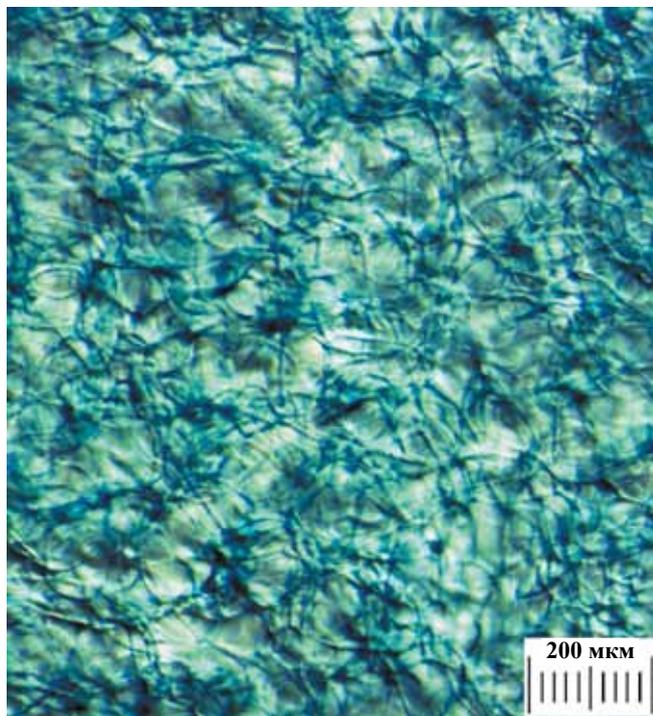


Рис. 1. Микроструктура альбуминового криогеля, контрастированного 0,125 мМ водным раствором метиленового синего (оптический стереомикроскоп SMZ1000 (Nikon, Япония), снабженный цифровой системой MMC-50C-M (MMCSoft, РФ) для записи изображений)

Fig. 1. Microstructure of serum-albumin-based cryogel contrasted with 0.125 mM aqueous methylene blue solution (optical stereomicroscope SMZ1000 (Nikon, Japan), equipped with digital system MMC-50C-M (MMCSoft, Russia) for image recording)

ти кролика, когда такой биорегулятор вводился туда адсорбированным на криогенно-структурированном губчатом криогеле, приготовленном из денатурированного сывороточного альбумина. Образование указанного макропористого носителя базируется на ранее обнаруженном эффекте протекания процессов сшивки дисульфидными мостиками полипептидных цепей сывороточного альбумина за счет реакций межмолекулярного тиол-дисульфидного обмена в результате введения денатуранта (в частности, мочевины или гуанидин гидрохлорида) и небольшого количества восстановителя (например, цистеина) в исходный раствор белка с последующим его замораживанием, выдерживанием в замороженном состоянии и дальнейшим оттаиванием [12, 17]. Эта последовательность операций приводит к формированию губчатого белкового криогеля (рис. 1), в случае необходимости конкретного применения, легко разрушаемого протеазами [18]. Именно такой альбуминовый носитель был использован в данной работе для введения адсорбированного им сывороточного биорегулятора в организм лабораторных животных.

На ранних сроках после нанесения дефекта (14 суток) исследовали *in vivo* состояние костной ткани с помощью рентгена.

В отрицательном контроле на нижней челюсти определяется зона дефекта без четких контуров, есть тенденция к заполнению сформированного дефекта. В центре определяются островки плотного вещества, скорее всего, зоны формирования костной массы (1,5–2 балла по вышеописанной шкале). В зоне дефекта по периферии по направлению центра дефекта от края костной ткани структурно появляются островки костного вещества, имеющие более дифференцированный характер. На рентгенограммах наблюдается располагающаяся недалеко от края дефекта рыхлая соединительная ткань, которая состоит из сплетенных пучков коллагеновых фибрилл (рис. 2).

В контроле с губкой дефекты заполнены соединительной тканью (грубоволокнистая коллагеновая ткань). В некоторых зонах ближе к краю материнской кости определяются островки напластывания нового костного вещества (1 балл по вышеописанной шкале) (рис. 3).

В опытной группе с включением в альбуминовую губку сывороточного биорегулятора в зоне дефекта определяется экзофитный рост новообразованной костной ткани, имеющий трабекулярное строение, перемежающийся с фиброзным матриксом. Очаги остеогенеза наблюдаются в виде отложения остеоида в соединительно-тканной прослойке (2,5–3 балла по вышеописанной шкале) (рис. 4).

При гистологическом описании состояния костной ткани в области дефекта на 30-е сутки после его

нанесения в различных группах получили следующую картину.

Контроль нативный. Плотная костная ткань, внутри полостей костных балок виден костный мозг

(в основном желтый – жировая ткань, но также представлен красный костный мозг). Хорошо выражены элементы зубов с дентином, эмалью и незрелыми мезенхимными клетками. Хорошо выражена плотная



Рис. 2. Рентгенограмма нижней челюсти кролика в области дефекта (указано стрелкой) на 14-е сутки в контрольной группе: а – малое увеличение; б – большое увеличение

Fig. 2. X-ray of the rabbit mandible in the defect area (indicated by arrow) on day 14 in the control group: a – low magnification; б – high magnification



Рис. 3. Рентгенограмма нижней челюсти кролика в области дефекта (указано стрелкой) на 14-е сутки в группе с альбуминовой губкой

Fig. 3. X-ray of the rabbit mandible in the defect area (indicated by arrow) on day 14 in the albumin sponge group



Рис. 4. Рентгенограмма нижней челюсти кролика в области дефекта (указано стрелкой) на 14-е сутки в группе с альбуминовой губкой, содержащей сывороточный био-регулятор

Fig. 4. X-ray of the rabbit mandible in the defect area (indicated by arrow) on day 14 in the group with albumin sponge, containing serum bioregulator

костная ткань, есть сосуды, которые просматриваются. Остеоны хорошо выражены, между остеócитами небольшие лакуны. Ядра остеócитов крупные, овальной формы. Представлена зрелая остеοидная кость, пластинчатого строения (рис. 5, а).

В группе отрицательного контроля (без заполнения области дефекта какими-либо материалами) не происходит полного заращения дефекта. Полость раны заполнена тканевым детритом, между ним идет формирование новой кости, не выражен костный мозг. Наблюдается незрелая остеοидная ткань, лакуны не выражены. Волокнистая костная ткань, сосуды плохо представлены (рис. 5, б).

В контрольной группе с заполнением дефекта альбуминовой губкой, не содержащей сывороточный биорегулятор, идет заращание раны без формирования костного мозга. Видно активное формирование костной ткани, остеοинтеграция альбуминовой губки в состав кости, образование в ней полостей и частичное заселение клетками. А также

на границе активная грануляция клеток с формированием незрелой остеοидной ткани (рис. 5, в).

В опытной группе с заполнением дефекта альбуминовой губкой, содержащей сывороточный биорегулятор, в области повреждения видны остатки разлагающейся альбуминовой губки, вновь образованная кость плотная, с маленькими лакунами. Внутри в полости кости виден костный мозг. Идет формирование плотной зрелой остеοидной ткани с формированием остеοнов и гаверсовых каналов и костного мозга. Идет восстановление костной альвеолярной ткани и восстановление пластинчатой плотной кости (рис. 5, г).

Любая соединительная ткань является предшественником костной ткани. Она необходима для роста интеграционных процессов и заполнения дефектов костной тканью. В группе отрицательного контроля с альбуминовой губкой без биорегулятора мы наблюдали начало процесса восстановления костной ткани с формированием незрелой кости, в отличие от груп-

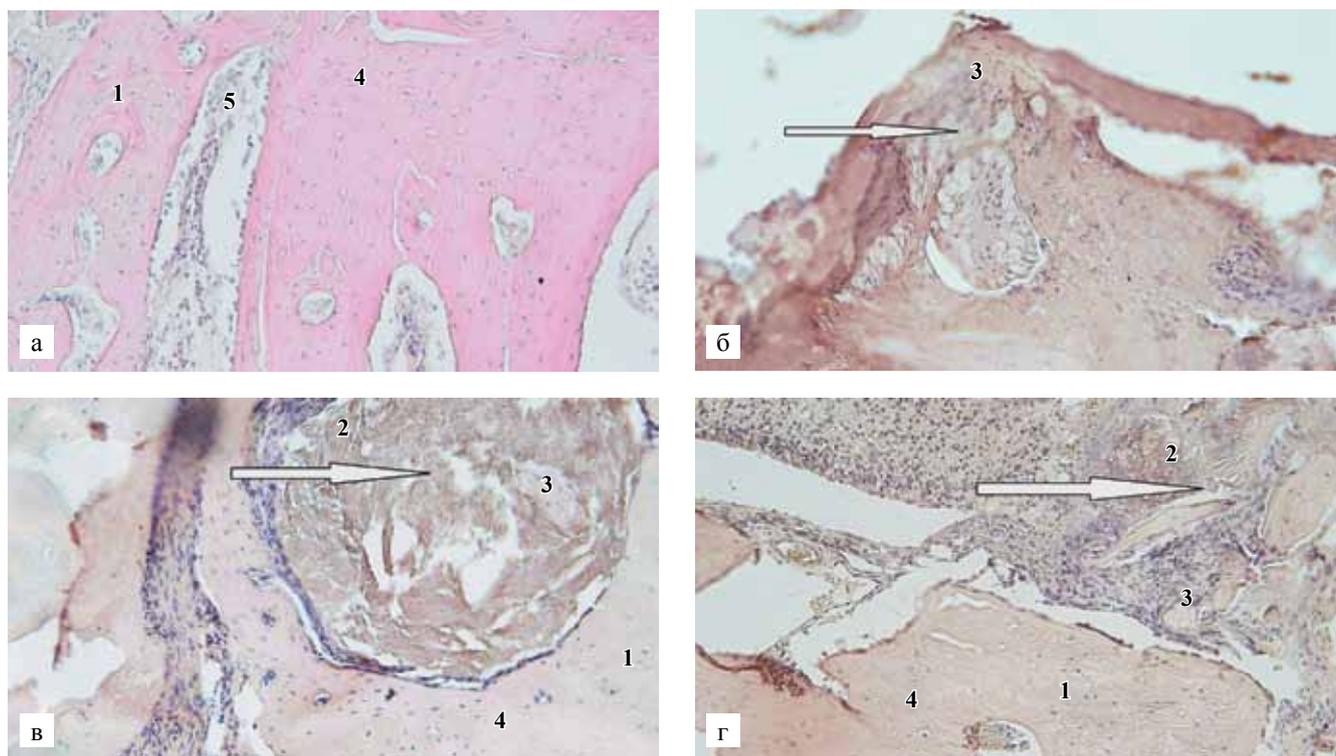


Рис. 5. Костная ткань нижней челюсти кролика: а – нативная; б – через 30 суток после нанесения дефекта (негативный контроль, без внесения в область дефекта каких-либо материалов); в – через 30 суток после нанесения дефекта (контроль, с внесением в область дефекта альбуминовой губки, не содержащей сывороточный биорегулятор); г – через 30 суток после нанесения дефекта (опытная группа, с внесением в область дефекта альбуминовой губки, содержащей сывороточный биорегулятор). 1 – остеоны; 2 – остатки альбуминовой губки; 3 – незрелая остеοидная ткань; 4 – плотная костная ткань; 5 – костный мозг. $\times 200$. Стрелкой указана область дефекта

Fig. 5. Bone tissue of rabbit mandible: а – native; б – 30 days after application of defect (negative control, without introduction of any materials into the defect area); в – 30 days after application of defect (control, with introduction of albumin sponge, containing no serum bioregulator, into the defect area); г – 30 days after application of the defect (experimental group, with introduction of albumin sponge, containing serum bioregulator, into the defect area). 1 – osteons; 2 – remains of albumin sponge; 3 – immature osteoid tissue; 4 – dense bone tissue; 5 – bone marrow. $\times 200$ magnification. The arrow indicates the defect area

пы, в которой в область дефекта была внесена альбуминовая губка с включенным в нее биорегулятором из сыворотки крови. Таким образом, альбуминовая губка является носителем, который необходим для заселения в нее вновь образующихся клеток в качестве остеокондуктора, а остеоиндуктором, ускоряющим процесс восстановления зрелой костной ткани, является сывороточный биорегулятор, включенный в нее.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В отрицательном контроле картина восстановления плотной костной ткани нижней челюсти кролика не выражена, в основном восстановленная ткань является грубоволокнистой. В контрольной группе с альбуминовой губкой видно неполное разложение данной губки и только начало остеointegrативных процессов. Полученные результаты свидетельствуют об активном восстановлении костной ткани в области обширного дефекта при использовании 3D-носителя на основе бычьего сывороточного альбумина (альбуминовой губки), с включением биорегулятора, выделенного из сыворотки крови. Видны процессы остеointegrативной и остеиндуктивной активности, практически полное разложение альбуминовой губки в области дефекта, с формированием на месте дефекта островков плотной костной ткани с небольшими очагами грубоволокнистой ткани, что говорит о хорошей динамике восстановительных процессов на данном сроке заживления дефекта. Это может свидетельствовать о том, что под действием сывороточного биорегулятора в составе альбуминовой губки процесс репарации приводит к восстановлению нормальной костной ткани без формирования костной мозоли и измененной костной ткани, отличной от нативной.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Гунько ВИ. Значение костно-реконструктивных операций при медицинской реабилитации с врожденными деформациями челюстей. *Актуальные вопросы стоматологии*. М., 2000: 117. Gunko VI. Znachenie kostno-rekonstruktivnyh operacij pri medicinskoj rehabilitacii s vrozhdennymi deformacijami chelyustey. *Aktualnye voprosy stomatologii*. М., 2000: 117.
2. Миньков СА, Шкитов ЮС, Сакович ГН, Казимирский ВА. Клинический опыт отсроченной имплантации нижней челюсти во время ее резекции. *Актуальные проблемы стоматологии*. М., 2000: 126. Min'kov SA, Shkitov YuS, Sakovich GN, Kazimirskiy VA. Klinicheskij opyt otsrochennoj implantacii nizhnej cheljusti vo vremya eyo rezekcii. *Aktualnye problemy stomatologii*. М., 2000: 126.
3. Baker EJ, Onissem-Karimu S, Rivera-Galletti A, Francis M, Wilkowski J, Salas-de-la-Cruz D, Hu X. Protein-polysaccharide composite materials: fabrication and applications. *Polymers*. 2020; 12 (2): 464. doi: 10.3390/polym12020464.
4. Mbundi L, Gonzalez-Perez M, Gonzalez-Perez F, Juanes-Gusano D, Rodriguez-Cabello JC. Trends in the development of tailored elastin-like recombinamer-based porous biomaterials for soft and hard tissue applications. *Frontiers in Materials*. 2021; 7 (1): 601795. doi: 10.3389/fmats.2020.601795.
5. Zins JE, Whitaker LA. Membranous versus endochondral bone: Implications for craniofacial surgery. *Plast reconstr Surg*. 1983; 72: 778.
6. Гаджиев АР. Ауто- и аллотрансплантация компактной и губчатой костной ткани при замещении дефекта нижней челюсти: Дис. ... канд. мед. наук. М., 1986. 214. Gadzhiev AP. Auto- i allotransplantaciya kompaktnoj i gubchatoj kostnoj tkani pri zameshhenii defekta nizhnej chelyusti [Dissertation]. М., 1986. 214.
7. Полежаев ЛВ. Регенерация путем индукции. *Журнал общей биологии*. 1966; 27 (2): 223–233. Polezhaev LV. Regeneraciya putyom indukcii. *Zhurnal obschey biologii*. 1966; 27 (2): 223–233.
8. Sampath TK, Reddi AH. Dissociative extraction and reconstitution matrix components involved in local bone differentiation. *Cell Biology*. 1981; 78 (12): 7599–7603.
9. Lozinsky VI. Cryostructuring of polymer systems. 50. Cryogels and cryotropic gel-formation: terms and definitions. *Gels*. 2018; 4 (3): 77. doi: 10.3390/gels4030077.
10. Краснов МС, Шайхалиев АИ, Коршаков ЕВ, Ефименко МВ, Солошенко ПП, Давыдова ТР и др. Индукция остеогенеза костной ткани крысы с использованием криогенно-структурированных пористых 3D-материалов с содержанием биорегулятора. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2019; 168 (7): 113–117. Krasnov MS, Shayhaliev AI, Korshakov EV, Efimenko MV, Soloshenkov PP, Davydova TR et al. Induction of osteogenesis of rat bone tissue using cryogenically structured porous 3D materials containing a bioregulator. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2019; 168 (7): 113–117. doi: 10.1007/s10517-019-04657-z.
11. Краснов МС, Шайхалиев АИ, Коршаков ЕВ, Гасбанов ГА, Корголов РС, Синицкая ЕС и др. Изменение состояния костной ткани крысы в зоне дефекта *in vivo* под действием криогенно-структурированной альбуминовой губки, содержащей биорегулятор. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2020; 170 (12): 800–804. Krasnov MS, Shaikhaliev AI, Korshakov EV, Gasbanov GA, Korgoloev RS, Sinitskaya ES et al. Changes in rat bone tissue at the site of the defect *in vivo* under the effect of a cryogenically structured albumin sponge containing a bioregulator. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2021; 170 (12): 805–808. doi: 10.1007/s10517-021-05160-0.
12. Rodionov IA, Grinberg NV, Burova TV, Grinberg VYa, Lozinsky VI. Cryostructuring of polymeric systems. 40.

- Proteinaceous wide-pore cryogels generated by the action of denaturant/reductant mixtures on bovine serum albumin in moderately-frozen aqueous media. *Soft Matter*. 2015; 11 (24): 4921–4931. doi: 10.1039/c4sm02814g.
13. He Y, Wang C, Xiao Y, Lin W. An overview on collagen and gelatin-based cryogels: fabrication, classification, properties and biomedical applications. *Polymers*. 2021; 13 (14): 2299. doi: 10.3390/polym13142299.
 14. Vilela MJC, Colaço BJA, Ventura J, Monteiro FJM, Salgado CL. Translational research for orthopedic bone graft development. *Materials*. 2021; 14: 4130. doi: 10.3390/ma14154130.
 15. Павлова ИА, Виноградова АВ, Сергеева НД, Спасич ТА. Анатомия, физиология челюстно-лицевой области в возрастном аспекте: методическое пособие. Иркутск: Н ЦРВХ СО РАМН, 2014. 59. Pavlova IA, Vinogradova AV, Sergeeva ND, Spasich TA. Anatomiya, fiziologiya chelyustno-licevoj oblasti v vozrastnom aspekte: metodicheskoe posobie. Irkutsk: N CRVH SO RAMN, 2014. 59.
 16. Ямскова ВП, Краснов МС, Ямсков ИА. Новые экспериментальные и теоретические аспекты в биорегуляции. Механизм действия мембранотропных гомеостатических тканеспецифических биорегуляторов. Saarbrücken: Lambert Academic Publishing, 2012. 136. Yamskova VP, Krasnov MS, Yamskov IA. Mehanizm deystviya membranotropnyh gomeostaticeskikh tkane-specificeskikh bioregulyatorov. Saarbrücken: Lambert Academic Publishing, 2012. 136.
 17. Лозинский ВИ, Константинова НР, Соловьева НИ. Способ получения пористого белкового геля. Патент РФ № 2058083. (1994). Lozinsky VI, Konstantinova NR, Solov'eva NI. Method for the preparation of porous protein gel. Russ. Pat. No. 2,058,083 (1994).
 18. Lozinsky VI, Shchekoltsova AO, Sinitzkaya ES, Vernaya OI, Nuzhdina AV, Bakeeva IV et al. Influence of succinylation of a wide-pore albumin cryogels on their properties, structure, biodegradability, and release dynamics of dioxidine loaded in such spongy carriers. *Int J Biol Macromol*. 2020; 160 (1): 583–592. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.05.251.

Статья поступила в редакцию 1.11.2021 г.
The article was submitted to the journal on 1.11.2021

DOI: 10.15825/1995-1191-2022-1-64-71

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНОГО РЕЖИМА ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗАЦИИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С УЧЕТОМ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ПАНКРЕАТИЧЕСКОЙ ТКАНИ

*А.С. Пономарева, Н.В. Баранова, Л.А. Кирсанова, Г.Н. Бубенцова, Е.А. Немец,
И.А. Милосердов, В.И. Севастьянов*

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

Введение. Разработка тканеинженерной конструкции поджелудочной железы (ТИК ПЖ) включает поиск матриц/скаффолдов, способных имитировать структуру и состав естественного внеклеточного матрикса (ВКМ), являющегося важным компонентом тканевого микроокружения. Тканеспецифический матрикс, свободный от клеток, полученный в результате децеллюляризации поджелудочной железы (ПЖ), представляется наиболее подходящим для создания ТИК ПЖ. Выбор протокола децеллюляризации панкреатической ткани должен учитывать морфологические характеристики исходной ПЖ. Сохранение в децеллюляризованном панкреатическом матриксе (ДПЖ) особенностей архитектоники и состава нативной ткани, а также присутствие нативных компонентов ВКМ позволяет создать условия для пролонгированной жизнедеятельности функционально активных островковых (инсулинпродуцирующих) клеток при создании ТИК ПЖ. **Цель работы:** определить оптимальные параметры децеллюляризации ПЖ посмертных доноров с фиброзом, липоматозом и без выраженных признаков фиброза и липоматоза. **Материалы и методы.** Использовали хвостовую часть ПЖ, полученную в результате мультиорганный забор органов посмертных доноров и не пригодную для трансплантации. Тканеспецифический матрикс получали в результате комбинации физико-химических методов децеллюляризации фрагментов ПЖ. Применяли протокол с циклическим повторением режима замораживания и оттаивания и два протокола с применением осмотического шока. Образцы исходной ткани ПЖ и децеллюляризованных фрагментов подвергали гистологическому анализу. **Результаты.** Показано, что для эффективной децеллюляризации ПЖ с выраженным липоматозом подходит физико-химический метод с циклическим повторением режима замораживания и оттаивания; для ПЖ с диффузным фиброзом и для ПЖ без выраженных признаков фиброза и липоматоза – физико-химический метод с применением осмотического шока, но различные варианты протокола. **Заключение.** Для осуществления полной децеллюляризации фрагментов ПЖ человека протокол способа обработки необходимо коррелировать с гистологическими особенностями исходной ткани.

Ключевые слова: поджелудочная железа, липоматоз, фиброз, децеллюляризация, тканеспецифический матрикс.

Для корреспонденции: Пономарева Анна Сергеевна. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1.
Тел.: (499) 196-26-61; (926) 585-23-73. E-mail: a.s.ponomareva@gmail.com

Corresponding author: Anna Ponomareva. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation.
Phone: (499) 196-26-61; (926) 585-23-73. E-mail: a.s.ponomareva@gmail.com

DETERMINING THE OPTIMAL PANCREATIC DECELLULARIZATION PROTOCOL, TAKING INTO ACCOUNT TISSUE MORPHOLOGICAL FEATURES

A.S. Ponomareva, N.V. Baranova, L.A. Kirsanova, G.N. Bubentsova, E.A. Nemets, I.A. Miloserdov, V.I. Sevastianov

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

Introduction. Developing a tissue-engineered pancreatic construct (TEPC) involves a search for matrices/scaffolds capable of mimicking the structure and composition of the natural extracellular matrix (ECM), which is an important component of the tissue microenvironment. A cell-free, tissue-specific matrix obtained from pancreas decellularization seems to be the most suitable for creation of a TEPC. The choice of pancreatic tissue decellularization protocol should take into account the morphological characteristics of the original pancreas. Preservation of the architectonics and composition of the native tissue in the decellularized pancreas matrix (DPM), and the presence of native ECM components allow for creation of conditions for prolonged vital activity of functionally active islet (insulin-producing) cells when creating TEPC. **Objective:** to determine the optimal parameters for decellularization of deceased donor pancreas with fibrosis, lipomatosis, and without pronounced signs of fibrosis and lipomatosis. **Materials and methods.** We used the caudal part of the pancreas obtained after multiorgan procurement from deceased donors, which was unsuitable for transplantation. Tissue-specific matrix was obtained by a combination of physical and chemical methods of pancreatic decellularization. A freeze-thaw cycle protocol and two protocols using osmotic shock were used. Samples of initial pancreatic tissue and decellularized fragments were subjected to histological analysis. **Results.** It was shown that a physico-chemical method with freeze-thaw cycles is suitable for effective pancreatic decellularization in severe lipomatosis; a physico-chemical method using osmotic shock, but different protocol variants, is suitable for pancreas with diffuse fibrosis and for pancreas without pronounced signs of fibrosis and lipomatosis. **Conclusion.** For complete human pancreatic decellularization, the protocol should be correlated with histological features of the original tissue.

Keywords: pancreas, lipomatosis, fibrosis, decellularization, tissue-specific scaffold.

ВВЕДЕНИЕ

Разработка тканеинженерных конструкций (ТИК) тканей и органов, в том числе поджелудочной железы (ПЖ), включает поиск матриксов (скаффолдов, каркасов), способных имитировать структуру и состав естественного внеклеточного матрикса (ВКМ). ВКМ, секретируемый клетками, представляет собой сеть макромолекул, включая полисахаридные гликозаминогликаны (ГАГ) и белки (коллагены, ламинины, фибронектин), и является важным компонентом тканевого микроокружения [1]. ВКМ выполняет в ткани множество функций: обеспечение структурной целостности, механических свойств и организации ткани, клеточно-матриксных и сигнальных взаимодействий, таких как наличие сайтов прикрепления клеток, регуляция клеточной адгезии, пролиферации, миграции, дифференцировки и апоптоза [2]. Тканеспецифический матрикс, в котором сохраняются особенности архитектоники и состава нативной ткани, представляется наиболее подходящим для создания ТИК ПЖ [3–5].

Одним из перспективных методов получения тканеспецифических матриксов является децеллюляризация тканей и органов. Эффективный процесс децеллюляризации обеспечивает удаление клеточного

материала, включая ДНК, и клеточных поверхностных антигенов из нативной ткани, при максимально возможном сохранении структурных, биохимических и биомеханических свойств нативного ВКМ с помощью различных методов обработки ткани [1].

Большинство протоколов описывают комбинированное и последовательное применение различных физических, химических и ферментативных методов для достижения эффективной децеллюляризации. Децеллюляризация большого фрагмента ткани – достаточно длительный процесс из-за необходимости проникновения всех реагентов в клетки-мишени [4, 6]. При этом физическое воздействие может нарушить структуру матрикса, в то время как химические и ферментативные методы могут вызывать реакции, которые приведут к повреждению компонентов ВКМ и даже изменят его химический состав [1]. Протоколы децеллюляризации должны также учитывать характеристики исходной ткани, такие как плотность и толщина, наличие липидов. Идентичная ткань может иметь разные характеристики структуры и состава в зависимости от особенностей донора. По этим причинам оптимизация протокола децеллюляризации имеет первостепенное значение в каждом конкретном случае.

Среди физических методов децеллюляризации распространение получили циклическое повторение замораживания и оттаивания, метод осмотического шока, механическое перемешивание, перфузия, ультразвуковое воздействие и другие. При замораживании ткани образуются внутриклеточные кристаллы льда, в результате этого происходит разрушение клеточных мембран и лизис клеток. Однако при этом могут разрушаться и белковые структуры ВКМ, поэтому необходимо следить за скоростью изменения температуры, чтобы контролировать размер образующихся кристаллов льда [7]. Гипотонические и гипертонические растворы (метод осмотического шока) [1] способствуют лизису клеток, но не удаляют клеточные фрагменты из матрикса. Более того, удаление остатков ДНК имеет первостепенное значение во всех протоколах децеллюляризации из-за тенденции ядерного материала прикрепляться к белкам ВКМ. Удалению клеточного детрита способствует процесс механического перемешивания, осуществляемый с помощью магнитной мешалки, орбитального шейкера или роллерной системы [5, 8].

Только физических методов недостаточно для полной децеллюляризации ткани, но они эффективны в сочетании с химическими и ферментативными процессами. Химическими веществами (детергентами) для растворения клеточных мембран и диссоциации детрита в процессе децеллюляризации являются поверхностно-активные вещества. Детергент Triton X100, нацеленный на липид-липидные и липид-белковые взаимодействия, часто применяют для обработки тканей с большим содержанием белка в составе ВКМ, при этом его с осторожностью применяют для обработки тканей с высоким содержанием ГАГ [9]. Додецилсульфат натрия (SDS) используют для эффективного удаления ядерных и цитоплазматические фрагменты. SDS растворяет как клеточную, так и ядерную мембрану, но имеет тенденцию денатурировать белки и может изменять естественную структуру матрикса [1]. По этой причине наиболее распространенной является кратковременная обработка SDS для минимизации возможных поврежденных белков и общей структуры матрикса.

При создании ТИК ПЖ присутствие в децеллюляризованном матриксе из поджелудочной железы (ДПЖ) нативных компонентов ВКМ позволяет создать условия для пролонгированной жизнедеятельности функционально активных островковых (инсулинпродуцирующих) клеток [3–6, 10]. Максимально полное удаление клеточного материала из ДПЖ приводит к минимизации иммунного ответа при дальнейшей имплантации ТИК ПЖ [6]. Показано, что панкреатические островки, культивированные в присутствии ДПЖ, увеличивали секрецию инсулина по сравнению с изолированными островками в монокультуре [11].

Целью нашего исследования было определить оптимальные параметры децеллюляризации ПЖ посмертных доноров с фиброзом, липоматозом и без выраженных признаков фиброза и липоматоза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исходный материал

Значительное количество ПЖ от посмертных доноров не может быть использовано для трансплантации, поскольку органная пересадка требует применения жестких критериев в отборе донорской ПЖ [12]. В результате исполнения строгих требований к качеству донорской ПЖ [13] многие органы отклоняются на основании истории болезни, фиброза, липоматоза, антропометрических характеристик и других параметров, даже если ПЖ здорова и функционирует. Такие органы могут быть переработаны для создания биоматериалов, в том числе подвергнуты процессу децеллюляризации, и могут использоваться для тканевой инженерии, а не утилизироваться.

Для исследования использовали хвостовую часть ПЖ, полученную в результате мультиорганного забора органов посмертных доноров ($n = 10$, возраст доноров 34–63 года) и не пригодную для трансплантации. Панкреатическую ткань хранили при $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ до проведения децеллюляризации.

Децеллюляризация фрагментов ПЖ с применением циклического повторения замораживания и оттаивания

Ранее нами был предложен протокол децеллюляризации фрагментов донорской ПЖ с липоматозом, позволяющий получить тканеспецифический матрикс/каркас, свободный от клеток и клеточных фрагментов, с низким содержанием ДНК и сохранением морфофункциональных свойств ВКМ ПЖ [14]. Панкреатическую ткань подвергали трем циклам замораживания до $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ и оттаивания до $+37\text{ }^{\circ}\text{C}$ с последующим механическим измельчением ткани ($2 \times 1 \times 1\text{ мм}$) и обработкой при комнатной температуре в условиях постоянного перемешивания в ротационной системе CellRoll (INTEGRA Biosciences AG, Швейцария) в трех сменах буферного раствора ($\text{pH} = 7,4$), содержащего растворы 0,1% SDS и повышающую концентрацию Triton X100 (1, 2 и 3% соответственно) (Sigma, США). Затем фрагменты децеллюляризованной ПЖ тщательно отмывали от остатков поверхностно-активных агентов в течение 72 часов в фосфатном буферном растворе с добавлением антибиотика/антимикотика.

В представленной работе мы использовали данный протокол при децеллюляризации панкреатической ткани без признаков фиброза и липоматоза.

Децеллюляризация фрагментов ПЖ с применением осмотического шока (два варианта протокола)

Ориентируясь на известные способы децеллюляризации различных паренхиматозных органов [1, 3–6, 15], для ПЖ с фиброзом, а также для ПЖ без признаков фиброза и липоматоза использовали физи-

ко-химической метод с применением осмотического шока (воздействие ионной силы) в двух вариантах исполнения.

Механически измельченную (до размеров не более $2 \times 1 \times 1$ мм) панкреатическую ткань обрабатывали детергентами при комнатной температуре в условиях непрерывного перемешивания в ротационной системе CellRoll (INTEGRA Biosciences AG, Швейцария). В первом варианте использовали 0,1% раствор SDS и фосфатно-солевой буфер низкой и высокой ионной силы (I вариант), во втором варианте – 0,1% раствор SDS и фосфатно-солевой буфер высокой и низкой ионной силы (II вариант). Затем в обоих вариантах следовала тщательная отмывка остатков детергентов из децеллюляризованных фрагментов панкреатической ткани – матрикса (ДПЖ) в трех сменах фосфатного буфера, содержащего антибиотик и антимикотик.

Гистологическое исследование

Образцы исходной ткани ПЖ и децеллюляризованных фрагментов подвергали гистологическому

анализу. Материал фиксировали в 10% забуференном формалине, обезжовивали в спиртах восходящей концентрации, выдерживали в смеси хлороформа и этанола, хлороформе и заливали в парафин. Срезы толщиной 4–5 мкм получали с помощью микротомы RM2245 (Leica, Германия) и в дальнейшем окрашивали гематоксилином и эозином, на общий коллаген (метод Массона), ядра клеток визуализировали флуоресцентным окрашиванием DAPI (Sigma, США). Полученные гистологические препараты анализировали с помощью микроскопа Nikon Eclipse 50i (Nikon, Япония), оснащенного цифровой фотокамерой.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Гистологический анализ исходной ПЖ

В результате морфологического исследования исходного материала было выявлено три типа образцов панкреатической ткани: ПЖ с выраженными признаками липоматоза (рис. 1, а–в), ПЖ с диффуз-

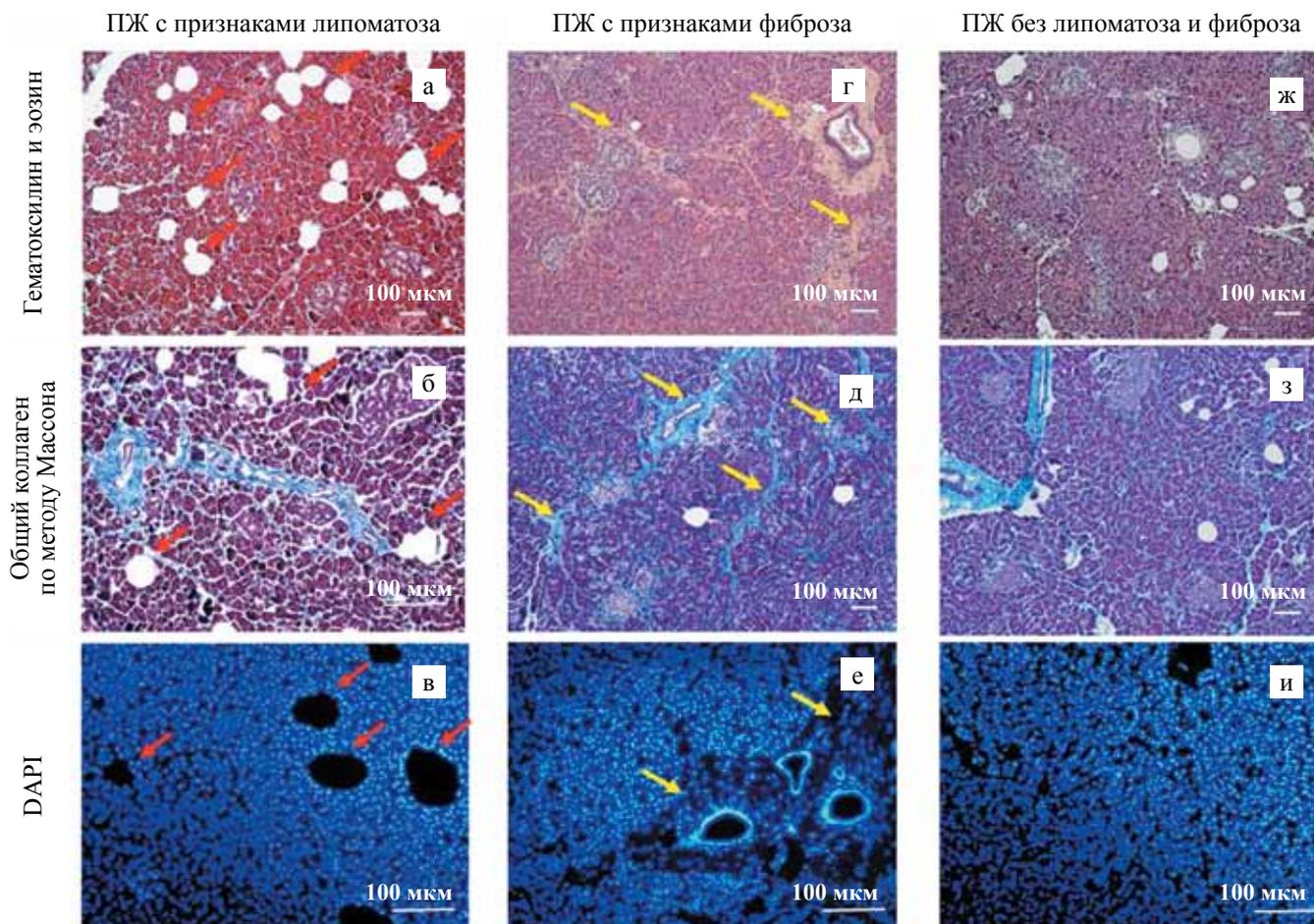


Рис. 1. Гистологическая картина поджелудочной железы посмертного донора: а, г, ж – окрашивание гематоксилином и эозином; б, д, з – окрашивание на общий коллаген по методу Массона; в, е, и – флуоресцентное окрашивание клеточных ядер DAPI. Красными стрелками отмечены жировые включения, желтыми стрелками отмечены фиброзные тяжи

Fig. 1. Histological picture of deceased donor pancreas: а, г, ж – H&E staining; б, д, з – Masson's trichrome staining; в, е, и – DAPI staining. Red arrows indicate lipomatosis features, yellow arrows indicate fibrous cords

ным фиброзом (рис. 1, г–е) и ПЖ без выраженных морфологических признаков патологии (рис. 1, ж–и). Несмотря на выявленные различия, во всех образцах обнаруживались сохранившиеся ОЛ, которые, как правило, имели округлую (реже – вытянутую) форму и компактное, иногда дольчатое, строение. Компактное строение было характерно для островков меньших размеров, в то время как в некоторых более крупных островках определялась дольчатость. Специфическое окрашивание DAPI подтверждало наличие клеточных ядер, как в ОЛ, так и в окружающей ацинарной ткани.

Гистологический анализ ПЖ, децеллюляризованной с применением циклического повторения замораживания и оттаивания

В образцах фрагментов ПЖ с липоматозом после трех последовательных циклов замораживания–оттаивания и обработки детергентами наблюдали полное отсутствие сохранившихся клеток, отдельных клеточных ядер, а также мелких фрагментов клеточного детрита в полученном соединительно-тканном каркасе (рис. 2, б). Морфологическая картина свидетельствовала о получении очищенного тонковолокнистого матрикса (рис. 2, а).

После проведения полного протокола децеллюляризации ПЖ с диффузным фиброзом гистологическая картина в целом отличалась от таковой, полученной при обработке железы с липоматозом. Наряду с отдельными, хорошо очищенными ажурными тонковолокнистыми фрагментами в образцах обнаруживались плотные участки (рис. 2, в), в которых сохранялось значительное количество клеток и ядер, выявленных флуоресцентным окрашиванием DAPI (рис. 2, г), что позволяло сделать вывод о неполной децеллюляризации ткани, в то время как при аналогичной обработке ПЖ с липоматозом удавалось получить полностью очищенный матрикс.

После децеллюляризации панкреатической ткани без выраженных признаков фиброза и липоматоза в полученных образцах наблюдали сохранность тонких коллагеновых волокон стромы и отсутствие сохранившихся клеток и клеточных ядер (рис. 2, д). Однако в толще образца обнаруживались многочисленные мелкие зерна клеточного детрита (рис. 2, е), что указывает на неэффективность проведенной процедуры децеллюляризации.

Таким образом, проведенные исследования показали, что предложенный протокол подходит исключительно для ПЖ с липоматозом, что, видимо, связано с морфологическими особенностями ткани.

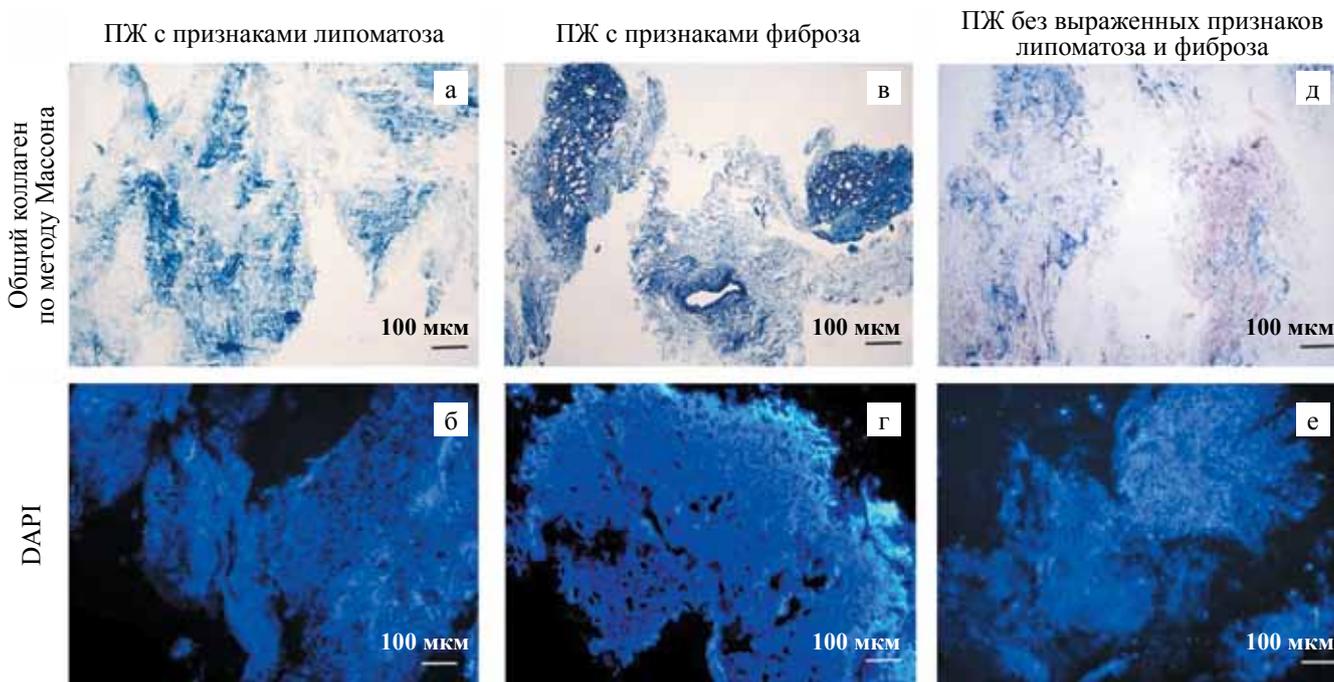


Рис. 2. Гистологическая картина поджелудочной железы, децеллюляризованной с применением циклического повторения режима замораживания и оттаивания: а, в, д – окрашивание на общий коллаген по методу Массона; б, г, е – флуоресцентное окрашивание клеточных ядер DAPI

Fig. 2. Histological picture of pancreas, decellularized using freeze-thaw cycles: а, в, д – Masson’s trichrome staining; б, г, е – DAPI staining

Гистологический анализ ПЖ, децеллюляризованной с применением осмотического шока (I и II вариант протокола)

Для определения оптимальных условий эффективной децеллюляризации панкреатической ткани с диффузным фиброзом и без выраженных признаков фиброза и липоматоза был опробован физико-химический метод децеллюляризации ПЖ с применением осмотического шока – I вариант протокола.

Децеллюляризация фиброзированной панкреатической ткани методом осмотического шока (I вариант протокола) приводила к получению образцов, в которых основная часть выглядела плотной, непористой за счет спавшегося (схлопнувшегося) каркаса. При этом в препаратах, окрашенных по методу Массона, обнаруживались грубые, плотно упакованные

коллагеновые тяжи (рис. 3, а). Наличие клеточного детрита (преимущественно в периферической зоне), включая ядерный материал, подтверждалось флуоресцентным окрашиванием DAPI (рис. 3, б). На основании данных результатов можно сделать вывод о том, что предложенный протокол децеллюляризации не позволяет получить очищенный, пористый соединительно-тканый каркас и в дальнейшем не может быть рекомендован для децеллюляризации ПЖ с диффузным фиброзом.

Образцы децеллюляризованного матрикса из ПЖ без выраженных признаков фиброза и липоматоза, полученные в результате применения метода осмотического шока (I вариант протокола), демонстрировали полное отсутствие сохранившихся клеток и клеточных ядер (подтверждалось окрашиванием DAPI) (рис. 3, г) и хорошо выраженную мелкоячеистую тонковолокнистую структуру каркаса ткани

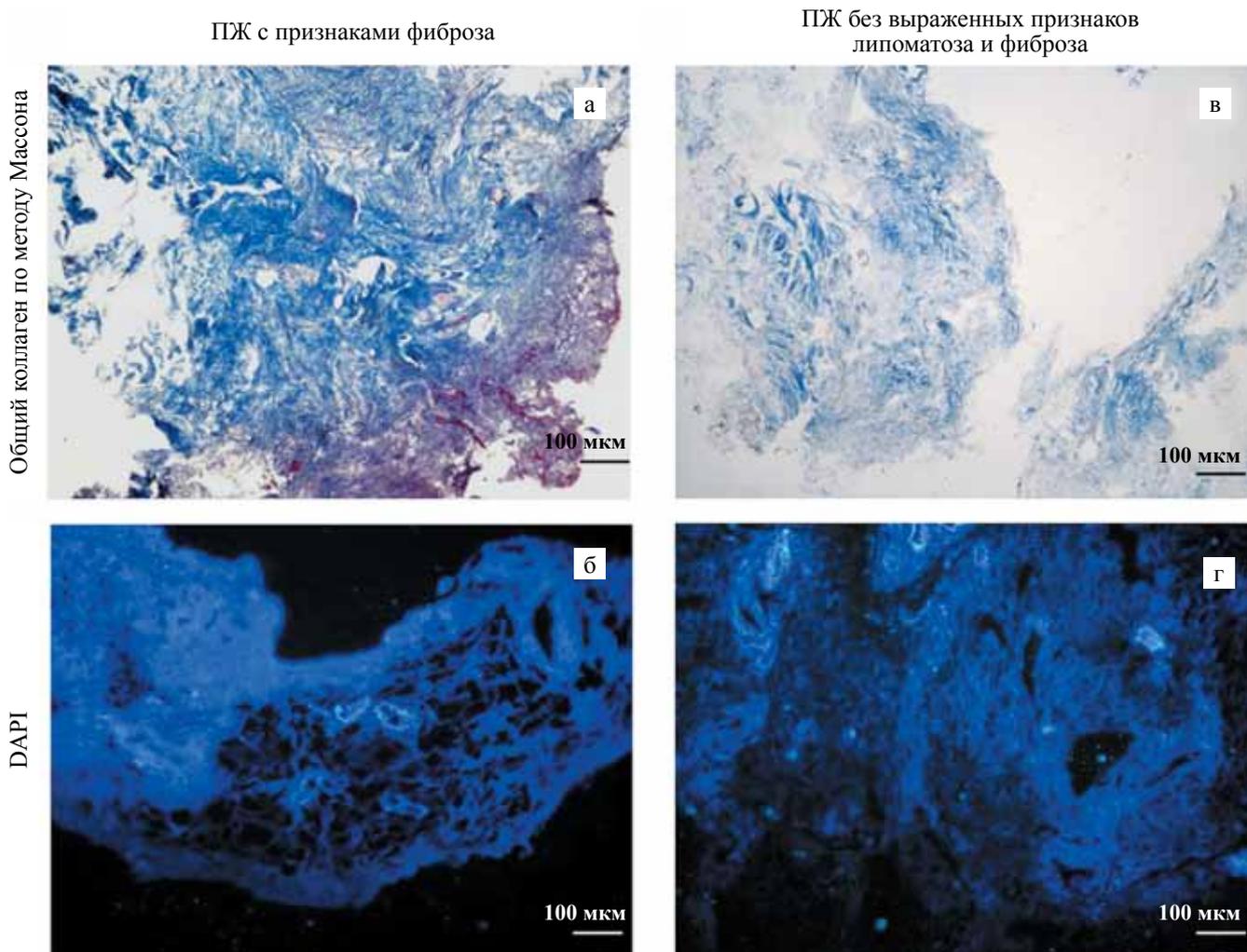


Рис. 3. Гистологическая картина поджелудочной железы, децеллюляризованной с применением осмотического шока (I вариант протокола): а, в – окрашивание на общий коллаген по методу Массона; б, г – флуоресцентное окрашивание DAPI

Fig. 3. Histological picture of the pancreas, decellularized using osmotic shock (protocol option I): а, в – Masson's trichrome staining; б, г – DAPI staining

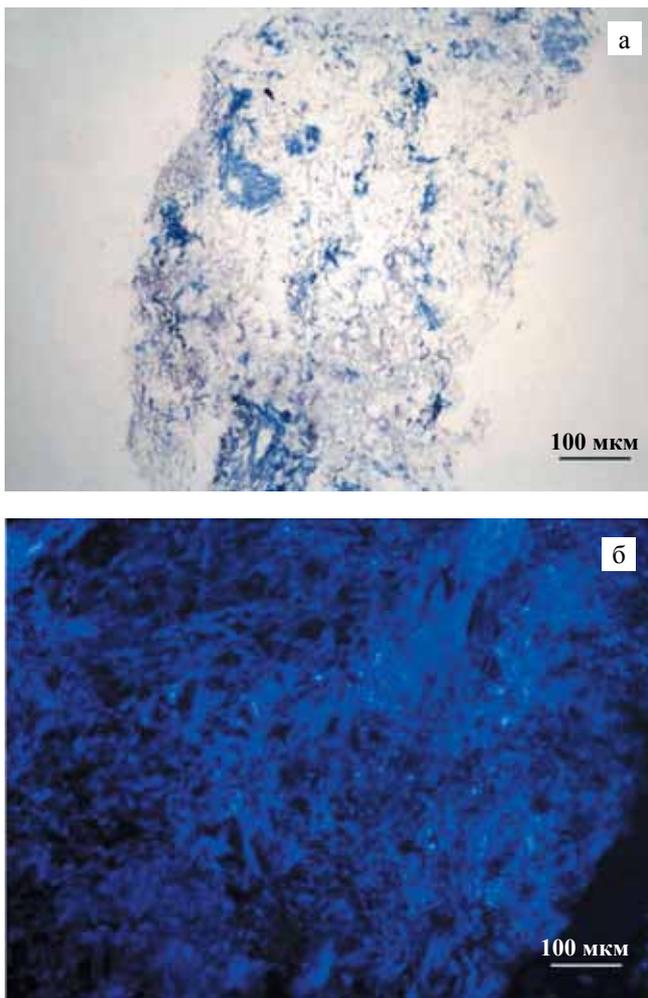


Рис. 4. Гистологическая картина поджелудочной железы с диффузным фиброзом, децеллюляризованной с применением осмотического шока (II вариант протокола): а – окрашивание по методу Массона; б – флуоресцентное окрашивание DAPI

Fig. 4. Histological picture of the pancreas with diffuse fibrosis, decellularized using osmotic shock (protocol option II): а – Masson's trichrome staining; б – DAPI staining

с синими коллагеновыми волокнами (рис. 3, в). Таким образом, предложенный протокол оказался эффективным для получения матрикса в результате децеллюляризации ПЖ без выраженных признаков фиброза и липоматоза.

Проведение децеллюляризации ПЖ с диффузным фиброзом с использованием метода осмотического шока по II варианту протокола оказалось успешным. В отличие от образцов, полученных с использованием I варианта протокола, полученный матрикс характеризовался пористой, мелкоячеистой, тонковолокнистой структурой с сохранением коллагеновых волокон (рис. 4, а). При этом сохранившиеся клетки, клеточные ядра, фрагменты клеточного детрита в образцах при окрашивании DAPI не визуализировались (рис. 4, б). Применение данного протокола

децеллюляризации ПЖ с диффузным фиброзом позволяет получить тканеспецифический матрикс/каркас, свободный от клеток и клеточных фрагментов.

Таким образом, гистологический анализ ПЖ смертных доноров выявил морфологические особенности образцов, связанные с наличием признаков липоматоза и диффузного фиброза, что требует необходимости применения различных режимов обработки для проведения эффективной децеллюляризации. Изучение физико-механических свойств панкреатической ткани, таких как плотность, жесткость, эластичность, также является важным аспектом оптимизации протокола децеллюляризации [5]. Можно предположить, что физико-механические свойства в определенной степени будут коррелировать с гистологическими особенностями ПЖ. Подтверждение этой гипотезы нуждается в дальнейшем исследовании.

В опубликованной отечественной и зарубежной научной литературе информации о влиянии морфологических особенностей ПЖ человека на выбор протокола децеллюляризации нами не найдено.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании полученных данных можно констатировать, что для осуществления полной децеллюляризации фрагментов ПЖ человека протокол способа обработки необходимо коррелировать с гистологическими особенностями исходной ткани. Показано, что для ПЖ с выраженным липоматозом для эффективной децеллюляризации подходит физико-химический метод с циклическим повторением режима замораживания и оттаивания; для ПЖ с диффузным фиброзом и для ПЖ без выраженных признаков фиброза и липоматоза – физико-химический метод с применением осмотического шока, но различные варианты протокола.

Авторы заявляют об отсутствии

конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Mendibil U, Ruiz-Hernandez R, Retegi-Carrion S, Garcia-Urquia N, Olalde-Graells B, Abarrategi A. Tissue-Specific Decellularization Methods: Rationale and Strategies to Achieve Regenerative Compounds. *Int J Mol Sci.* 2020; 21, 5447. doi: 10.3390/ijms21155447.
2. Stendahl JC, Kaufman DB, Stupp SI. Extracellular Matrix in Pancreatic Islets: Relevance to Scaffold Design and Transplantation. *Cell Transplant.* 2009; 18 (1): 1–12. doi: 10.3727/096368909788237195.
3. Damodaran G, Vermette P. Decellularized pancreas as a native extracellular matrix scaffold for pancreatic islet seeding and culture. *J Tissue Eng Regen Med.* 2018; 12 (5): 1230–1237. doi: 10.1002/term.2655.

4. Goh SK, Bertera S, Olsen P, Olsen P, Candiello JE, Halfier W et al. Perfusion-decellularized pancreas as a natural 3D scaffold for pancreatic tissue and whole organ engineering. *Biomaterials*. 2013; 34 (28): 6760–6772. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.05.066.
5. Sackett SD, Tremmel DM, Ma F, Feeney AK, Maguire RM, Brown ME et al. Extracellular matrix scaffold and hydrogel derived from decellularized and delipidized human pancreas. *Scientific Reports*. 2018; 8: 10452. doi: 10.1038/s41598-018-28857-1.
6. Crapo PM, Gilbert TW, Badylak SF. An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomaterials*. 2012; 32: 3233–3243. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.01.057.
7. Rabbani M, Zakian N, Alimoradi N. Contribution of Physical Methods in Decellularization of Animal Tissues. *Journal of Medical Signals & Sensors*. 2021; 11 (1): 1. doi: 10.4103/jmss.JMSS_2_20.
8. Starnecker F, König F, Hagl C, Thierfelder N. Tissue-engineering acellular scaffolds-The significant influence of physical and procedural decellularization factors. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2018; 106 (1): 153–162. doi: 10.1002/jbm.b.33816.
9. Klak M, Łojczyk I, Berman A, Tymicki G, Adamiok-Ostrowska A, Sierakowski M et al. Impact of Porcine Pancreas Decellularization Conditions on the Quality of Obtained dECM. *Int J Mol Sci*. 2021; 22, 7005. doi: 10.3390/ijms22137005.
10. Salg GA, Giese NA, Schenk M, Hüttner FJ, Felix K, Probst P et al. The emerging field of pancreatic tissue engineering: A systematic review and evidence map of scaffold materials and scaffolding techniques for insulin-secreting cells. *Journal of Tissue Engineering*. 2019; 10: 1–25. doi: 10.1177/2041731419884708.
11. Баранова НВ, Кирсанова ЛА, Пономарева АС, Немец ЕА, Басок ЮБ, Бубенцова ГН и др. Сравнительный анализ секреторной способности островков Лангерганса, культивированных с биополимерным микрогетерогенным коллагенсодержащим гидрогелем и тканеспецифическим матриксом. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2019; 4: 45–53. Baranova NV, Kirsanova LA, Ponomareva AS, Nemets EA, Basok YuB, Bubentsova GN i dr. Sravnitel'nyy analiz sekretornoj sposobnosti ostrovkov Langergansa, kul'tivirovannykh s biopolimernym mikroheterogennym kollagensoderzhashchim gidrogelem i tkanespetsificheskim matriksom. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2019; 4: 45–53. doi: 10.15825/1995-1191-2019-4-45-53.
12. Venturini M, Angeli E, Maffi P, Fiorina P, Bertuzzi F, Salvioni M et al. Technique, complications, and therapeutic efficacy of percutaneous transplantation of human pancreatic islet cells in type 1 diabetes: the role of US. *Radiology*. 2005; 234: 617–624. doi: 10.1148/radiol.2342031356.
13. Matsumoto S, Gala-Lopez B, Pepper AR. Islet cell transplantation for type 1 diabetes. *J Diabetes*. 2010; 2 (1): 16–22. doi: 10.2147/DMSO.S50789.
14. Ponomareva AS, Kirsanova LA, Baranova NV, Surguchenko VA, Bubentsova GN, Basok YB et al. Decellularization of donor pancreatic fragment to obtain a tissue-specific matrix scaffold. *Russian Journal of Transplantation and Artificial Organs*. 2020; 22 (1): 123–133. doi: 10.15825/1995-1191-2020-1-123-133.
15. Porzionato A, Stocco E, Barbon S, Grandi F, Macchi V, De Caro R. Tissue-Engineered Grafts from Human Decellularized Extracellular Matrices: A Systematic Review and Future Perspectives. *Int J Mol Sci*. 2018; 19, 4117. doi: 10.3390/ijms19124117.

Статья поступила в редакцию 12.11.2021 г.
The article was submitted to the journal on 12.11.2021

DOI: 10.15825/1995-1191-2022-1-72-88

ПРОГРАММИРУЕМАЯ ГИБЕЛЬ КЛЕТОК И ЗАБОЛЕВАНИЯ ПЕЧЕНИ

Н.А. Онищенко, З.З. Гоникова, А.О. Никольская, Л.А. Кирсанова, В.И. Севастьянов

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

Гибель клеток печени является наиболее критическим состоянием, которое предопределяет формирование в ней таких патологических состояний, как воспаление, фиброз и клеточная трансформация. Проведен анализ результатов исследований об участии различных типов программируемой гибели клеток (ПГК) в патогенезе заболеваний печени. Рассмотрено три основных типа ПГК (аутофагия, апоптоз, некроз) и пять дополнительных, пока недостаточно изученных ПГК – некроптоз, ферроптоз, пироптоз, партанатоз и энтоз, наблюдаемых в печени при различных острых и хронических заболеваниях. Установлено одновременное участие нескольких ПГК в развитии какой-либо одной патологии и одного типа ПГК в разных патологиях. Этот факт свидетельствует о существовании перекрестной регуляции метаболизма в клетках печени с различным уровнем повреждения при формировании основного доминирующего типа ПГК. Имеющиеся результаты указывают на возможность ослабления (коррекции) функциональных и морфологических проявлений ПГК в органе путем контролируемого блокирования эффекторных путей ПГК, а также направленной индукции в клетках печени аутофагии, антиапоптотических и антинекротических механизмов.

Ключевые слова: программируемая гибель клеток, аутофагия, апоптоз, некроз, заболевания печени.

PROGRAMMED CELL DEATH AND LIVER DISEASES

N.A. Onishchenko, Z.Z. Gonikova, A.O. Nikolskaya, L.A. Kirsanova, V.I. Sevastianov

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

Cell death represents the most critical pathologic entity in liver disease, which dictates pathologic consequences such as inflammation, fibrosis, and cell transformation. We analyzed the conclusions of studies on the involvement of different types of programmed cell death (PCD) in the pathogenesis of liver diseases. Three main forms of PCD (autophagy, apoptosis, necrosis) and five additional, still insufficiently studied PCD – necroptosis, ferroptosis, pyroptosis, partanatos and entosis – observed in the liver in various acute and chronic diseases are considered. The involvement of several PCD at once in the development of any one pathology and one type of PCD in different pathologies was established. This indicates the existence of cross-regulation of metabolism in the liver cells with different levels of damage in the formation of the main dominant type of PCD. Available results indicate the possibility of attenuation (correction) of functional and morphological manifestations of PCD in the organ by controlled blocking of effector-mediated PCD pathways, as well as targeted induction of autophagy, anti-apoptotic and anti-necrotic mechanisms in liver cells.

Keywords: programmed cell death, autophagy, apoptosis, necrosis, liver diseases.

Изучение молекулярных механизмов развития заболеваний с целью повышения эффективности их лечения стало основным направлением современной медицинской науки. Развитие представлений об активном участии в процессах адаптации, морфогенеза и клеточного гомеостаза эволюционно сложившегося механизма регуляции жизнедеятельности клеток –

программируемой гибели клеток (ПГК) способствовало расширенному изучению роли ПГК в формировании патологических процессов в организме [1–4]. Настоящий обзор посвящен оценке роли различных типов ПГК в патогенезе острых и хронических заболеваний печени, а также обоснованию возможных путей их коррекции.

Для корреспонденции: Гоникова Залина Залимгериевна. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (966) 188-33-33. E-mail: zalina3392@gmail.com

Corresponding author: Zalina Gonikova. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (966) 188-33-33. E-mail: zalina3393@gmail.com

1. РАЗЛИЧНЫЕ ТИПЫ ПГК, АКТИВИРУЮЩИЕСЯ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПЕЧЕНИ

Гибель клеток является критической стадией при заболеваниях печени, предопределяющей появление и прогрессирование таких патологических состояний печени, как воспаление, фиброз и клеточная трансформация [5]. Большинство из описанных механизмов гибели клеток, за исключением прямого физического или химического разрушения, опосредовано эволюционно выработанными механизмами и поэтому относятся к типу программируемой гибели клеток. В зависимости от характера повреждающего воздействия и механизмов инициации процесса гибели выделяют 3 основных, наиболее изученных типа ПГК (аутофагия, апоптоз, некроз) и 5 типов дополнительных, пока недостаточно изученных ПГК (некроптоз, пироптоз, ферроптоз, партанатоз, энтоз) (табл. 1).

Эти различные типы ПГК могут проявляться и одновременно сосуществовать в гепатоцитах, холангиоцитах или непаренхиматозных клетках печени. Степень выраженности и участия каждого типа ПГК зависят от этиологии и стадии патологического процесса, а также от степени перекрестного воздействия на них других типов ПГК. Важно отметить также, что среди всех перечисленных типов ПГК аутофагия и апоптоз занимают особое место, так как на ранних этапах их развития процесс гибели клеток может быть остановлен и даже предотвращен. Это означает, что аутофагия и апоптоз могут служить механизмами для осуществления терапевтических регуляторных (регенерационных) воздействий.

1.1. Аутофагия и аутофагическая гибель клеток

Аутофагия – это процесс прижизненной внутриклеточной деградации и утилизации изменен-

ного содержимого цитоплазмы путем образования аутофагосомы. Аутофагия играет ключевую роль в процессах адаптации и выживания клеток [7], так как обеспечивает краткосрочное поддержание клеточного и энергетического гомеостаза [8–10] за счет высвобождения в цитоплазму питательных и энергоемких субстанций и их последующей утилизации. Именно поэтому некоторые авторы [11] предлагают рассматривать аутофагию как способ «преимущественно запрограммированного выживания» клеток, в связи с тем что при активации аутофагия реализует защитные, а не цитотоксические эффекты [12]. В результате воздействия стресса измененные белки цитоплазмы, поврежденных митохондрий, эндоплазматического ретикулума, пероксисомы транслицируются к мембранам органелл, где формируют белковый комплекс, участвующий в образовании аутофагосомы с двойной мембраной. Формирование аутофагосомы ($D = 0,3–1,0$ мкм) происходит при участии белков LC3П, Vps 34, Beclin-1, Atg4 – Atg12/Atg16L1 и др. Последующее образование аутофаголизосомы происходит путем слияния аутофагосомы с лизосомами [13]. В аутофаголизосоме осуществляется деградация (гидролиз) измененных белков и высвобождение в цитоплазму питательных и энергоемких субстанций, способных поддержать жизнеобеспечение этих клеток [10, 11, 13]. При избыточной деградации измененных белков в клетках предотвратить аутофагическую гибель их можно лишь путем ингибирования аутофагии [14].

Аутофагия играет важную роль в защите печени от воздействия токсических факторов, в частности при алкогольной болезни печени [15–17] и при токсическом воздействии фармпрепаратов [18, 19]. Функция аутофагии при этих воздействиях состоит в ослаблении окислительного стресса, в торможении избыточного накопления в клетках измененных белков и поврежденных органелл [20, 21]. Показано, что

Таблица 1

Характеристика различных типов ПГК [4–6]
Characteristics of various types of PCD [4–6]

Типы ПГК печени	Механизм действия	Эффекторы (маркеры)	Морфология клеток	Заболевания печени
1. Аутофагия	Последовательное образование в цитоплазме фагофоры, аутофагосомы, аутофаголизосомы	LC3-II, ULK1, Atg12, Atg4, GABA-RAP	Вакуолизация цитоплазмы клеток, образование аутофагосомы, аутофаголизосомы	Токсические воздействия, вирусные гепатиты, алкогольная болезнь печени
2. Апоптоз (деградация отмирающих клеток путем фагоцитоза без воспаления)	Каспаза-зависимый (рецепторный) и митохондриально-зависимый пути деградации ДНК, образование апоптосом	PS внешней мембраны, FAS/ TNFR-1, CASPs-3,7,8,9,10 BAX/BAK APAF-1	Уплотнение клетки, конденсация хроматина, фрагментация ядра, образование апоптотических телец	Холестатические, аутоиммунные заболевания, вирусные гепатиты, алкогольная болезнь, неалкогольный стеатогепатит, гепатокарцинома

Окончание табл. 1

Типы ПГК печени	Механизм действия	Эффекторы (маркеры)	Морфология клеток	Заболевания печени
3. Некроз, опосредованный повышением проницаемости митохондрий – МПП-некрроз (разрушение клеток и воспаление)	Генерация АФК (ROS) и RNS, накопление цитозольного Са в митохондриях (Mx)	CypD, BAX/BAK	Сморщивание и дезорганизация структуры цитоплазмы и Mx, уплотнение и фрагментация ядра, разрыв цитоплазматической мембраны, лизис клеток	Ишемия/реперфузионное повреждение, неалкогольная жировая болезнь, алкогольная болезнь
4. Некроптоз (некротоксическое разрушение клеток)	Активация FAS/TNFR-1, TLRs-3/4, ZBP-1; Ингибирование CASP-8, образование некротомом	RIPK-1, RIPK-3 MLKL	Лизис клеток из-за повышения проницаемости плазматических мембран	Токсичность препаратов, неалкогольный стеатогепатит, алкогольная болезнь, аутоиммунные заболевания
5. Ферроптоз (развивается при недостатке GSH в клетке)	Fe-катализируемое образование АФК, перекисное окисление липидов (ПОЛ)	GPX-4	Некротическая морфология, митохондрии деструктурированы, утрата крист, разрывы наружной мембраны	Токсичность препаратов, аутоиммунный гепатит, алкогольная болезнь, неалкогольный стеатогепатит
6. Пироптоз (сочетает признаки апоптоза, некроза и воспаления)	Удаление внутриклеточных патогенов (ЛПС и/или бактерии) путем образования инфламмосом	NLRP-1,-3; CASP-1, CASPs-4,-5,-11; GSDMD	Лизис клеток за счет образования пор в наружной мембране	Токсичность препаратов, холестаза, аутоиммунный и вирусные гепатиты, неалкогольный стеатогепатит, алкогольная болезнь
7. Партанатоз	Алкилирующее повреждение ДНК, воздействие АФК (ROS), RNS, гипоксии	PARP-1	Фрагментация ДНК, конденсация ядра	Токсичные препараты, гепатокарцинома
8. Энтоз	Исчезновение интегринальной сигнализации от матрикса; конкуренция раковых клеток	Myosin/ Rho A/ ROCK	Инвазия, поглощение одних клеток другими (клеточный канибализм)	Гепатокарцинома, прогрессирование фиброза

Примечание. APAF-1 – апоптотический протеаза-активирующий фактор-1; АФК (ROS) – активные формы кислорода; АФА (RNS) – активные формы азота/оксида азота; ПОЛ (LP) – перекисное окисление липидов; BAK – гомологичный антагонист киллерного белка BCL-2; BAX – BCL-2 ассоциированный X-белок; CASPs – каспазы; CypD – циклофилин D; Fas-TNF – лигандный TNF-рецептор гибели клетки, кодируемый геном FAS; TNFR-1 – TNF-лигандный рецептор гибели клетки-1; GABA-RAP – белок, участвующий в образовании аутофагосом; GPX-4 – глутатион-пероксидаза-4; GSH – глутатион; GSDMD – белок гасдермин D; LC3 – растворимый микротубулярно-ассоциированный белок 1A/1B – легкая цепь-3, который в аутофагосоме конъюгируется с фосфатидилэтанололамином с образованием LC3-II – маркера аутофагии; MLKL – смешанный линейно-зависимый киназный домен, подобный псевдокиназе; МПП-некрроз – некрроз, обусловленный повышением проницаемости мембран митохондрий (Mx); NLRP-1,-3 – NOD-подобный рецептор, содержащий пуриновый домен-1 и -3; PS – фосфатидилсерин (маркер апоптоза); PARP-1 – поли(АДФ-рибоза)-полимераза-1; RIPK-1,-3 – рецепторы взаимодействия протеинкиназы 1 и 3; Rho A/ROCK – Rho-ассоциированная протеинкиназа (ROCK); TLRs 3/4 – Толл-подобные рецепторы 3/4; TNFR-1 – TNF рецептор-1; ULK1 – белок с молекулярной массой 112-кДа, который при аутофагии участвует в фосфорилировании mTORC1 и AMPK; ZBP-1 – Z-ДНК связывающий белок.

Note. APAF1 – apoptotic protease activating factor 1; ROS – reactive oxygen species; RNS – reactive nitrogen species; LP – lipid peroxidation; BAK – Bcl-2 homologous antagonist killer; BAX – Bcl-2-associated X protein; CASPs – cysteine-dependent aspartate-directed proteases; CypD – Cyclophilin D; Fas TNF – ligand TNF cell death receptor encoded by the FAS gene; TNFR1 – Tumor necrosis factor receptor 1; GABA-RAP – Gamma-aminobutyric acid receptor-associated protein, encoded by the GABARAP gene, which takes part in autophagosome formation; GPX4 – Glutathione peroxidase 4; GSH – Glutathione; GSDMD – Gasdermin D; LC3 – soluble microtubular-associated protein 1A/1B – light chain-3, which is conjugated in the autophagosome with phosphatidylethanolamine to form LC3-II, an autophagy marker; MLKL – mixed lineage kinase domain like pseudokinase; mPT-driven necrosis – necrosis caused by increased mitochondrial (Mt) membrane permeability; NLRP1,-3 – NOD-like receptor (NLR) family, pyrin domain-containing proteins 1 and 3; PS – phosphatidylserine (marker of apoptosis); PARP-1 – Poly (ADP-ribose) polymerase 1; RIPK1,-3 – receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 1 and 3; Rho A/ROCK – Rho-associated protein kinase (ROCK); TLRs 3/4 – Toll-like receptors 3/4; TNFR1 – Tumor necrosis factor receptor 1; ULK1 – Unc-51 like autophagy activating kinase; ZBP1 – Z-DNA-binding protein.

торможение аутофагии путем удаления белков, участвующих в формировании аутофагосом (нокаут-гена Atg5), приводит к гибели клеток печени, воспалению и фиброзу при моделировании алкогольного стресса у мышей [22]. В то же время активация аутофагии путем удаления продуктов перекисного окисления липидов, капель липидов и агрегатов измененного белка – АМПК (АМФ – активируемая протеинкиназа) способствует защите митохондрий от апоптоза при моделировании алкогольной болезни [16, 23].

Установлено, что этанол индуцирует аутофагию через механизмы окислительного стресса, которые сопряжены с активацией АМПК (аденозинмонофосфат активируемая протеинкиназа) [AMP – activated protein-kinase] и супрессией пути mTORC-1 (мишень для рапамицинового комплекса-1 у млекопитающих) [mammalian target of rapamycin complex – 1] [17, 21]. Действительно, активация аутофагии путем применения рапамицина – ингибитора mTORC-1 пути – снижала алкогольное повреждение печени, тогда так ингибирование аутофагии с помощью хлорокина усугубляло повреждение [17]. Однократный прием алкоголя активирует аутофагию; при хроническом приеме и в высоких дозах алкоголь способен подавлять аутофагию [17, 21] и усиливать повреждение печени путем токсического воздействия.

Гибель клеток печени при токсическом воздействии ацетаминофена (парацетамола) – (АРАР) наступает не в результате их аутофагической гибели. В опытах на мышах показано, что активация аутофагии фактически защищает клетки печени от АРАР гибели, тогда как ингибирование аутофагии усугубляет токсичность АРАР [24–27]. Дисфункция митохондрий, продукты распада митохондриального белка, накопление активных форм кислорода АФК (ROS) и истощение АТФ (АТР) – все это способствует развитию некроза клеток, но одновременно служит катализатором инициации аутофагии при воздействии АРАР [18, 24]. Инициация аутофагии ограничивает генерацию АФК (ROS) поврежденными митохондриями, а образующие аутофагосомы создают барьер для расширения некроза. В результате наступившие изменения способствуют активации биогенеза митохондрий и регенерации печени [18, 19].

1.2. Апоптоз

Апоптоз, как и аутофагия, является активным участником процессов морфогенеза и регуляции количества клеток в организме, поддерживает клеточный гомеостаз и стимулирует процессы физиологической регенерации клеток [28]. Между тем запуск апоптоза происходит и при различных патологических состояниях, что приводит к гибели клеток, нежелательных для организма [29]. Гибель

клеток и их удаление при апоптозе осуществляется посредством фагоцитоза без воспаления. Образующиеся апоптотические клетки утилизируются соседними паренхиматозными и непаренхиматозными клетками, фибробластами, макрофагами и дендритными клетками [30, 31]. Медиаторы, выделяемые апоптотическими клетками, избирательно подавляют миграцию нейтрофилов [31, 32]. Одновременно происходит усиление хемотаксиса макрофагов, которые с помощью своих многочисленных рецепторов распознают появление на поверхности апоптотических клеток экспрессии фосфатидилсерина (PS), других окисленных липидов, являющихся маркерами раннего апоптоза, и быстро удаляют их.

Процесс развития апоптоза включает 3 фазы: сигнальная (фаза индукции), эффекторная (фаза реализации) и деградационная (фаза деструкции). Сигнальная фаза апоптоза может быть осуществлена посредством двух путей: внешнего (с участием рецепторов клеточной гибели – каспаза-зависимый путь) и внутреннего (с участием митохондрий) [5, 28]. Оба пути в итоге приводят к активации иницирующих каспаз (CASPs-8,-9,-10,-12) и последующей активации эффекторных каспаз (CASPs 3,6,7,14), что ведет к протеолизу, ядерной фрагментации и гибели апоптотических клеток путем фагоцитоза [28].

При внешнем каспаза-зависимом пути сигналом к активации апоптоза являются факторы внеклеточного микроокружения: гипоксия, ишемия/реперфузия, воздействия физическими и химическими агентами, нарушения сигналинга клеточного цикла и т. д. Эти факторы стимулируют трансмембранные рецепторы клеток двух типов: 1-й тип – TNF-лигандные рецепторы гибели (TNF-death receptors или DRs), такие как FAS (CD 95, APO-1), TNFR-1 (p55, CD 120A) и другие; 2-й тип – рецепторы распознавания образов – PRR (pattern recognition receptors) [12], к которым относятся Толл-подобные рецепторы (TLRs). TLRs входят в состав мультибелкового комплекса, содержащего рецептор-взаимодействующую протеинкиназу-1 (RIPK-1), клеточный ингибитор апоптоза 1 и 2 (сIAP-1 и сIAP-2) и некоторые другие белки [5], способные участвовать в предотвращении гибели клеток.

Процесс запуска апоптоза происходит путем взаимодействия специфического TNF-лигандного рецептора гибели со своим адаптером, который далее взаимодействует с эффекторами – прокаспазами, неактивными предшественниками, иницирующими каспазы [28]. В результате взаимодействия лиганда, рецептора, адаптера и прокаспаз формируются апоптосомы, в которых иницируются процессы клеточной гибели за счет аутолитической активации каспаз [33]. Сначала в апоптосомах активируются

инициирующие каспазы – CASPs-2,-8,-9,-10,-12, которые далее участвуют в активации эффекторных каспаз – CASPs-3,-7 и др. [5, 34], что приводит к протеолизу, ядерной фрагментации и гибели апоптотических клеток.

Внутренний, или митохондриальный, путь передачи апоптотического сигнала инициируется стрессорным или цитотоксическим повреждением ДНК, активирующим ядерный белок p53. Индукция p53 повышает активность регуляторных белков семейства Bcl-2: Bcl-2, BID (BH3 – взаимодействующий доменный агонист смерти) [BH3 – interacting domain death agonist] и tBID (BID, подвергшийся посттранскрипционной модификации) [BID after the post-transcriptional modification]. Эти активированные белки, перемещаясь в митохондрии, взаимодействуют с митохондриальным пулом проапоптотических белков – членов семейства Bcl-2: с Bcl-2 ассоциированным регулятором X-апоптоза- (BAX) и/или с антагонистом/киллером Bcl-2 (BAK) [12]. Такое взаимодействие приводит к конформационным изменениям митохондриальных белков, образованию пор в наружной мембране митохондрий и к высвобождению митохондриальных апоптотических компонентов – цитохрома C, прокаспаз-2, -3, -9 и фактора активации апоптотической пептидазы-1 (APAF-1), которые участвуют в формировании апоптосомы [35]. Далее, как и при внешнем пути передачи апоптотического сигнала, в апоптосоме происходит инициация прокаспазы-9, которая взаимодействует с эффекторной прокаспазой-3, активирует ее до каспазы-3 и запускает каспазный каскад эффекторной фазы апоптоза.

Апоптоз, являясь регулируемым процессом, может быть отменен в индукторной фазе (фаза обратимого апоптоза). Возможность отмены апоптоза регулируется многодоменным белком RIPK-1, который входит в состав мультибелкового комплекса трансмембранных рецепторов 2-го типа (см. выше). RIPK-1 оказывает прямое влияние на результат активации TNF-рецепторов смерти 1-го типа и приводит пораженную клетку к выживанию или смерти в зависимости от ее посттрансляционных модификаций [36, 37]. Известно, что E3-убиквитин (белок, участвующий в регуляции функционирования и деградации внутриклеточных белков) при взаимодействии с клеточным ингибитором апоптоза (сIAP) катализирует полиубиквитинирование RIPK-1 и способствует активации ядерного фактора кВ (NF-кВ). В результате такого взаимодействия происходит трансформация генов, обеспечивающая выживание и предотвращение гибели клетки (отмена фазы необратимого апоптоза) [38, 39].

В эффекторной фазе апоптоза происходит разрушение клеточных структур (разрушение цитоскелета,

расщепление адгезивных белков, гидролиз ядерной мембраны). В деградиционной фазе апоптоза наступают глубокие морфологические и биохимические изменения клетки, приводящие к формированию апоптотических телец диаметром 0,2 мкм, которые выходят из зоны апоптоза, появляются в крови и в последующем фагоцитируются [40]. В фазе деградации апоптоз приобретает черты вторичного некроза, при котором происходит высвобождение из клеток продуктов распада (DAMPs – продукты распада, ассоциированные с молекулярными структурами), в том числе нуклеосом. Нуклеосомы содержат фрагменты геномной ДНК, ядерного белка HMGB-1, белков теплового шока – HSP и другие аутоантигены, которые вызывают антиген-специфический иммунный ответ [32, 41].

Как внутренний, так и внешний пути активации апоптоза обычно участвуют в развитии холестатического и аутоиммунного поражения печени, алкогольного и неалкогольного стеатогепатита, легкой гепатотоксической травмы печени и вирусных гепатитов [42–44].

В моделях на животных и в опытах *in vitro* показано, что алкоголь вызывает метаболическое, токсическое и воспалительное повреждение клеток печени. Повреждение клеток приводит к дисфункции митохондрий и других органелл, к образованию активных форм кислорода (ROS), транслокации BAX (проапоптотический белок семейства Bcl-2) в митохондрии, высвобождению цитохрома C, активации каспаз [45–47] и к апоптотической гибели клеток [42]. Известно, что острое и хроническое воздействие алкоголя повышает проницаемость кишечника для бактериальных продуктов типа LPS (липополисахариды), и это приводит к воспалению, стимуляции клеток Купфера, к повышению продукции ими TNF [48] и экспрессии TNF-рецепторов апоптоза – FAS и TNFR-1 [49].

Исследования *in vitro* и *in vivo* с использованием ингибитора панкаспазы показали значительное ослабление индуцированного алкоголем апоптоза гепатоцитов без перехода его к некроптозу (т. е. без индукции маркеров RIPK-1, RIPK-3) [50, 51]. Несмотря на отсутствие влияния ингибитора панкаспазы на маркеры воспаления, наблюдали менее выраженный фиброз печени при моделировании повреждения совместным применением алкоголя и CCl₄ [52].

При неалкогольном стеатогепатите патологический процесс в печени протекает на фоне выявления каспаз-3, -7 и возросшего количества TUNEL*-позитивных клеток в биоптатах печени, что доказывает воспалительный характер апоптоза. Такие результаты были получены при исследовании мышей, нокаутных по генам CASP-3 и CASP-8, которые получали диету

с дефицитом метионина и холина. Эти мышцы были защищены от апоптоза, имели сниженную активность провоспалительных цитокинов, а также сниженную выраженность морфологических признаков воспаления и фиброза печени [53–55]. В то же время у мышей, находившихся на диете с высоким содержанием жиров, в печени определяли повышенное содержание АФК (ROS) и признаки апоптоза – повышенную активность каспазы-3 и каспазы-8, а также повышенное содержание TUNEL*-позитивных клеток в биоптатах печени [56]. Важность апоптоза при неалкогольном стеатогепатите доказывают и другие исследования. Так, было показано [57], что наряду с каспазами-3 и -7 при неалкогольном стеатогепатите активируется каспаза-6, которая начинает играть важную роль в прогрессировании этого заболевания из-за нарушения регуляторного взаимодействия метаболического сенсора – АМПК (АМФ-активированной протеинкиназы) и участников апоптотического процесса. Известно, что в здоровой печени АМПК фосфорилирует проапоптотическую каспазу-6 и ингибирует ее активацию.

Между тем при моделировании неалкогольного стеатогепатита у мышей, получавших холин-дефицитную диету в комбинации с высоким содержанием жира в пище, активность АМПК подавляется; в то же время при одновременном использовании ингибитора каспазы-6 ослаблялись морфологические признаки апоптоза и фиброза печени и снижался уровень трансаминаз [57].

Показано также, что набухание гепатоцитов при неалкогольном стеатогепатите [58] вызывает в клетках и их органеллах стресс, который индуцирует апоптоз, высвобождение продуктов клеточного распада из-за повреждения молекулярных структур [DAMPs – damage, associated molecular patterns] и активацию Толл-подобных рецепторов (TLRs). В свою очередь, активация TLRs превращает сигналы воспаления и гибели клеток в постоянно действующий повреждающий фактор. Этому способствует взаимодействие гепатоцитов с макрофагами печени (клетки Купфера) и лейкоцитами (натуральными киллерами), которые, поставляя TNF в организм, поддерживают воспаление при неалкогольном стеатогепатите [59].

Следовательно, апоптоз при неалкогольном стеатогепатите и неалкогольной жировой болезни печени является преобладающим способом гибели клеток. В нем участвуют как внешние пути активации апоптоза (через поверхностные рецепторы клеток), так и

внутренние пути активации апоптоза (через липотоксичность и стресс органелл).

При холестатических заболеваниях печени, сопровождающихся нарушением выведения желчи и холангиопатией, также отмечена апоптотическая гибель холангиоцитов [60]. В биоптатах печени у больных с первичной билиарной холангиопатией выявляется апоптоз холангиоцитов, при котором в клетках наблюдается уплотнение цитоплазмы и ядерная конденсация [61]. Считается, что апоптоз у этих пациентов опосредован TNF-лигандными рецепторами FAS (CD95), поскольку экспрессия FAS в цитоплазме клеток желчных протоков сопровождается повышенной экспрессией FasL в окружающих лимфоцитах и других иммунных клетках [61, 62]. FAS-опосредованный апоптоз гепатоцитов при холестазах сопровождается активацией звездчатых клеток печени (HSCs) и развитием фиброза, что указывает на связь апоптоза с формированием фиброза в печени [63]. FAS (апоптотический антиген 1) не единственный рецептор клеточной смерти, участвующий в апоптозе холангиоцитов. Takeda et al. [64] показали, что также повышена в печени пациентов с первичной билиарной холангиопатией и первичным склерозирующим холангитом экспрессия гена DR5 (death receptor-5), а мыши, нокаутные по гену DR5, были устойчивы к холестатической гибели клеток после перевязки желчных протоков [64]. Cubero et al. [65] сообщили о повышенной экспрессии активированных протеолитических ферментов каспаз-3 и -8, а также белка RIPK-3 в биоптатах печени пациентов с первичной билиарной холангиопатией, что указывало на активацию апоптоза и связь апоптоза с другими типами ПГК. Используя модель перевязки желчных протоков у мышей, нокаутных по гену CASP-3, исследователи сообщили о снижении трансаминаз – AST, ALT, снижении активности каспазы-3 и уровней белков RIPK-1 и RIPK-3 [65], т. е. о сопутствующем торможении механизмов некроптоза. В других работах [66, 67] показана связь снижения апоптоза с уменьшением каспазы-3 и -7-позитивных клеток, снижением воспаления, активности звездчатых клеток печени (HSC), фиброза, портальной гипертензии и повышением выживаемости при использовании ингибиторов панкаспазы. Эти данные подтверждают значимость апоптоза при холестатических заболеваниях печени.

Считается, что апоптоз клеток печени играет также важную роль и в патогенезе вирусных гепатитов В и С (HCV и HBV) [68, 69]. По гистологическим маркерам (уплотнение цитоплазмы клеток, фрагментация ДНК и выявление TUNEL-положительных

* – TUNEL (terminal deoxyribonucleotide transferase – mediated dUTP nick and labeling) – метод регистрации свободных 3'-концов ДНК в ядре с конденсированным хроматином при помощи световой, лазерной, конфокальной или просвечивающей электронной микроскопии. При апоптозе фрагментация ДНК приводит к значительному увеличению количества 3'-концов ДНК (TUNEL-позитивных клеток) как при внешнем, так и внутреннем пути активации апоптоза.

клеток) апоптоз уже давно распознается в биоптатах печени пациентов с вирусным гепатитом [70]. Повышенная экспрессия рецепторов FAS в гепатоцитах, выявляемая по повышенной экспрессии FASL в лимфоцитах при HBV и HCV, позволяет считать апоптоз основной причиной гибели клеток печени в период активного гепатита [70, 71].

1.3. Некроз, обусловленный повышением проницаемости мембран митохондрий (МПП-некроз)

Некроз – это конечное состояние тяжелого патологического процесса в клетках, который сопровождается набуханием клеток, разрывом мембран, высвобождением клеточного содержимого из-за повреждения клеточных молекулярных структур [DAMPs – damage associated molecular patterns] и последующим развитием воспалительной реакции. МПП – некроз, описанный для печени, характеризуется образованием пор и повышением проницаемости внутренней и внешней мембран митохондрий, снижением мембранного потенциала, прекращением синтеза АТФ (АТР), осмотическим разрушением обеих мембран и гибелью клеток [12, 72]. Точные механизмы развития МПП-некроза пока не известны. Высказано предположение, что снижение мембранного потенциала митохондрий ведет к расширению пор за счет нарушения взаимодействия комплекса АТФ-синтаза (АТР-synthase) пор с митохондриальным белком – циклофилином D (Сур D), участвующим в их образовании [73]. Доказано участие МПП-некроза в развитии ряда заболеваний печени, при которых окислительный стресс и перегрузка митохондрий Ca^{2+} играют важную патогенетическую роль [12]. Так, например, показано, что при токсичности ацетаминофена (АРАР) – АРАР преобразуется в токсический метаболит NAPQI – (N-ацетил-n-бензохионимин) путем прямого окисления с участием цитохромов; затем NAPQI эффективно детоксицируется глутатионом (GSH) с образованием конъюгатов АРАР-GSH [74]. Однако при истощении запасов глутатиона (GSH) и цистеина в клетках токсичный метаболит NAPQI связывается с тиоловыми (SH) группами белков, а образующиеся продукты деградации NAPQI вызывают стрессорное повреждение эндоплазматического ретикулаума и митохондрий [75]. Последующее повреждение митохондрий происходит в результате образования АФК (ROS), накопления в них оксида азота (RNS) [76] и развивающейся перегрузки Ca^{2+} . Продолжающаяся генерация ROS усиливает митохондриальный стресс, что ведет к активации сигнального пути MAPK (митоген-активированной протеинкиназы), который приводит клетки к МПП-некрозу [77]. МПП-некроз развивается как следствие разрыва мембран митохондрий, транслокации в ядро

апоптоз-индуцирующего фактора (AIF) и высвобождения эндонуклеазы, с последующей фрагментацией ДНК [78]. Важность МПП-некроза в развитии токсичности АРАР, неалкогольного стеатогепатита и неалкогольной жировой болезни печени подтверждена в ряде работ [79–81].

1.4. Некроптоз

Некроптоз как некротоксический тип ПГК участвует в большинстве хронических заболеваний печени, включая вирусный гепатит, аутоиммунный гепатит, неалкогольный стеатогепатит и алкогольную болезнь печени [82, 83]. Показано, что некроптоз инициируется TNF-лигандными рецепторами (FAS и TNFR-1), рецепторами распознавания образов (PRRs, TLRs) или внутриклеточным сенсором Z-ДНК-связывающим белком-1 (ZBP-1). Активация некроптоза происходит в условиях ингибирования каспазы-8, при активации рецепторов взаимодействующей протеинкиназы-1 и -3 – (RIPK-1 и RIPK-3), а также при активации смешанного линейнозависимого киназного домена, подобного псевдокиназе (MLKL). Некроптоз проявляется образованием некрсом, быстрым повышением проницаемости клеточных мембран и высвобождением из клеток во внеклеточное пространство продуктов распада, ассоциированных с молекулярными структурами [DAMPs – damage associated molecular patterns] [84–86]. Роль белков RIPK-1 и -3, MLKL и других участников некротического повреждения клеток печени в последние годы активно исследуется [87–90]. При моделировании аутоиммунного гепатита с помощью конканавалина-A (Con-A) было отмечено, что применение NEC-1 – ингибитора RIPK-1 защищает печень от повреждения [91–93]. Мыши с нокаутным геном MLKL были также защищены от повреждения Con-A [90]. Вместе с тем в дополнительных исследованиях на мышцах с Con-A-повреждением печени и нокаутном геном MLKL не удалось выявить различий в состоянии печени в группах контроля и опыта, а также подтвердить участие некроптоза [90, 94]. При исследовании пациентов с вирусным гепатитом HBV и пациентов с хроническим гепатитом вирусной этиологии было обнаружено повышение уровня RIPK-3 в сыворотке крови и MLKL в печени при сравнении с контролем (здоровые) [95, 96]. Однако авторы не смогли связать полученные результаты с некроптозом, так как известно, что RIPK-1 и RIPK-3 при воспалении приобретают функции, не зависящие от некроптоза [5]. Кроме того, полученные результаты могут быть следствием перекрестного воздействия других типов ПГК, активирующихся в этих условиях.

1.5. Пироптоз

Пироптоз клеток имеет черты апоптоза и некроза и предназначен для удаления внутриклеточных патогенов. Пироптоз характеризуется образованием инфламмосомы, содержащей комплекс активированных в клетке каспаз и продуцентов провоспалительных цитокинов – IL-1 β , IL-18. Его относят к воспалительному типу кодирования некроза, который тесно взаимодействует с врожденным иммунитетом [97]. Выделяют два пути активации пироптоза – канонический и неканонический. Активация по каноническому пути наступает, если сенсоры инфламмосомы, относящиеся к семейству NOD-подобных рецепторов и содержащих пуриновый домен-1 и -3 (NLRP-1 и NLRP-3), стимулируются патогенами, относящимися к PAMPs (патоген-ассоциированным молекулярным структурам) [pathogen associated molecular patterns] и DAMPs. Указанные сенсоры используют каспазу-1 для активирования внутриклеточного белка Gasdermin-D (GSDM-D), который формирует поры в цитоплазматической мембране и способствует гибели клеток [12]. При активации пироптоза по неканоническому пути цитозольные липополисахариды (LPS) и PAMPs непосредственно стимулируются каспазами-4, -5 и -11. Эти каспазы, в свою очередь, активируют GSDM-D, который, связывая мембранные фосфолипиды, инициирует образование пор и приводит клетки к гибели [98–100].

Участие пироптоза при заболеваниях печени, таких как алкогольная болезнь [101–103], неалкогольный стеатогепатит [104–107], токсическое повреждение печени ацетаминофеном (АПА) [108–110], аутоиммунный гепатит [111–113], холестатические заболевания печени [114–117], вирусные гепатиты [118, 119], было доказано главным образом путем исследования активации ключевых медиаторов пироптоза, активности NLRP-3 инфламмосомы и белка GSDM-D.

1.6. Ферроптоз

Ферроптоз – тип ПГК, который зависит от внутриклеточного содержания железа, катализирующего образование активных форм кислорода – АФК (ROS) и последующее окислительное повреждение клетки. Ферроптоз активируется при истощении клеточного глутатиона (GSH), способствующего активизации железозависимого перекисного окисления липидов (ПОЛ) [PL] клеточных мембран [120, 121]. Ферроптоз развивается независимо от апоптоза, некроза, аутофагии, пироптоза и имеет субклеточные характеристики некроза, которые обусловлены высвобождением продуктов клеточного распада – DAMPs [12]. Малые размеры митохондрий с компрессированной плотностью, отсутствие в них крист и разрывы наружной

мембраны клетки являются морфологическими признаками ферроптоза [122, 123]. GSH-зависимый фермент – глутатионпероксидаза-4 (GPX-4) является основным эндогенным ингибитором ферроптоза из-за его способности ограничивать процессы ПОЛ [124]. Ингибирование активности GPX-4 ведет к накоплению ROS и ПОЛ, и поэтому сниженная активность GPX-4 считается маркером ферроптоза. Снижение накопления ROS и продуктов ПОЛ [PL] может быть достигнуто применением хелатов железа (деферроксамин) и ингибиторов ПОЛ (ферростатин) [125]. Роль ферроптоза в патогенезе заболеваний печени исследовалась при алкогольной болезни [126–128], неалкогольном стеатогепатите [128, 129], при токсичности ацетаминофена [128, 130–132], при аутоиммунном гепатите [133, 134]. Было высказано предположение, что ферроптоз вносит свой вклад в развитие различных заболеваний печени, и поэтому ферроптоз может сосуществовать в клетках наряду с другими типами ПГК (апоптоз, МПП-некроз, некроптоз и др.) [6].

1.7. Партанатоз

Партанатоз – тип ПГК, обусловленный чрезмерной реакцией клетки на повреждение ДНК, опосредованное преимущественно поли-(АДФ-рибоза)-полимеразой-1 (PARP-1). Партанатоз возникает после тяжелого и длительного алкилирующего повреждения ДНК, окислительного стресса, гипогликемии или воспаления [12]. Реактивные формы азота (RNS), такие как NO, являются триггером активации PARP-1, что вызывает истощение в клетках никотинамид-аденин-динуклеотида (NAD) и АТФ (АТР); RNS способствуют также накоплению поли-(АДФ-рибоза)-полимеров и поли-(АДФ-рибозилированных)-белков, вызывающих утрату мембранного потенциала митохондрий. Кроме того, поли-(АДФ-рибоза)-полимеры связывают апоптоз-индуцирующий фактор (AIF) и способствуют ядерной транслокации AIF, вызывая ДНК фрагментацию и ядерную конденсацию. Недавно было показано, что фактор, ингибирующий миграцию макрофагов, при различных заболеваниях печени способен связывать AIF и катализировать распад ДНК [135]. Эти данные позволяют предположить, что между некоторыми некротическими типами ПГК (МПП-некроз, некроптоз) и партанатозом существует перекрестная взаимосвязь. Подтверждением этого является способность активированных RIPK-1 и RIPK-3 – маркеров некроптоза – стимулировать ферментативную активность PARP-1, а также способствовать истощению АТФ (АТР) и высвобождению AIF [136]. Роль партанатоза при заболеваниях печени пока не изучена, однако известно, что PARP-1 участвует в осуществлении гибели клеток печени [6].

1.8. Энтоз

Энтоз – тип ПГК, относящийся к клеточному каннибализму, который осуществляется в здоровых или аномальных тканях путем поглощения жизнеспособных клеток нефагоцитирующими клетками гомотипического или гетеротипического происхождения [12]. Энтоз эпителиальных клеток обычно возникает, когда клетки утрачивают интегриновую сигнализацию в результате отделения от матрикса. Процесс энтоза сопровождается клеточной инвазией, которая зависит от активности E-кадгерина, α-катенина, RhoA- и rho-ассоциированной киназы (ROCK). Энтоз протекает в условиях конкуренции раковых клеток и пониженной регуляции свойств миозина – компонента цитоплазматических мембран в поглощающих клетках, что позволяет проникать в эти клетки-мишени [137]. Клетки, в которых активирована АМПК из-за недостатка питательных веществ, по-видимому, поддаются энтозу, предназначенному восстановить их питание [138]. При хронических заболеваниях печени, таких как хронический гепатит В и аутоиммунный гепатит, встречается захват активированных Т-лимфоцитов гепатоцитами, что указывает на причастность энтоза к повреждению печени и развитию иммунной толерантности [139]. Недавно было показано, что звездчатые клетки печени (HSC_s) участвуют в энтозе антифибротических естественных киллерных клеток у HBV-пациентов с циррозом печени в качестве потенциально нового механизма усиления фиброза [140].

2. ПЕРЕКРЕСТНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ РАЗЛИЧНЫХ ПУТЕЙ ПГК

Проведенный анализ участия различных типов ПГК при заболеваниях печени показывает, что отдельные типы ПГК могут одновременно с другими участвовать в развитии какой-либо одной патологии, и кроме того, отдельные типы ПГК, имея общие маркеры с другими типами ПГК, участвуют в формировании различных нозологических форм заболеваний. Так как разные типы ПГК, имея разные механизмы реализации, тем не менее, перекрестно регулируют друг друга, это дает основание предполагать, что, по крайней мере, некоторые типы ПГК (ферроптоз, некроптоз, пироптоз, партанатоз) являются промежуточными стадиями формирования основных типов ПГК, таких как апоптоз и МПП-некроз. Наиболее известные механизмы перекрестной регуляции взаимодействия разных типов ПГК при заболеваниях печени представлены в табл. 2.

Показано также, что СурD – неперенный участник развития МПП-некроза, отменяет тормозное воздействие cIAP на RIPK-1, чтобы способствовать образованию некротом для облегчения некротического пути гибели клеток [141]. Активированные RIPK-3 и MLKL активируют NLRP-3 инфламмасом [142], а этот механизм способствует осуществлению прямой связи между некрозом клеток и воспалением в дополнение к имеющемуся механизму активации инфламмасом посредством DAMP. Каспаза-8 – эффектор внешнего пути активации апоптоза подобно каспазе-1 также способен активировать NLRP-3 – инфламмасому для запуска pro-IL-1β, чтобы стимулировать процессы воспаления [143].

Таблица 2

Перекрестная регуляция метаболических путей при различных типах ПГК [6]*

Cross-regulation of metabolic pathways in different forms of PCD [6]*

Путь ПГК	Эффектор	Механизм действия	Регулируемый путь ПГК
Апоптоз	CASP-8	Инактивирует RIPK-3	Инактивирует некроптоз
		Инактивирует СурD	Ингибирует МПП-некроз
		Активирует NLRC4 инфламмасы	Индуктирует пироптоз
	CASP-3	Активирует GSDM-E – регулируемый пироптоз	Регулирует пироптоз
	CASP-3/ CASP-7	Инактивирует GSDM-D	Инактивирует пироптоз
МПП-некроз	СурD	Отменяет тормозное воздействие cIAP на RIPK-1	Регулирует некроптоз
Некроптоз	RIPK-1	Ингибирует CASP-8	Ингибирует CASP-8-зависимый апоптоз
		Стимулирует антиапоптотическую активацию NF-kB	Регулирует апоптоз
	RIPK-1/RIPK-3	Активирует PARP-1	Стимулирует партанатоз

* – Обозначения в табл. 2 см. в списке обозначений к табл. 1 и в списке ниже: cIAP – клеточный ингибитор апоптотического белка; GSDME – белок гасдермин E; NLRC-4 – NOD-подобный рецептор семейства CARD, содержащий белковый домен-4; NF-kB – ядерный фактор kB.

* – For Table 2 legend, see Table 1 legend and the list below: cIAP – cellular inhibitor of apoptosis proteins; GSDME – Gasdermin E; NLRC-4 – NOD-like receptor family CARD domain-containing protein 4; NF-kB – Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells.

По-видимому, перекрестная регуляция ПГК в печени предназначена эффективно осуществлять процесс гибели клеток разных фенотипов с разным уровнем повреждения. Кроме того, перекрестная регуляция, скорее всего, способствует формированию того основного типа ПГК, который будет доминировать в клетках на итоговых стадиях патологического процесса – воспаление, фиброз, клеточная трансформация или даже восстановление клеток при индукции аутофагии и регуляции механизмов раннего обратимого апоптоза. О возможности переориентации процессов ПГК на восстановительные и регенерационные процессы в поврежденных клетках свидетельствуют многочисленные исследования позитивной роли оптимально подобранных схем посткондиционирования ишемически поврежденных органов, применяемых с целью ослабления ишемического (некротического) и реперфузионного (апоптотического) повреждения. Посткондиционирование ограничивает некроз клеток, причем выраженность антинекротического эффекта зависит от продолжительности ишемии и применяемого протокола посткондиционирования [144]. Посткондиционирование ингибирует также развитие апоптоза клеток и усиливает в них процессы аутофагии. Подобные восстановительные процессы можно стимулировать в печени не только при использовании оптимальных схем посткондиционирования ишемически поврежденного органа, но и при проведении адекватной медикаментозной и клеточной терапии нарушений, обусловленных ПГК.

3. ПУТИ РЕГУЛИРОВАНИЯ ПРОЦЕССОВ ПГК ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПЕЧЕНИ

Проведенный анализ механизмов участия различных типов ПГК в развитии заболеваний печени позволяет наметить несколько путей для их торможения.

Способность к перекрестному регулированию путей ПГК, сохраняющаяся в гибнущих клетках печени при различных заболеваниях, указывает на целесообразность осуществления управляемой коррекции возникающих нарушений, прежде всего с помощью средств, действие которых направлено на торможение эффекторных механизмов развития ПГК. Среди таких средств известны и проходят клинические испытания новые медикаментозные препараты: эмриказан (IDN-6556) – ингибитор панкаспазы для пациентов неалкогольным стеатогепатитом с фиброзом 1–3-й стадии или циррозом печени; Селонсертиб (GS-4997) – ингибитор киназы, регулирующей сигналы апоптоза (ASK-1) для пациентов с неалкогольным стеатогепатитом и прогрессирующим циррозом печени; GSK-2982772 и GSK-2983559 – ингибиторы RIPK-1 для лечения различных хронических воспалительных заболеваний [6], а также ферроста-

тин [125] и Artesunate – регулятор ферроптоза с антифиброгенным действием [145]; Montelukast – ингибитор TNF- α /JNK сигнального пути [146], DAPT – ингибитор Notch-1 сигнального пути [147] и другие.

При вялом течении восстановительных (регенерационных) процессов, а также на ранних обратимых стадиях апоптоза, когда в клетках печени еще сохранена способность к ауторегуляции и самостоятельному выживанию, для коррекции печеночной недостаточности и восстановления структуры клеток печени эффективными могут оказаться медикаментозные препараты – адаптогены. К ним относятся индукторы аутофагии и регуляторы апоптоза клеток, способствующие активации метаболических путей AMPK и ядерного фактора kB (NF-kB) и торможению mTORC-1-зависимых метаболических путей. Целесообразно использовать также индукторы метаболизма с антиоксидантной и противовоспалительной активностью [148–154], так как окислительный стресс и воспаление являются постоянными спутниками развития ПГК практически всех типов.

Кроме медикаментозной терапии хронических (неонкологических) заболеваний печени для торможения процессов ПГК и активации восстановительных процессов в поврежденных клетках печени целесообразно разрабатывать методы клеточной регенерационной терапии, которые основаны на использовании апоптотически измененных клеток донорской печени и донорского костного мозга [155]. Эти клетки продуцируют в организм многочисленные паракринные факторы, выступающие в роли адресных переносчиков комплекса регенерационных сигналов – регуляторов восстановительных процессов. Так, в клинике уже нашли применение изолированные культивируемые донорские гепатоциты. Их применяют в качестве основного элемента в системах вспомогательной поддержки печени, в перфузионном контуре которых кровь (или плазма) пациента непрерывно контактирует с культивируемыми в ней изолированными донорскими гепатоцитами и обогащается паракринными факторами, выделяемыми апоптотическими донорскими клетками [156]. Изолированные донорские гепатоциты начали использовать и в составе клеточно-инженерных конструкций, имплантируемых непосредственно в поврежденную печень пациента. Для повышения эффективности применения имплантируемых клеточно-инженерных конструкций в них было оптимизировано соотношение клеточных элементов (гепатоциты/МСК) [157, 158]. Индукцию восстановительных процессов в поврежденной печени осуществляют также путем применения общей РНК из клеток костного мозга, которая является неспецифическим фактором регуляции восстановительных процессов и выступает в роли переносчика комплекса многочисленных

регенерационных сигналов в клетки поврежденной печени [159].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный анализ роли ПГК при заболеваниях печени позволяет сделать следующие выводы.

1. Среди известных типов ПГК основными следует считать аутофагию, апоптоз и МПП-некроз; остальные типы ПГК (ферроптоз, некроптоз, пироптоз, партанатоз, энтоз) остаются пока недостаточно изученными, и по-видимому, их следует рассматривать как промежуточные стадии формирования основных типов ПГК (апоптоз и МПП-некроз).
2. Перекрестная регуляция различных типов ПГК печени предназначена повысить эффективность формирования процесса гибели клеток разных фенотипов с разным уровнем повреждения, а также обеспечить развитие одного из доминирующих последствий ПГК, таких как воспаление, фиброз, клеточная трансформация или восстановительная регенерация.
3. Сохранение перекрестной регуляции при различных типах ПГК в печени указывает на возможность управляемой коррекции возникающих при этом нарушений с помощью медикаментозных препаратов и клеточных технологий. Из медикаментозных средств перспективны препараты, тормозящие эффекторные пути развития ПГК и оказывающие адаптивное воздействие на клетки печени путем индукции аутофагии, раннего обратимого апоптоза и усиления антиоксидантной и противовоспалительной активности. Применение клеточных технологий основано на использовании апоптотических донорских клеток печени и костного мозга, продуцирующих паракринные регуляторные факторы, ингибирующие развитие ПГК и адресно индуцирующие процессы восстановительной регенерации клеток печени.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Ярилин АА. Апоптоз: природа феномена и его роль в норме и при патологии. *Актуальные проблемы патофизиологии: избранные лекции под ред. Б.Б. Мороза*. М.: Медицина, 2001: 13–56. Yarilin AA. Apoptosis: The nature of the phenomenon and its role in the norm and with pathology. *Actual problems of pathophysiology: selected lectures under the ed. B.B. Moroz*. M.: Medicine, 2001: 13–56.
2. Tak H, Matsui Y, Sadoshima J. The role of autophagy in mediating cell survival and death during ischemia and reperfusion in the heart. *Antioxidants and Redox Signaling*. 2007; 9 (9): 1373–1381.
3. Губский ЮИ. Смерть клетки: свободные радикалы, некроз, апоптоз: монография. Винница: Нова книга, 2015. 360. Gubsky YuI. Death Cells: Free radicals, necrosis, apoptosis: monograph. Vinnitsa: Nova Book. 2015. 360.
4. Потаннев МП. Аутофагия, апоптоз, некроз клеток и иммунное распознавание своего и чужого. *Иммунология*. 2014; 2: 95–102. Potapnev MP. Autophagia, apoptosis, cell necrosis and immune recognition of their and someone else's. *Immunology*. 2014; 2: 95–102.
5. Shojaie L, Iorga A, Dara L. Cell Death in Liver Diseases: A Review. *Int J Mol Sci*. 2020 Dec; 21 (24): 9682. doi: 10.3390/ijms21249682.
6. Aizawa S, Brar G, Tsukamoto H. Cell Death and Liver Disease. *Gut Liver*. 2020 Jan; 14 (1): 20–29. doi: 10.5009/gnl18486.
7. Xie Z, Klionsky DJ. Autophagosome Formation: Core Machinery and Adaptations. *Nat Cell Biol*. 2007: 1102–1109. doi: 10.1038/ncb1007-1102.
8. Kuballa P, Nolte WM, Castoreno AB, Xavier RJ. Autophagy and the immune system. *Ann Rev Immunol*. 2012; 30: 611–646.
9. Romao S, Gannage M, Munz C. Checking the garbage bin for problems in the house, or how autophagy assists in antigen presentation to the immune system. *Semin Cancer Biol*. 2013; 23 (5): 391–396.
10. Rubinsztein DC, Marino G, Kroemer G. Autophagy and aging. *Cell*. 2011; 146 (5): 682–695.
11. Tang D, Kang R, Coyne CB, Zeh HJ, Lotze MT. PAMPs and DAMPs: signal Os that spur autophagy and immunity. *Immunol Rev*. 2012; 249 (1): 158–175.
12. Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA, Abrams JM, Adam D, Agostinis P et al. Molecular Mechanisms of Cell Death: Recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death Differ*. 2018; 25: 486–541. doi: 10.1038/s41418-017-0012-4.
13. Liu G, Bi Y, Wang R, Wang X. Self-eating and self-defense: autophagy controls innate immunity and adaptive immunity. *J Leukoc Biol*. 2013; 93 (4): 511–519.
14. Galluzzi L, Vitale I, Abrams JM, Alnemri ES, Baehrecke EH, Blagosklonny MV et al. Molecular Definitions of Cell Death Subroutines: Recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2012. *Cell Death Differ*. 2012: 107–120. doi: 10.1038/cdd.2011.96.
15. Yin XM. Autophagy in Liver Diseases: A Matter of What to Remove and Whether to Keep. *Liver Res*. 2018: 109–111. doi: 10.1016/j.livres.2018.09.001.
16. Ding W, Li M, Chen X, Ni H, Lin C, Gao W et al. Autophagy Reduces Acute Ethanol-Induced Hepatotoxicity and Steatosis in Mice. *Gastroenterology*. 2010; 139: 1740–1752. doi: 10.1053/j.gastro.2010.07.041.
17. Lin CW, Zhang H, Li M, Xiong X, Chen X, Chen X et al. Pharmacological Promotion of Autophagy Alleviates Steatosis and Injury in Alcoholic and Non-Alcoholic Fatty Liver Conditions in Mice. *J Hepatol*. 2013; 58: 993–999. doi: 10.1016/j.jhep.2013.01.011.
18. Ni HM, McGill MR, Chao X, Du K, Williams JA, Xie Y et al. Removal of Acetaminophen Protein Adducts by

- Autophagy Protects against Acetaminophen-Induced Liver Injury in Mice. *J Hepatol.* 2016; 65: 354–362. doi: 10.1016/j.jhep.2016.04.025.
19. Ni HM, Williams JA, Jaeschke H, Ding WX. Zonated Induction of Autophagy and Mitochondrial Spheroids Limits Acetaminophen-Induced Necrosis in the Liver. *Redox Biol.* 2013; 427–432. doi: 10.1016/j.redox.2013.08.005.
 20. Ding WX, Yin XM. Sorting, Recognition and Activation of the Misfolded Protein Degradation Pathways through Macroautophagy and the Proteasome. *Autophagy.* 2008; 141–150. doi: 10.4161/auto.5190.
 21. Khambu B, Wang L, Zhang H, Yin X-M. The Activation and Function of Autophagy in Alcoholic Liver Disease. *Curr Mol Pharmacol.* 2017; 10: 165–171. doi: 10.2174/1874467208666150817112654.
 22. Ni HM, Woolbright BL, Williams J, Copple B, Cui W, Luyendyk JP et al. Nrf2 Promotes the Development of Fibrosis and Tumorigenesis in Mice with Defective Hepatic Autophagy. *J Hepatol.* 2014; 61: 617–625. doi: 10.1016/j.jhep.2014.04.043.
 23. Eid N, Ito Y, Maemura K, Otsuki Y. Elevated Autophagic Sequestration of Mitochondria and Lipid Droplets in Steatotic Hepatocytes of Chronic Ethanol-Treated Rats: An Immunohistochemical and Electron Microscopic Study. *J Mol Histol.* 2013; 44: 311–326. doi: 10.1007/s10735-013-9483-x.
 24. Ni HM, Bockus A, Boggess N, Jaeschke H, Ding WX. Activation of Autophagy Protects against Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity. *Hepatology.* 2012; 55: 222–232. doi: 10.1002/hep.24690.
 25. Hu C, Zhao L, Shen M, Wu Z, Li L. Autophagy Regulation Is an Effective Strategy to Improve the Prognosis of Chemically Induced Acute Liver Injury Based on Experimental Studies. *J Cell Mol Med.* 2020; 8315–8325. doi: 10.1111/jcmm.15565.
 26. Lin Z, Wu F, Lin S, Pan X, Jin L, Lu T et al. Adiponectin Protects against Acetaminophen-Induced Mitochondrial Dysfunction and Acute Liver Injury by Promoting Autophagy in Mice. *J Hepatol.* 2014; 61: 825–831. doi: 10.1016/j.jhep.2014.05.033.
 27. Baulies A, Ribas V, Núñez S, Torres S, Alarcón-Vila C, Martínez L et al. Lysosomal Cholesterol Accumulation Sensitizes to Acetaminophen Hepatotoxicity by Impairing Mitophagy. *Sci Rep.* 2015; 5. doi: 10.1038/srep18017.
 28. Дятлова АС, Дудков АВ, Линькова НС, Хавинсон ВХ. Молекулярные маркеры каспаза-зависимого и митохондриального апоптоза: роль в развитии патологии и в процессах клеточного старения. *Успехи современной биологии.* 2018; 138 (2): 126–137. Dyatlova AS, Dudkov AV, Linkova NS, Khavinson VKh. Molecular markers of Kaspaza-dependent and mitochondrial apoptosis: the role in the development of pathology and in the processes of cellular aging. *Success of modern biology.* 2018; 138 (2): 126–137. doi: 10.7868/S0042132418020023.
 29. Рыжов СВ, Новиков ВВ. Молекулярные механизмы апоптотических процессов. *Российский биотерапевтический журнал.* 2002; 1 (3): 17–25. Ryzhov SV, Novikov VV. Molecular mechanisms of apoptotic processes. *Russian biotherapeutic magazine.* 2002; 1 (3): 17–25.
 30. Janssen WJ, Henson PM. Cellular regulation of the inflammatory response. *Toxicol Pathol.* 2012; 40 (2): 166–173.
 31. Zitvogel L, Kepp O, Kroemer G. Decoding cell death signals in inflammation and immunity. *Cell.* 2010; 140 (6): 798–804.
 32. Peter C, Wesselborg S, Herrman M, Lauber K. Dangerous attraction: phagocyte recruitment and danger signals of apoptotic and necrotic cells. *Apoptosis.* 2010; 15 (9): 1007–1028.
 33. Creagh EM. Caspase crosstalk: integration of apoptotic and innate immune signaling pathways. *Tren Immunol.* 2014; 35 (12): 631–639.
 34. Льюин Б. Клетки. М.: Бином. Лаборатория знаний, 2011. 951 с. Lewin B. Cells. М.: Binom. Laboratory of Knowledge, 2011. 951 s.
 35. Riedl SJ, Salvesen GS. The Apoptosome: Signalling Platform of Cell Death. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007; 8: 405–413. doi: 10.1038/nrm2153. 35.
 36. Gerlach B, Cordier SM, Schmukle AC, Emmerich CH, Rieser E, Haas TL et al. Linear Ubiquitination Prevents Inflammation and Regulates Immune Signalling. *Nature.* 2011; 471: 591–596. doi: 10.1038/nature09816.36.
 37. O'Donnell MA, Legarda-Addison D, Skountzos P, Yeh WC, Ting AT. Ubiquitination of RIP1 Regulates an NF-KB-Independent Cell-Death Switch in TNF Signaling. *Curr Biol.* 2007; 17: 418–424. doi: 10.1016/j.cub.2007.01.027. 37.
 38. Ashkenazi A, Salvesen G. Regulated Cell Death: Signaling and Mechanisms. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2014; 30: 337–356. doi: 10.1146/annurev-cellbio-100913-013226. 38.
 39. Brenner D, Blaser H, Mak TW. Regulation of Tumour Necrosis Factor Signalling: Live or Let Die. *Nat Rev Immunol.* 2015; 15: 362–374. doi: 10.1038/nri3834.
 40. Голубев АМ, Москалева ЕЮ, Северин СЕ и др. Апоптоз при критических состояниях. *Общая реаниматология.* 2006; 2 (6): 184–190. Golubev AM, Moskaleva EYu, Severin SE et al. Apoptosis at critical states. *Total resuscitation.* 2006; 2 (6): 184–190.
 41. Vandenaabeele P, Galluzzi L, Vanden Berghe T, Kroemer G. Molecular Mechanisms of Necroptosis: An Ordered Cellular Explosion. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2010; 11: 700–714. doi: 10.1038/nrm2970.
 42. Wang S, Pacher P, De Lisle RC, Huang H, Ding WX. A mechanistic review of cell death in alcohol-induced liver injury. *Alcohol Clin Exp Res.* 2016; 40: 1215–1223. doi: 10.1111/acer.13078.
 43. Luedde T, Kaplowitz N, Schwabe RF. Cell death and cell death responses in liver disease: mechanisms and clinical relevance. *Gastroenterology.* 2014; 147: 765–783. doi: 10.1053/j.gastro.2014.07.018.
 44. Schwabe RF, Luedde T. Apoptosis and necroptosis in the liver: a matter of life and death. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2018; 15: 738–752. doi: 10.1038/s41575-018-0065-y.

45. Cahill A, Cunningham CC, Adachi M, Ishii H, Bailey SM, Fromenty B, Davies A. Effects of Alcohol and Oxidative Stress on Liver Pathology: The Role of the Mitochondrion. *Alcohol Clin Exp Res.* 2002; 26: 907–915. doi: 10.1111/j.1530-0277.2002.tb02621.x.
46. Adachi M, Higuchi H, Miura S, Azuma T, Inokuchi S, Saito H et al. Bax Interacts with the Voltage-Dependent Anion Channel and Mediates Ethanol-Induced Apoptosis in Rat Hepatocytes. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2004; 287. doi: 10.1152/ajpgi.00415.2003.
47. Malhi H, Gores GJ. Cellular and Molecular Mechanisms of Liver Injury. *Gastroenterology.* 2008; 134: 1641–1654. doi: 10.1053/j.gastro.2008.03.002.
48. Hartmann P, Seebauer CT, Schnabl B. Alcoholic Liver Disease: The Gut Microbiome and Liver Cross Talk. *Alcohol Clin Exp Res.* 2015; 39: 763–775. doi: 10.1111/acer.12704.
49. Natori S, Rust C, Stadheim LM, Srinivasan A, Burgart LJ, Gores GJ. Hepatocyte Apoptosis Is a Pathologic Feature of Human Alcoholic Hepatitis. *J Hepatol.* 2001; 34: 248–253. doi: 10.1016/S0168-8278(00)00089-1.
50. Hao F, Cubero FJ, Ramadori P, Liao L, Haas U, Lambert D et al. Inhibition of Caspase-8 Does Not Protect from Alcohol-Induced Liver Apoptosis but Alleviates Alcoholic Hepatic Steatosis in Mice. *Cell Death Dis.* 2017; 8: e3152. doi: 10.1038/cddis.2017.532.
51. Wilson CH, Kumar S. Caspases in Metabolic Disease and Their Therapeutic Potential. *Cell Death Differ.* 2018; 25: 1010–1024. doi: 10.1038/s41418-018-0111-x.
52. Roychowdhury S, Chiang DJ, Mandal P, McMullen MR, Liu X, Cohen JI et al. Inhibition of Apoptosis Protects Mice from Ethanol-Mediated Acceleration of Early Markers of CCl₄-Induced Fibrosis but Not Steatosis or Inflammation. *Alcohol Clin Exp Res.* 2012; 36: 1139–1147. doi: 10.1111/j.1530-0277.2011.01720.x.
53. Feldstein AE, Canbay A, Angulo P, Taniai M, Burgart LJ, Lindor KD, Gores GJ. Hepatocyte Apoptosis and Fas Expression Are Prominent Features of Human Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology.* 2003; 125: 437–443. doi: 10.1016/S0016-5085(03)00907-7.
54. Thapaliya S, Wree A, Povero D, Inzaugarat ME, Berk M, Dixon L et al. Caspase 3 Inactivation Protects against Hepatic Cell Death and Ameliorates Fibrogenesis in a Diet-Induced NASH Model. *Dig Dis Sci.* 2014; 59: 1197–1206. doi: 10.1007/s10620-014-3167-6.
55. Hatting M, Zhao G, Schumacher F, Sellge G, Al Msaoudi M, Gäßler N et al. Hepatocyte Caspase-8 Is an Essential Modulator of Steatohepatitis in Rodents. *Hepatology.* 2013; 57: 2189–2201. doi: 10.1002/hep.26271.
56. Barreiro FJ, Holod S, Finocchietto PV, Camino AM, Aquino JB, Avagnina A et al. The Pan-Caspase Inhibitor Emricasan (IDN-6556) Decreases Liver Injury and Fibrosis in a Murine Model of Non-Alcoholic Steatohepatitis. *Liver Int.* 2015; 35: 953–966. doi: 10.1111/liv.12570.
57. Zhao P, Sun X, Chaggaan C, Liao Z, Wong K, He F et al. An AMPK–Caspase-6 Axis Controls Liver Damage in Nonalcoholic Steatohepatitis. *Science.* 2020; 367: 652–660. doi: 10.1126/science.aay0542.
58. Maiers JL, Malhi H. Endoplasmic Reticulum Stress in Metabolic Liver Diseases and Hepatic Fibrosis. *Semin Liver Dis.* 2019; 39: 235–248. doi: 10.1055/s-0039-1681032.
59. Roh YS, Kim JW, Park S, Shon C, Kim S, Eo SK et al. Toll-Like Receptor-7 Signaling Promotes Nonalcoholic Steatohepatitis by Inhibiting Regulatory T Cells in Mice. *Am J Pathol.* 2018; 188: 2574–2588. doi: 10.1016/j.ajpath.2018.07.011.
60. Faubion WA, Guicciardi ME, Miyoshi H, Bronk SF, Roberts PJ, Svingen PA et al. Toxic Bile Salts Induce Rodent Hepatocyte Apoptosis via Direct Activation of Fas. *J Clin Investig.* 1999; 103: 137–145. doi: 10.1172/JCI4765.
61. Harada K, Ozaki S, Gershwin ME, Nakanuma Y. Enhanced Apoptosis Relates to Bile Duct Loss in Primary Biliary Cirrhosis. *Hepatology.* 1997; 26: 1399–1405. doi: 10.1002/hep.510260604.
62. Iwata M, Harada K, Hiramatsu K, Tsuneyama K, Kaneko S, Kobayashi K, Nakanuma Y. Fas Ligand Expressing Mononuclear Cells around Intrahepatic Bile Ducts Co-Express CD68 in Primary Biliary Cirrhosis. *Liver.* 2000; 20: 129–135. doi: 10.1034/j.1600-0676.2000.020002129.x.
63. Canbay A, Higuchi H, Bronk SF, Taniai M, Sebo TJ, Gores GJ. Fas enhances fibrogenesis in the bile duct ligated mouse: a link between apoptosis and fibrosis. *Gastroenterology.* 2002; 123: 1323–1330. doi: 10.1053/gast.2002.35953.
64. Takeda K, Kojima Y, Ikejima K, Harada K, Yamashina S, Okumura K et al. Death Receptor 5 Mediated-Apoptosis Contributes to Cholestatic Liver Disease. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008; 105: 10895–10900. doi: 10.1073/pnas.0802702105.
65. Cubero FJ, Peng J, Liao L, Su H, Zhao G, Eugenio Zoubek M et al. Inactivation of Caspase 8 in Liver Parenchymal Cells Confers Protection against Murine Obstructive Cholestasis. *J Hepatol.* 2018; 69: 1326–1334. doi: 10.1016/j.jhep.2018.08.015.
66. Canbay A, Feldstein A, Baskin-Bey E, Bronk SF, Gores GJ. The Caspase Inhibitor IDN-6556 Attenuates Hepatic Injury and Fibrosis in the Bile Duct Ligated Mouse. *J Pharmacol Exp Ther.* 2004; 308: 1191–1196. doi: 10.1124/jpet.103.060129.
67. Eguchi A, Koyama Y, Wree A, Johnson CD, Nakamura R, Povero D et al. Emricasan, a Pan-Caspase Inhibitor, Improves Survival and Portal Hypertension in a Murine Model of Common Bile-Duct Ligation. *J Mol Med.* 2018; 96: 575–583. doi: 10.1007/s00109-018-1642-9.
68. Lau JYN, Xie X, Lai MMC, Wu PC. Apoptosis and Viral Hepatitis. *Semin Liver Dis.* 1998; 18: 169–176. doi: 10.1055/s-2007-1007152.
69. Kountouras J, Zavos C, Chatzopoulos D. Apoptosis in Hepatitis C. *J Viral Hepat.* 2003; 10: 335–342. doi: 10.1046/j.1365-2893.2003.00452.x.
70. Ehrmann J, Galuszková D, Ehrmann J, Krè I, Jezdinská V, Vojtì Ek B et al. Apoptosis-Related Proteins, BCL-2, BAX, FAS, FAS-L and PCNA in Liver Biopsies of Patients with Chronic Hepatitis B Virus Infec-

- tion. *Pathol Oncol Res.* 2000; 6: 130–135. doi: 10.1007/BF03032363.
71. Luo KX, Zhu YF, Zhang LX, He HT, Wang XS, Zhang L. *In situ* Investigation of Fas/FasL Expression in Chronic Hepatitis B Infection and Related Liver Diseases. *J Viral Hepat.* 1997; 4: 303–307. doi: 10.1046/j.1365-2893.1997.00053.x.
 72. Galluzzi L, Bravo-San Pedro JM, Vitale I, Aaronson SA, Abrams JM, Adam D et al. Essential versus Accessory Aspects of Cell Death: Recommendations of the NCCD 2015. *Cell Death Differ.* 2015; 22: 58–73. doi: 10.1038/cdd.2014.137.
 73. Giorgio V, Von Stockum S, Antoniel M, Fabbro A, Fogolari F, Forte M et al. Dimers of Mitochondrial ATP Synthase Form the Permeability Transition Pore. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013; 110: 5887–5892. doi: 10.1073/pnas.1217823110.
 74. Mitchell JR, Jollow DJ, Potter WZ, Gillette JR, Brodie BB. Acetaminophen Induced Hepatic Necrosis. IV. Protective Role of Glutathione. *J Pharmacol Exp Ther.* 1973; 187: 211–217.
 75. Pumford NR, Hinson JA, Wayne Benson R, Roberts DW. Immunoblot Analysis of Protein Containing 3-(Cysteine-S-Yl) Acetaminophen Adducts in Serum and Subcellular Liver Fractions from Acetaminophen-Treated Mice. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1990; 104: 521–532. doi: 10.1016/0041-008X(90)90174-S.
 76. Ramachandran A, Jaeschke H. Acetaminophen Hepatotoxicity. *Semin Liver Dis.* 2019; 39: 221–234. doi: 10.1055/s-0039-1679919.
 77. Moles A, Torres S, Baulies A, Garcia-Ruiz C, Fernandez-Checa JC. Mitochondrial-Lysosomal Axis in Acetaminophen Hepatotoxicity. *Front Pharmacol.* 2018. doi: 10.3389/fphar.2018.00453.
 78. Bajt ML, Ramachandran A, Yan HM, Lebofsky M, Farhood A, Lemasters JJ, Jaeschke H. Apoptosis-Inducing Factor Modulates Mitochondrial Oxidant Stress in Acetaminophen Hepatotoxicity. *Toxicol Sci.* 2011; 122: 598–605. doi: 10.1093/toxsci/kfr116.
 79. Chen D, Ni HM, Wang L, Ma X, Yu J, Ding WX, Zhang L. P53 Up-Regulated Modulator of Apoptosis Induction Mediates Acetaminophen-Induced Necrosis and Liver Injury in Mice. *Hepatology.* 2019; 69: 2164–2179. doi: 10.1002/hep.30422.
 80. Wang X, Du H, Shao S et al. Cyclophilin D deficiency attenuates mitochondrial perturbation and ameliorates hepatic steatosis. *Hepatology.* 2018; 68: 62–77. doi: 10.1002/hep.29788.
 81. Laker RC, Taddeo EP, Akhtar YN, Zhang M, Hoehn KL, Yan Z. The mitochondrial permeability transition pore regulator cyclophilin D exhibits tissue-specific control of metabolic homeostasis. *PLoS One.* 2016; 11: e0167910. doi: 10.1371/journal.pone.0167910.
 82. Schwabe RF, Luedde T. Apoptosis and necroptosis in the liver: a matter of life and death. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2018; 15: 738–752. doi: 10.1038/s41575-018-0065-y.
 83. Roychowdhury S, McMullen MR, Pisano SG, Liu X, Nagy LE. Absence of receptor interacting protein kinase 3 prevents ethanol-induced liver injury. *Hepatology.* 2013; 57: 1773–1783. doi: 10.1002/hep.26200.
 84. Murphy JM, Vince JE. Post-Translational Control of RIPK3 and MLKL Mediated Necroptotic Cell Death. *FI000Research.* 2015. doi: 10.12688/fi000research.7046.1.
 85. Sun L, Wang H, Wang Z, He S, Chen S, Liao D et al. Mixed Lineage Kinase Domain-like Protein Mediates Necrosis Signaling Downstream of RIP3 Kinase. *Cell.* 2012; 148: 213–227. doi: 10.1016/j.cell.2011.11.031.
 86. Newton K, Manning G. Necroptosis and Inflammation. *Annu Rev Biochem.* 2016; 85: 743–763. doi: 10.1146/annurev-biochem-060815-014830.
 87. Dara L, Liu ZX, Kaplowitz N. Questions and Controversies: The Role of Necroptosis in Liver Disease. *Cell Death Discov.* 2016. doi: 10.1038/cddiscovery.2016.89.
 88. Dara L. The Receptor Interacting Protein Kinases in the Liver. *Semin Liver Dis.* 2018; 38: 73–86. doi: 10.1055/s-0038-1629924.
 89. Kaplowitz N, Win S, Than TA, Liu ZX, Dara L. Targeting Signal Transduction Pathways which Regulate Necrosis in Acetaminophen Hepatotoxicity. *J Hepatol.* 2015; 5–7. doi: 10.1016/j.jhep.2015.02.050.
 90. Günther C, He GW, Kremer AE, Murphy JM, Petrie EJ, Amann K et al. The Pseudokinase MLKL Mediates Programmed Hepatocellular Necrosis Independently of RIPK3 during Hepatitis. *J Clin Investig.* 2016; 126: 4346–4360. doi: 10.1172/JCI87545.
 91. Jouan-Lanhouet S, Arshad MI, Piquet-Pellorce C, Martin-Chouly C, Le Moigne-Muller G, Van Herreweghe F et al. TRAIL Induces Necroptosis Involving RIPK1/RIPK3-Dependent PARP-1 Activation. *Cell Death Differ.* 2012; 19: 2003–2014. doi: 10.1038/cdd.2012.90.
 92. Arshad MI, Piquet-Pellorce C, Filliol A, L'Helgoualc'h A, Lucas-Clerc C, Jouan-Lanhouet S et al. The Chemical Inhibitors of Cellular Death, PJ34 and Necrostatin-1, down-Regulate IL-33 Expression in Liver. *J Mol Med.* 2015; 93: 867–878. doi: 10.1007/s00109-015-1270-6.
 93. Zhou Y, Dai W, Lin C, Wang F, He L, Shen M et al. Protective Effects of Necrostatin-1 against Concavalin A-Induced Acute Hepatic Injury in Mice. *Mediat Inflamm.* 2013; doi: 10.1155/2013/706156.
 94. Hamon A, Piquet-Pellorce C, Dimanche-Boitrel MT, Samson M, Le Seyec J. Intrahepatocytic Necroptosis Is Dispensable for Hepatocyte Death in Murine Immune-Mediated Hepatitis. *J Hepatol.* 2020; 699–701. doi: 10.1016/j.jhep.2020.05.016.
 95. Chen L, Cao Z, Yan L, Ding Y, Shen X, Liu K et al. Circulating Receptor-Interacting Protein Kinase 3 Are Increased in HBV Patients with Acute-on-Chronic Liver Failure and Are Associated with Clinical Outcome. *Front Physiol.* 2020; 11. doi: 10.3389/fphys.2020.00526.
 96. Han L, Teng Y, Fan Y, Gao S, Li F, Wang K. Receptor-Interacting Protein Kinase 3 (RIPK3) mRNA Levels Are Elevated in Blood Mononuclear Cells of Patients with Poor Prognosis of Acute-on-Chronic Hepatitis B Liver Failure. *Tohoku J Exp Med.* 2019; 247: 237–245. doi: 10.1620/tjem.247.237.

97. Orning P, Weng D, Starheim K, Ratner D, Best Z, Lee B et al. Pathogen Blockade of TAK1 Triggers Caspase-8–Dependent Cleavage of Gasdermin D and Cell Death. *Science*. 2018; 362: 1064–1069. doi: 10.1126/science.aau2818.
98. Man SM, Kanneganti TD. Regulation of Inflammasome Activation. *Immunol Rev*. 2015; 6–21. doi: 10.1111/imr.12296.
99. Aachoui Y, Sagulenko V, Miao EA, Stacey KJ. Inflammasome-Mediated Pyroptotic and Apoptotic Cell Death, and Defense against Infection. *Curr Opin Microbiol*. 2013; 319–326. doi: 10.1016/j.mib.2013.04.004.
100. Kelley N, Jeltama D, Duan Y, He Y. The NLRP3 Inflammasome: An Overview of Mechanisms of Activation and Regulation. *Int J Mol Sci*. 2019; 20: 3328. doi: 10.3390/ijms20133328.
101. Wu J, Lin S, Wan B, Velani B, Zhu Y. Pyroptosis in Liver Disease: New Insights into Disease Mechanisms. *Aging Dis*. 2019; 10: 1094–1108. doi: 10.14336/AD.2019.0116.
102. Petrasek J, Iracheta-Vellve A, Saha B, Satishchandran A, Kodys K, Fitzgerald KA et al. Metabolic Danger Signals, Uric Acid and ATP, Mediate Inflammatory Cross-Talk between Hepatocytes and Immune Cells in Alcoholic Liver Disease. *J Leukoc Biol*. 2015; 98: 249–256. doi: 10.1189/jlb.3AB1214-590R.
103. Heo MJ, Kim TH, You JS, Blaya D, Sancho-Bru P, Kim SG. Alcohol Dysregulates MiR-148a in Hepatocytes through FoxO1, Facilitating Pyroptosis via TXNIP Overexpression. *Gut*. 2019; 68: 708–720. doi: 10.1136/gutjnl-2017-315123.
104. Beier JI, Banales JM. Pyroptosis: An Inflammatory Link between NAFLD and NASH with Potential Therapeutic Implications. *J Hepatol*. 2018; 643–645. doi: 10.1016/j.jhep.2018.01.017.
105. Xu B, Jiang M, Chu Y, Wang W, Chen D, Li X et al. Gasdermin D Plays a Key Role as a Pyroptosis Executor of Non-Alcoholic Steatohepatitis in Humans and Mice. *J Hepatol*. 2018; 68: 773–782. doi: 10.1016/j.jhep.2017.11.040.
106. Mehal WZ. The Inflammasome in Liver Injury and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Dig Dis*. 2014; 32: 507–515. doi: 10.1159/000360495.
107. Mridha AR, Wree A, Robertson AAB, Yeh MM, Johnson CD, Van Rooyen DM et al. NLRP3 Inflammasome Blockade Reduces Liver Inflammation and Fibrosis in Experimental NASH in Mice. *J Hepatol*. 2017; 66: 1037–1046. doi: 10.1016/j.jhep.2017.01.022.
108. Williams CD, Farhood A, Jaeschke H. Role of Caspase-1 and Interleukin-1 β in Acetaminophen-Induced Hepatic Inflammation and Liver Injury. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2010; 247: 169–178. doi: 10.1016/j.taap.2010.07.004.
109. Williams CD, Antoine DJ, Shaw PJ, Benson C, Farhood A, Williams DP et al. Role of the Nalp3 Inflammasome in Acetaminophen-Induced Sterile Inflammation and Liver Injury. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2011; 252: 289–297. doi: 10.1016/j.taap.2011.03.001.
110. Zhang C, Feng J, Du J, Zhuo Z, Yang S, Zhang W et al. Macrophage-Derived IL-1 α Promotes Sterile Inflammation in a Mouse Model of Acetaminophen Hepatotoxicity. *Cell Mol Immunol*. 2018; 15: 973–982. doi: 10.1038/cmi.2017.22.
111. Luan J, Zhang X, Wang S, Li Y, Fan J, Chen W et al. NOD-like Receptor Protein 3 Inflammasome-Dependent IL-1 β Accelerated ConA-Induced Hepatitis. *Front Immunol*. 2018; 9. doi: 10.3389/fimmu.2018.00758.
112. Wang J, Ren H, Yuan X, Ma H, Shi X, Ding Y. Interleukin-10 Secreted by Mesenchymal Stem Cells Attenuates Acute Liver Failure through Inhibiting Pyroptosis. *Hepatol Res*. 2018; 48: E194–E202. doi: 10.1111/hepr.12969.
113. Lan P, Fan Y, Zhao Y, Lou X, Monsour HP, Zhang X et al. TNF Superfamily Receptor OX40 Triggers Invariant NKT Cell Pyroptosis and Liver Injury. *J Clin Invest*. 2017; 127: 2222–2234. doi: 10.1172/JCI91075.
114. Maroni L, Agostinelli L, Saccomanno S, Pinto C, Giordano DM, Rychlicki C et al. Nlrp3 Activation Induces IL-18 Synthesis and Affects the Epithelial Barrier Function in Reactive Cholangiocytes. *Am J Pathol*. 2017; 187: 366–376. doi: 10.1016/j.ajpath.2016.10.010.
115. Gong Z, Zhou J, Zhao S, Tian C, Wang P, Xu C et al. Chenodeoxycholic Acid Activates NLRP3 Inflammasome and Contributes to Cholestatic Liver Fibrosis. *Oncotarget*. 2016; 7: 83951–83963. doi: 10.18632/oncotarget.13796.
116. Liao L, Schneider KM, Galvez EJC, Frissen M, Marschall HU, Su H et al. Intestinal Dysbiosis Augments Liver Disease Progression via NLRP3 in a Murine Model of Primary Sclerosing Cholangitis. *Gut*. 2019; 68: 1477–1492. doi: 10.1136/gutjnl-2018-316670.
117. Xu WF, Zhang Q, Ding CJ, Sun HY, Che Y, Huang H et al. Gasdermin E-Derived Caspase-3 Inhibitors Effectively Protect Mice from Acute Hepatic Failure. *Acta Pharmacol Sin*. 2020. doi: 10.1038/s41401-020-0434-2.
118. Serti E, Werner JM, Chattergoon M, Cox AL, Lohmann V, Rehermann B. Monocytes Activate Natural Killer Cells via Inflammasome-Induced Interleukin 18 in Response to Hepatitis C Virus Replication. *Gastroenterology*. 2014; 147. doi: 10.1053/j.gastro.2014.03.046.
119. Yu X, Lan P, Hou X, Han Q, Lu N, Li T et al. HBV Inhibits LPS-Induced NLRP3 Inflammasome Activation and IL-1 β Production via Suppressing the NF-KB Pathway and ROS Production. *J Hepatol*. 2017; 66: 693–702. doi: 10.1016/j.jhep.2016.12.018.
120. Yang WS, Stockwell BR. Ferroptosis: Death by Lipid Peroxidation. *Trends Cell Biol*. 2016; 165–176. doi: 10.1016/j.tcb.2015.10.014.
121. Mao L, Zhao T, Song Y, Lin L, Fan X, Cui B et al. The Emerging Role of Ferroptosis in Non-Cancer Liver Diseases: Hype or Increasing Hope? *Cell Death Dis*. 2020. doi: 10.1038/s41419-020-2732-5.
122. Doll S, Conrad M. Iron and Ferroptosis: A Still Ill-Defined Liaison. *IUBMB Life*. 2017; 69: 423–434. doi: 10.1002/iub.1616.
123. Capelletti MM, Manceau H, Puy H, Peoc'h K. Ferroptosis in Liver Diseases: An Overview. *Int J Mol Sci*. 2020; 21: 4908. doi: 10.3390/ijms21144908.
124. Yang WS, Sriramaratnam R, Welsch ME, Shimada K, Skouta R, Viswanathan VS et al. Regulation of Ferro-

- ptotic Cancer Cell Death by GPX4. *Cell*. 2014; 156: 317–331. doi: 10.1016/j.cell.2013.12.010.
125. Xie Y, Hou W, Song X et al. Ferroptosis: process and function. *Cell Death Differ*. 2016; 23: 369–379. doi: 10.1038/cdd.2015.158.
 126. Zhou Z, Ye TJ, Bonavita G, Daniels M, Kainrad N, Jogasuria A, You M. Adipose-Specific Lipin-1 Overexpression Renders Hepatic Ferroptosis and Exacerbates Alcoholic Steatohepatitis in Mice. *Hepatology Commun*. 2019; 3: 656–669. doi: 10.1002/hep4.1333.
 127. Zhou Z, Ye TJ, DeCaro E, Buehler B, Stahl Z, Bonavita G et al. Intestinal SIRT1 Deficiency Protects Mice from Ethanol-Induced Liver Injury by Mitigating Ferroptosis. *Am J Pathol*. 2020; 190: 82–92. doi: 10.1016/j.ajpath.2019.09.012.
 128. Macías-Rodríguez RU, Inzaugarat ME, Ruiz-Margáin A, Nelson LJ, Trautwein C, Cubero FJ. Reclassifying Hepatic Cell Death during Liver Damage: Ferroptosis—A Novel Form of Non-Apoptotic Cell Death? *Int J Mol Sci*. 2020 Feb 28; 21 (5): 1651. doi: 10.3390/ijms21051651.
 129. Qi J, Kim JW, Zhou Z, Lim CW, Kim B. Ferroptosis Affects the Progression of Nonalcoholic Steatohepatitis via the Modulation of Lipid Peroxidation—Mediated Cell Death in Mice. *Am J Pathol*. 2020; 190: 68–81. doi: 10.1016/j.ajpath.2019.09.011.
 130. Wang M, Liu CY, Wang T, Yu HM, Ouyang SH, Wu YP et al. (+)-Clausenamide Protects against Drug-Induced Liver Injury by Inhibiting Hepatocyte Ferroptosis. *Cell Death Dis*. 2020; 11. doi: 10.1038/s41419-020-02961-5.
 131. Yamada N, Karasawa T, Kimura H, Watanabe S, Komada T, Kamata R et al. Ferroptosis Driven by Radical Oxidation of N-6 Polyunsaturated Fatty Acids Mediates Acetaminophen-Induced Acute Liver Failure. *Cell Death Dis*. 2020; 11. doi: 10.1038/s41419-020-2334-2.
 132. Yamada N, Karasawa T, Takahashi M. Role of Ferroptosis in Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity. *Arch Toxicol*. 2020; 1769–1770. doi: 10.1007/s00204-020-02714-5.
 133. Zeng T, Deng G, Zhong W, Gao Z, Ma S, Mo C et al. Indoleamine 2,3-Dioxygenase 1 enhances hepatocytes Ferroptosis in Acute Immune Hepatitis Associated with Excess Nitrate Stress. *Free Radic Biol Med*. 2020; 152: 668–679. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2020.01.009.
 134. Deng G, Li Y, Ma S, Gao Z, Zeng T, Chen L et al. Caveolin-1 Dictates Ferroptosis in the Execution of Acute Immune-Mediated Hepatic Damage by Attenuating Nitrogen Stress. *Free Radic Biol Med*. 2020; 148: 151–161. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2019.12.026.
 135. Wang Y, An R, Umanah GK et al. A nuclease that mediates cell death induced by DNA damage and poly (ADP-ribose) polymerase-1. *Science*. 2016; 354. doi: 10.1126/science.aad6872. aad6872.
 136. Park EJ, Min KJ, Lee TJ, Yoo YH, Kim YS, Kwon TK. β -Lapachone induces programmed necrosis through the RIP1-PARP-AIF-dependent pathway in human hepatocellular carcinoma SK-Hep1 cells. *Cell Death Dis*. 2014; 5: e1230. doi: 10.1038/cddis.2014.202.
 137. Sun Q, Luo T, Ren Y et al. Competition between human cells by entosis. *Cell Res*. 2014; 24: 1299–1310. doi: 10.1038/cr.2014.138.
 138. Hamann JC, Surcel A, Chen R et al. Entosis is induced by glucose starvation. *Cell Rep*. 2017; 20: 201–210. doi: 10.1016/j.celrep.2017.06.037.
 139. Sierro F, Tay SS, Warren A et al. Suicidal emperipolesis: a process leading to cell-in-cell structures, T cell clearance and immune homeostasis. *Curr Mol Med*. 2015; 15: 819–827. doi: 10.2174/1566524015666151026102143.
 140. Shi J, Zhao J, Zhang X et al. Activated hepatic stellate cells impair NK cell anti-fibrosis capacity through a TGF- β -dependent emperipolesis in HBV cirrhotic patients. *Sci Rep*. 2017; 7: 44544. doi: 10.1038/srep44544.
 141. Hitomi J, Christofferson DE, Ng A et al. Identification of a molecular signaling network that regulates a cellular necrotic cell death pathway. *Cell*. 2008; 135: 1311–1323. doi: 10.1016/j.cell.2008.10.044.
 142. Conos SA, Chen KW, De Nardo D et al. Active MLKL triggers the NLRP3 inflammasome in a cell-intrinsic manner. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2017; 114: E961–E969. doi: 10.1073/pnas.1613305114.
 143. Chung H, Vilaysane A, Lau A et al. NLRP3 regulates a non-canonical platform for caspase-8 activation during epithelial cell apoptosis. *Cell Death Differ*. 2016; 23: 1331–1346. doi: 10.1038/cdd.2016.14.
 144. Маслов ЛН, Нарыжная НВ, Семенов АС, Мухомедзян АВ, Горбунов АС. Влияние посткондиционирования сердца на некроз, апоптоз, онкоз и аутофагию кардиомиоцитов. *Патофизиология и экспериментальная терапия*. 2016; 60 (2): 94–100. Maslov LN, Naryzhnaya NV, Sementsov AS, Mohamoyedzian AV, Gorbunov AS. The influence of the post-conditioning of the heart on necrosis, apoptosis, oncosis and autophagy cardiomyocytes. *Pathophysiology and experimental therapy*. 2016; 60 (2): 94–100.
 145. Kong Z, Liu R, Cheng Y. Artesunate alleviates liver fibrosis by regulating ferroptosis signaling pathway. *Biomed Pharmacother*. 2019 Jan; 109: 2043–2053. doi: 10.1016/j.biopha.2018.11.030.
 146. El-Kashef DH, Abdelrahman RS. Montelukast ameliorates Concanavalin A-induced autoimmune hepatitis in mice via inhibiting TNF- α /JNK signaling pathway. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2020 Apr 15; 393: 114931. doi: 10.1016/j.taap.2020.114931.
 147. Zhang M, Wu P, Li M, Guo Y, Tian T, Liao X, Tan S. Inhibition of Notch1 signaling reduces hepatocyte injury in nonalcoholic fatty liver disease via autophagy. *Biochem Biophys Res Commun*. 2021 Apr 2; 547: 131–138. doi: 10.1016/j.bbrc.2021.02.039.
 148. Peng Z, Liao Y, Wang X, Chen L, Wang L, Qin C et al. Heme oxygenase-1 regulates autophagy through carbon-oxygen to alleviate deoxynivalenol-induced hepatic damage. *Arch Toxicol*. 2020 Feb; 94 (2): 573–588. doi: 10.1007/s00204-019-02649-6.
 149. Yu X, Hao M, Liu Y, Ma X, Lin W, Xu Q et al. Liraglutide ameliorates non-alcoholic steatohepatitis by inhibiting NLRP3 inflammasome and pyroptosis activati-

- on via mitophagy. *Eur J Pharmacol*. 2019 Dec 1; 864: 172715. doi: 10.1016/j.ejphar.2019.172715.
150. Hongming Lv, Liu Y, Zhang B, Zheng Y, Ji H, Li S. The improvement effect of gastrodin on LPS/GaIN-induced fulminant hepatitis via inhibiting inflammation and apoptosis and restoring autophagy. *Int Immunopharmacol*. 2020 Aug; 85: 106627. doi: 10.1016/j.intimp.2020.106627.
151. Zhao S, Liu Y, Pu Z. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes attenuate D-GaIN/LPS-induced hepatocyte apoptosis by activating autophagy *in vitro*. *Drug Des Devel Ther*. 2019 Aug 19; 13: 2887–2897. doi: 10.2147/DDDT.S220190.
152. Pervaiz S, Bellot G L, Lemoine A, Brenner C. Redox signaling in the pathogenesis of human disease and the regulatory role of autophagy. *Int Rev Cell Mol Biol*. 2020; 352: 189–214. doi: 10.1016/bs.ircmb.2020.03.002.
153. Veskovic M, Mladenovic D, Milenkovic M, Tosic J, Borozan S, Gopcevic K et al. Betaine modulates oxidative stress, inflammation, apoptosis, autophagy, and Akt/mTOR signaling in methionine-choline deficiency-induced fatty liver disease. *Eur J Pharmacol*. 2019 Apr 5; 848: 39–48. doi: 10.1016/j.ejphar.2019.01.043.
154. Nasiri-Ansari N, Nikolopoulou C, Papoutsis K, Kyrou I, Mantzoros CS, Kyriakopoulos G et al. Empagliflozin Attenuates Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) in High Fat Diet Fed ApoE^(-/-) Mice by Activating Autophagy and Reducing ER Stress and Apoptosis. *Int J Mol Sci*. 2021 Jan 15; 22 (2): 818. doi: 10.3390/ijms22020818.
155. 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.
156. He YT, Qi YN, Zhang BQ, Li JB, Bao J. Bioartificial liver support systems for acute liver failure: A systematic review and meta-analysis of the clinical and preclinical literature. *World J Gastroenterol*. 2019 Jul 21; 25 (27): 3634–3648. doi: 10.3748/wjg.v25.i27.3634.
157. Weng J, Han X, Zeng F, Zhang Y, Feng L, Cai L et al. Fiber scaffold bioartificial liver therapy relieves acute liver failure and extrahepatic organ injury in pigs. *Theranostics*. 2021; 11 (16): 7620–7639. doi: 10.7150/thno.58515.
158. Шагидулин МЮ, Онищенко НА, Басок ЮБ, Григорьев АМ, Кириллова АД, Немец ЕА и др. Функциональная эффективность клеточно-инженерной конструкции печени на основе тканеспецифического матрикса (экспериментальная модель хронической печеночной недостаточности). *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2020; 22 (4): 89–97. Shagidulin MYu, Onishchenko NA, Basok YuB, Grigoriev AM, Kirillova AD, Nemets EA et al. Functional efficiency of cell-engineered liver constructs based on tissue-specific matrix (experimental model of chronic liver failure). *Russian Journal of Transplantation and Artificial Organs*. 2020; 22 (4): 89–97. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2020-4-89-97>.
159. Онищенко НА, Фоменко ЕВ, Никольская АО, Гоникова ЗЗ, Шагидулин МЮ, Баясин МВ и др. К механизму активации восстановительных процессов в печени при использовании общей РНК клеток костного мозга. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2020; 22 (3): 134–142. Onishchenko NA, Fomenko EV, Nikolskaya AO, Gonikova ZZ, Shagidulin MYu, Balyasin MV et al. Activation of regenerative processes in the liver when using cell-bone marrow total RNA. *Russian Journal of Transplantation and Artificial Organs*. 2020; 22 (3): 134–142. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2020-3-134-142>.

Статья поступила в редакцию 31.01.2022 г.
The article was submitted to the journal on 31.01.2022

DOI: 10.15825/1995-1191-2022-1-89-95

ВЛИЯНИЕ ТРАНСДЕРМАЛЬНОЙ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ИММУНОМОДУЛЯТОРА НА РЕГЕНЕРАЦИОННУЮ АКТИВНОСТЬ ПЕЧЕНИ

Е.Г. Кузнецова, О.М. Курьлева, Л.А. Саломатина, Л.А. Кирсанова, З.З. Гоникова, А.О. Никольская, Н.П. Шмерко, В.И. Севастьянов

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

Введение. На сегодняшний день актуальны вопросы применения иммуномодуляторов для регуляции репаративных процессов в пораженных органах и тканях. Наибольший интерес вызывает процесс восстановления печени после обширной резекции (ОРП) у доноров при родственной трансплантации правой доли печени. Авторы предлагают использовать трансдермальную терапевтическую систему (ТТС) с иммуномодулятором для усиления естественного процесса регенерации ткани печени. **Целью** работы явилось изучение влияния чрескожного введения иммуномодулятора аминодигидрофталазиндиона натрия на раннем сроке восстановительных процессов в печени после ОРП в экспериментах *in vivo*. **Материалы и методы.** В качестве активного вещества в составе ТТС использовали аминодигидрофталазиндион натрия в виде порошка для приготовления раствора для внутримышечного введения (торговое название Галавит[®], ООО «СЭЛВИМ»). Экспериментальная модель обширной резекции печени выполнена на 22 крысах-самцах породы Вистар весом 350–380 г. Все животные после ОРП были разделены на две группы. Первую группу (n = 10) составили животные без лечения. Во второй группе (n = 12) сразу после резекции печени проводили аппликацию ТТС. Продолжительность эксперимента составила 48 часов с однократной заменой ТТС через 24 часа от начала аппликации. **Результаты.** Достоверного различия в массе прироста остатка печени и в биохимических показателях крови на сроке 48 часов после ОРП в обеих группах не обнаружено. Оценка митотического индекса гепатоцитов через 48 часов после ОРП выявила достоверное его увеличение в обеих группах по сравнению с исходным значением (до резекции печени), равным $0,14 \pm 0,07\%$. В первой группе животных величина МИ составила $12,70 \pm 4,9\%$, во второй группе – $17,43 \pm 4,90\%$, ($p \leq 0,05$). **Заключение.** Проведенные исследования регенерационной активности ТТС аминодигидрофталазиндиона натрия на экспериментальной модели ОРП у крыс показали выраженное стимулирующее воздействие данной лекарственной формы на митотическую активность клеток печени.

Ключевые слова: трансдермальная терапевтическая система, аминодигидрофталазиндион натрия, иммуномодулятор, обширная резекция печени, митотический индекс.

Для корреспонденции: Кузнецова Евгения Геннадьевна. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (499) 196-26-61. E-mail: kuzeugenia@gmail.com

Corresponding author: Eugenia Kuznetsova. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (499) 196-26-61. E-mail: kuzeugenia@gmail.com

EFFECT OF TRANSDERMAL IMMUNOMODULATION ON LIVER REGENERATION

E.G. Kuznetsova, O.M. Kuryleva, L.A. Salomatina, L.A. Kirsanova, Z.Z. Gonikova, A.O. Nikolskaya, N.P. Shmerko, V.I. Sevastianov

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

Introduction. The use of immunomodulators to regulate reparative processes in affected organs and tissues remains a pressing issue. Of greatest interest is liver regeneration after extended hepatic resection (EHR) in donors in right lobe living related donor liver transplantation. We propose a transdermal therapeutic system (TTS) with an immunomodulator to enhance the natural process of liver tissue regeneration. **Objective:** to study the effect of transdermal administration of immunomodulator sodium aminodihydrophthalazinedione on early recovery processes in the liver after EHR in *in vivo* experiments. **Materials and methods.** Sodium aminodihydrophthalazinedione was used as an active substance in TTS in the form of powder for preparation of intramuscular injection solution (Galavit[®], SELVIM LLC). An experimental EHR model was performed on 22 male Wistar rats weighing 350–380 g. After HER, all animals were divided into two groups. Group 1 (n = 10) consisted of untreated animals. In group 2 (n = 12), TTS was applied immediately after liver resection. The experiment lasted for 48 hours; the TTS was changed once after 24 hours from the beginning of application. **Results.** In either group, there was no significant difference in the weight of liver remnant gain and in biochemical blood parameters at 48 hours after EHR. Assessment of the mitotic index (MI) of hepatocytes 48 hours after EHR revealed a significant increase in MI in both groups in comparison with the baseline (before liver resection) equal to $0.14 \pm 0.07\%$. The MI in group 1 and group 2 animals was $12.70 \pm 4.9\%$ and $17.43 \pm 4.90\%$, respectively ($p \leq 0.05$). **Conclusion.** Studies on the regenerative activity of sodium aminodihydrophthalazinedione TTS on an experimental EHR model in rats showed that this drug form had a pronounced stimulating effect on the mitotic activity of liver cells.

Keywords: transdermal therapeutic system, sodium aminodihydrophthalazinedione, immunomodulator, extended liver resection, mitotic index.

ВВЕДЕНИЕ

Важная роль в регуляции регенераторных процессов в организме принадлежит иммунной системе, все элементы которой активно участвуют в восстановлении структуры и функции клеток поврежденной ткани. В связи с этим встает вопрос о целесообразности применения иммуномодуляторов (ИМ) для воздействия на репаративные процессы в пораженных органах и тканях [1, 2]. Наибольший интерес вызывает проблема ускоренного восстановления печени после обширной резекции у онкологических больных, а также у доноров при родственной трансплантации правой доли печени [3]. В экспериментальных исследованиях обычно используют модель обширной резекции печени (ОРП). Этот вид операции относится к критической травме, так как при этом удаляют 60% и более общей массы органа и часто возникают клинические проявления острой печеночной недостаточности в постоперационном периоде [3].

В научной литературе описаны исследования положительного влияния однократного введения различных иммуномодуляторов на процесс восстановления тканей печени в эксперименте [1, 4]. Следует отметить, что вопрос о длительности эффекта ИМ при однократном введении остается открытым.

Известно, что митотическая активность гепатоцитов снижена в первые сутки после операции, однако уже на вторые сутки отмечается ее повышение [5]. Максимальная митотическая и функциональная активность гепатоцитов наблюдается между вторыми и пятыми сутками после резекции [5, 6]. Можно предположить, что использование пролонгированной лекарственной формы в виде трансдермальной терапевтической системы позволит усилить естественный процесс регенерации ткани печени за счет поддержания постоянной концентрации ИМ в крови в течение необходимого времени.

Авторами была разработана трансдермальная терапевтическая система, содержащая синтетическое низкомолекулярное лекарственное вещество – аминодигидрофталазиндион натрия (Галавит[®]) [7]. В результате проведенных экспериментов *in vivo* было показано, что применение ТТС Галавит[®] обеспечивает биодоступность иммуномодулятора, равную биодоступности при внутримышечном введении данного лекарственного вещества (ЛВ) в той же дозе. При этом значительно снижается максимальная концентрация ЛВ в крови, но увеличивается время удержания аминодигидрофталазиндиона натрия в организме более чем в 10 раз, что может способствовать пролонгированию лекарственного эффекта [8].

В связи с вышеизложенным *целью* исследования явилось изучение влияния чрескожного введения иммуномодулятора аминодигидрофталазиндиона на раннем сроке восстановительных процессов в печени в экспериментальной модели ОРП.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве активного вещества в ТТС использовали аминодигидрофталазиндион натрия в виде порошка для приготовления раствора для внутримышечного введения (торговое название Галавит[®], ООО «СЭЛВИМ»).

При изготовлении лабораторных образцов ТТС Галавит[®] были использованы вспомогательные вещества и материалы, разрешенные к медицинскому применению.

Работа выполнена на 22 крысах-самцах породы Вистар весом 350–380 г, у которых воспроизводили модель обширной резекции печени. Перед моделированием ОРП оперируемых крыс наркотизировали ингаляционно диэтиловым эфиром. Затем с соблюдением правил асептики и антисептики вскрывали брюшную полость, выводили печень в рану и последовательно накладывали лигатуры на основания срединной, левой боковой и правой верхней долей печени, после чего удаляли ~70% общей массы печени. Операцию всегда проводили в утренние часы (в период с 10 до 12 часов), когда суточный ритм митотической активности клеток печени минимален.

Все животные после обширной резекции печени были разделены на две группы. Первую группу (n = 10) составили животные с ОРП без лечения.

Во второй группе (n = 12) сразу после резекции печени проводили аппликацию ТТС Галавит[®] (10 см²) в области спины крыс на участки кожи с предварительно удаленным волосяным покровом. Каждая ТТС содержала 40 мг ЛВ. Продолжительность эксперимента составила 48 часов с однократной заменой ТТС через 24 часа от начала аппликации.

Для оценки динамики восстановления массы печени у каждого оперированного животного сразу после ОРП взвешивали на электронных весах Ohaus Explorer (Switzerland) удаленную часть печени, которую принимали за 70% от общей массы печени. Затем на основании этих данных рассчитывали исходную массу остатка печени для каждого животного. Далее через 48 часов иссекали оставшуюся часть печени, измеряли ее массу и сравнивали полученные значения с рассчитанной исходной массой остатка печени для данного животного.

Кроме того, определяли биохимические показатели крови: общий белок, альбумин, мочеви́на, креатинин и печеночные ферменты цитолиза: аланиновую аминотрансферазу (АлАТ), аспарагиновую ами-

нотрансферазу (АсАТ) и щелочную фосфатазу (ЩФ). Для этого у крысы под эфирным наркозом надсекали кончик хвоста, пипеткой забирали кровь (28–32 мкл) и наносили ее на тест-полоски Reflotron[™], которые сразу же устанавливали в биохимический анализатор Reflotron[™] (Roche, Швейцария). В качестве контроля была использована кровь интактных животных (n = 4).

Эффективность стимулирующего воздействия чрескожного введения иммуномодулятора на процессы регенерации печени после ОРП оценивали по митотической (пролиферативной) активности гепатоцитов в остатке резецированной печени. Для этого были приготовлены гистологические препараты иссеченной печени с последующим подсчетом в них митотического индекса (МИ) – количество митотически делящихся клеток на 1000 проанализированных клеток. Для каждого образца на гистологическом срезе ткани печени, окрашенном гематоксилином и эозином, при увеличении микроскопа ×400 (Leica LMLS) определяли количество фигур митоза и среднее (общее) количество клеток. Использовали формулу:

$$\text{МИ} = \frac{M}{N} \times 1000,$$

где M – сумма делящихся клеток, N – общее число проанализированных клеток. Митотический индекс выражали в промилле.

Достоверность различия исследуемых показателей в сравниваемых группах оценивали с помощью параметрического t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что после обширной резекции печени происходит процесс восстановления органа до своей исходной массы за счет пролиферации и полиплоидизации гепатоцитов. Отмечено, что отчетливые признаки усиления пролиферативной активности клеток печени после ОРП появляются лишь через 48 часов после выполнения этой операции [9]. Учитывая вышесказанное, оценку влияния чрескожного введения иммуномодулятора на стимулирование регенерации оставшейся части резецированной печени проводили на сроке 48 часов с момента начала аппликации ТТС.

О степени восстановления массы печени крыс в группах 1 и 2 через 48 часов после обширной резекции можно судить по результатам расчетов, представленных в табл. 1.

Как видно из таблицы, прирост массы остатка печени у подопытных животных через 48 часов после резекции составил $43 \pm 10\%$; в группе животных с ОРП и аппликацией ТТС Галавит[®] на таком же сроке – $39 \pm 9\%$. Достоверного различия в массе прироста остатка печени не выявлено.

Влияние иммуномодулятора на процессы восстановления печеночного гомеостаза в организме крыс на сроке 48 часов после ОРП оценивали путем сравнения по группам результатов определения биохимических показателей крови. Результаты исследований крови представлены в табл. 2.

Как видно из таблицы, в обеих группах биохимические показатели крови были достоверно выше, чем в группе интактных животных.

Анализ результатов двух опытных групп показал, что такие биохимические параметры крови, как *общий белок* ($50,5 \pm 2,9$ г/л во второй группе и $52,3 \pm 3,6$ г/л в первой группе) и *альбумин* ($24,1 \pm 2,8$ и $24,9 \pm 2,6$ г/л соответственно), в обеих группах через 48 часов после ОРП практически не различаются.

Уровень *мочевины* во 2-й группе составил $12,1 \pm 14,4$ ммоль/л, в группе 1 – $8,6 \pm 7,4$ ммоль/л, *креатинин* – $62,8 \pm 54,8$ и $49,1 \pm 28,9$ мкмоль/л в исследуемых группах соответственно. Достоверного отличия не выявлено.

Уровень ферментов цитолиза клеток печени (*АлАТ, АсАТ, гамма-ГТ, ЩФ*) в среднем во 2-й (опытной) группе (ОРП + ТТС) был несколько выше и составил $470,3 \pm 225,7$ Ед/л; $830,9 \pm 334,0$ Ед/л; $10,8 \pm 7,1$ Ед/л; $568,1 \pm 193,9$ Ед/л соответственно. В группе 1 значения показателей *АлАТ, АсАТ, гамма-ГТ,*

ЩФ были в среднем ниже: $407,3 \pm 203,5$ Ед/л; $657,5 \pm 225,6$ Ед/л; $6,7 \pm 4,9$ Ед/л; $559,7 \pm 239,5$ Ед/л соответственно. Однако наблюдаемые различия в показателях ферментов цитолиза на сроке 48 часов после ОРП в сравниваемых группах были недостоверны.

Таким образом, при сравнении биохимических показателей крови на сроке 48 часов после ОРП нами не было обнаружено положительного влияния чрескожного введения иммуномодулятора Галавит® на процессы восстановления печеночного гомеостаза в организме крыс.

Влияние применения ТТС иммуномодулятора для ускорения регенерации клеток печени при ОРП на сроке 48 часов удалось обнаружить при сравнении результатов гистологического исследования пролиферации гепатоцитов по определению митотического индекса гепатоцитов (табл. 3).

Исследование митотической активности гепатоцитов печени через 48 часов после ОРП, оцениваемой по митотическому индексу, позволило установить достоверное ее увеличение в обеих группах по сравнению с исходным значением (до резекции печени), равным $0,14 \pm 0,07\%$. Как видно из таблицы, в первой группе животных (ОРП без лечения) величина МИ после 48 часов ОРП в среднем составила $12,70 \pm 4,9\%$, тогда как во второй группе (с аппли-

Таблица 1

Изменение массы печени крыс через 48 часов после обширной резекции
Changes in rat liver weight 48 hours after extended resection

Группа животных	Изыято (~70%), г	Остаток (расчет, ~30%), г	Масса печени (расчетная), г	Остаток (через 48 часов), г	Прирост массы остатка печени, г	Прирост к массе печени, %
Группа 1 (ОРП; n = 10)	$7,77 \pm 0,754$	$3,33 \pm 0,32$	$11,10 \pm 1,06$	$8,08 \pm 1,26$	$4,75 \pm 1,17$	$43,06 \pm 10,49$
Группа 2 (ГЭ + ТТС; n = 12)	$7,16 \pm 1,05$	$3,07 \pm 0,45$	$10,24 \pm 1,50$	$7,00 \pm 0,96$	$3,93 \pm 0,79$	$39,03 \pm 9,30$

Таблица 2

Биохимические показатели крови крыс после ОРП
Biochemical blood parameters of rats after EHR

Биохимические показатели крови	АЛТ, Ед/л	АСТ, Ед/л	Гамма-ГТ, Ед/л	ЩФ, Ед/л	Белок общий, г/л	Альбумин, г/л	Мочевина, ммоль/л	Креатинин, мкмоль/л
Интактная группа (n = 4)								
Среднее	52,6	108,4		184,2	60,8	30,0	7,5	24,7
Стандартное отклонение	6,7	21,0		87,0	1,5	12,0	0,4	3,3
Группа 1 (ОРП; n = 10)								
Среднее	407,3	657,5	6,7	559,7	52,3	24,9	8,6	49,1
Стандартное отклонение	203,5	225,6	4,9	239,5	3,6	2,6	7,4	28,9
Группа 2 (ОРП + ТТС, n = 12)								
Среднее	470,3	830,9	10,8	568,1	50,5	24,1	12,1	62,8
Стандартное отклонение	225,7	334,0	7,1	193,9	2,9	2,8	14,4	54,8

Таблица 3

**Митотический индекс гепатоцитов
через 48 часов после ОРП**

Mitotic index of hepatocytes 48 hours after EHR

Наименование образца / группа	№ гист. образца	МИ, ‰	МИ ср., ‰	Стандартное отклонение
Исходная ткань (n = 5)	2536	0,19	0,14	0,07
	2540	1,54		
	2542	0,14		
	2559	0,11		
	2621	0,05		
Группа 1 (ОРП; n = 10)	2535	10,21	12,70	4,9
	2539	10,80		
	2541	5,38		
	2544	8,37		
	2617	16,4		
	2619	16,8		
	2620	22,08		
	2622	13,26		
	2623	8,82		
Группа 2 (ОРП + ТТС, n = 12)	2537	19,40	17,43	4,9
	2545	10,84		
	2548	7,18		
	2626	25,09		
	2636	21,3		
	2637	12,69		
	2638	17,04		
	2639	17,6		
	2640	19,2		
	2614	17,5		
	2616	24,6		
	2617	13,7		

кацией ТТС Галавит® сразу после ОРП) значение МИ в среднем достоверно выше – $17,43 \pm 4,90\%$, ($p \leq 0,05$). Таким образом, чрескожное введение иммуномодулятора Галавит® оказывало выраженное стимулирующее воздействие на митотическую активность клеток печени.

Найденная закономерность подтверждается результатами сравнительного морфологического анализа гистологических препаратов ткани печени, в которых определяется более высокая митотическая активность гепатоцитов через 2 суток в группе 1 с ОРП (рис. 2) по сравнению с исходной тканью (рис. 1) и более выраженные проявления митотической активности гепатоцитов в группе 2 при аппликации ТТС ИМ (рис. 3).

На рис. 1–3 в качестве примера представлены фотографии гистологических образцов ткани печени крыс: исходной, через 48 часов после ОРП, через 48 часов после ОРП и аппликации ТТС ИМ.

Отметим, что во всех группах животных летальность отсутствовала в течение всего срока эксперимента.

Таким образом, результаты изучения митотической активности гепатоцитов после обширной резекции печени в исследуемых группах животных показали, что ОРП индуцирует пролиферативную активность гепатоцитов, а чрескожное введение иммуномодулятора Галавит® после ОРП оказывает стимулирующее воздействие на пролиферацию гепатоцитов в остатке резецированной печени. Усиление пролиферативной активности гепатоцитов сопровождается адаптивной перестройкой метаболизма

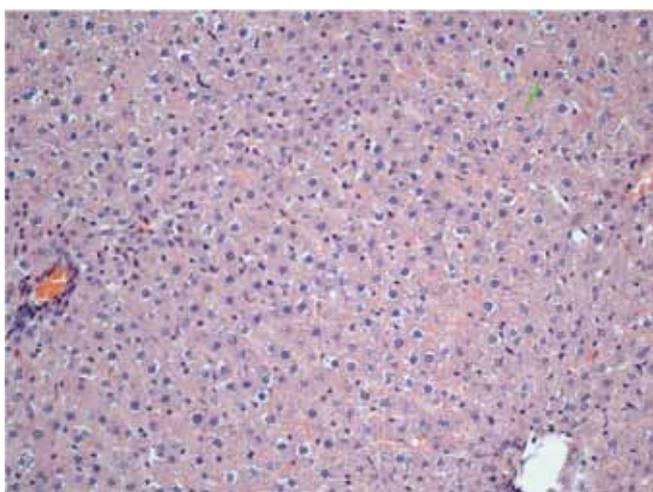


Рис. 1. Гистологическая картина исходной ткани печени крысы. Одиночные фигуры митозов в паренхиме (указано стрелкой). Гематоксилин и эозин. $\times 200$

Fig. 1. Histological picture of the original rat liver tissue. Single figures of mitoses in the parenchyma (indicated by arrow). H&E staining. $\times 200$

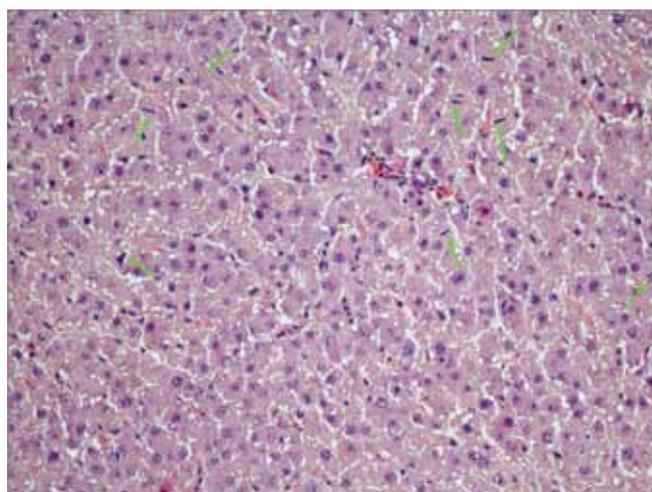


Рис. 2. Митотическая активность гепатоцитов через 48 часов после ОРП. Стрелками указаны гепатоциты в стадии митоза. Гематоксилин и эозин. $\times 200$

Fig. 2. Mitotic activity of hepatocytes 48 hours after EHR. Arrows indicate hepatocytes in the mitosis stage. H&E staining. $\times 200$

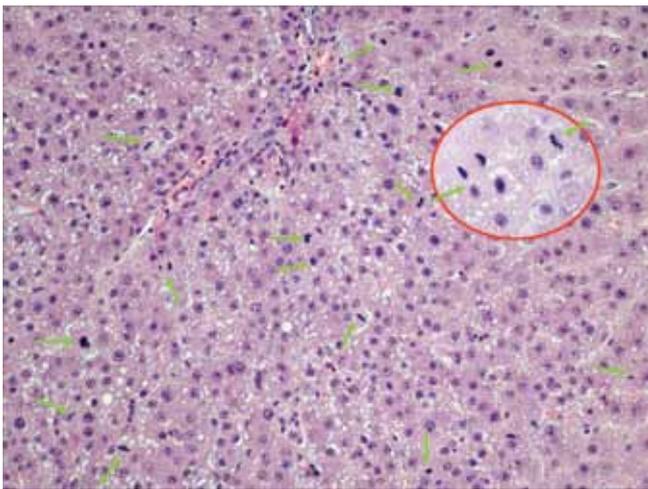


Рис. 3. Митотическая активность гепатоцитов через 48 часов после ОРП и аппликации ТТС иммуномодулятора. Многочисленные фигуры митозов в поле зрения (указано стрелками). Гематоксилин и эозин. $\times 200$ (в выделенной области $\times 400$)

Fig. 3. Mitotic activity of hepatocytes 48 hours after EHR and application of the immunomodulator TTS. Multiple mitoses figures in the field of view (indicated by arrows). H&E staining. $\times 200$ ($\times 400$ in the selected area)

этих клеток, что, по-видимому, и предопределило отсутствие положительного влияния ТТС иммуномодулятора на биохимические показатели печеночного гомеостаза на сроке 48 часов после ОРП.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования регенерационной активности трансдермальной терапевтической системы аминокислотного комплекса натрия на экспериментальной модели обширной резекции печени крыс показали перспективность чрескожного способа введения данного иммуномодулятора, а так же необходимость дальнейшего изучения его влияния на процессы восстановления печени при разных сроках аппликации ТТС.

Авторы выражают благодарность д. м. н. М.Ю. Шагидулину за помощь в проведении хирургических манипуляций с лабораторными животными.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Юшков БГ, Данилова ИГ, Храмова ЮС. Влияние иммуномодуляторов на регенерацию печени. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2006; 69 (1): 53–55. Jushkov BG, Danilova IG, Hramcova JuS. Vlijanie immunomoduljatorov na regeneraciju peche-

- ni. *Jeksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija*. 2006; 69 (1): 53–55. [In Russ]. doi: 10.30906/0869-2092-2006-69-1-53-55.
2. Юшков БГ. Клетки иммунной системы и регуляция регенерации. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (4): 94–105. Jushkov BG. Kletki immunnoj sistemy i reguljacija regeneracii. *Vjulleten' sibirskoj mediciny*. 2017; 16 (4): 94–105. [In Russ]. doi: 10.20538/1682-0363-2017-4-94-105.
3. Гоникова ЗЗ, Никольская АО, Кирсанова ЛА, Шагидулин МЮ, Онищенко НА, Севастьянов ВИ. Сравнительный анализ эффективности стимуляции процессов регенерации печени клетками костного мозга и общей РНК этих клеток. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2019; 21 (1): 113–121. Gonikova ZZ, Nikol'skaja AO, Kirsanova LA, Shagidulin MJu, Onishchenko NA, Sevast'janov VI. Sravnitel'nyj analiz jeffektivnosti stimuljaccii processov regeneracii pecheni kletkami kostnogo mozga i obshhej RNK jetih kletok. *Vestnik transplantologii i iskusstvennyh organov*. 2019; 21 (1): 113–121. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2019-1-113-121.
4. Красовский ВС, Сентюрова ЛГ, Журнаджан СА. Опыт применения «Лайфферона» при травмах печени в эксперименте. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2015; 10 (2): 240–243. Krasovskij VS, Sentjurova LG, Zurnadzhjan SA. Opyt primeneniya «Lajfferona» pri travmah pecheni v jeksperimente. *Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij*. 2015; 10 (2): 240–243. [In Russ, English abstract].
5. Кротова ОА, Гранов ДА, Руткин ИО. Синдром «недостаточного размера печени» после резекции и трансплантации фрагмента печени. *Вестник хирургии им. И.И. Грекова*. 2012; 171 (3): 113–116. Krotova OA, Granov DA, Rutkin IO. Sindrom «nedostatochnogo razmera pecheni» posle rezekcii i transplantacii fragmenta pecheni. *Vestnik hirurgii im. I.I. Grekova*. 2012; 171 (3): 113–116. [In Russ].
6. Андреев АА, Остроушко АП, Лантчиева АЮ, Глухов АА. Репаративная регенерация печени после сегментарной резекции (литературный обзор). *Аспирантский вестник Поволжья*. 2018; 18 (5–6): 183–190. Andreev AA, Ostroushko AP, Laptijeva AJu, Gluhov AA. Reparativnaja regeneracija pecheni posle segmentarnoj rezekcii (literaturnyj obzor). *Aspirantskij vestnik Povolzh'ja*. 2018; 18 (5–6): 183–190. [In Russ, English abstract]. doi: 10.17816/2072-2354.2018.18.3.183-190.
7. Кузнецова ЕГ, Курьева ОМ, Саломатина ЛА, Севастьянов ВИ. Экспериментальное исследование диффузии иммуномодулятора Галавит® в модельной системе. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2020; 9 (1): 92–97. Kuznecova EG, Kuryleva OM, Salomatina LA, Sevast'janov VI. Jeksperimental'noe issledovanie diffuzii immunomoduljatora Galavit® v model'noj sisteme. *Razrabotka i registracija lekarstvennyh sredstv*. 2020; 9 (1): 92–97. [In Russ, Eng-

lish abstract]. doi: 10.33380/2305-2066-2020-9-1-92-97.

8. Кузнецова ЕГ, Курьлева ОМ, Саломатина ЛА, Курсаков СВ, Гоникова ЗЗ, Никольская АО и др. Сравнительный анализ фармакокинетических параметров трансдермального и внутримышечного введений препарата Галавит®. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2021; 23 (2): 114–121. Kuznecova EG, Kuryleva OM, Salomatina LA, Kursakov SV, Gonikova ZZ, Nikol'skaja AO et al. Sravnitel'nyj analiz farmakokineticheskikh parametrov transdermal'nogo i vnutrimyshechnogo vvedenij preparata Galavit®. *Vestnik transplantologii i iskusstvennyh organov*. 2021; 23 (2): 114–121. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2021-2-114-121.
9. Ельчанинов АВ, Фатхудинов ТХ, Макаров АВ, Глинкина ВВ, Большакова ГБ. Регенерация печени млекопитающих. *Клиническая и экспериментальная морфология*. 2012; 4: 57–61. El'chaninov AV, Fathudinov TH, Makarov AV, Glinkina VV, Bol'shakova GB. Regeneracija pečeni mlekopitajushhih. *Klinicheskaja i jeksperimental'naja morfologija*. 2012; 4: 57–61. [In Russ, English abstract].

Статья поступила в редакцию 25.01.2022 г.
The article was submitted to the journal on 25.01.2022

УВАЖАЕМЫЕ ЧИТАТЕЛИ!

Подписку на журнал «Вестник трансплантологии и искусственных органов» можно оформить в ближайшем к вам почтовом отделении.

Подписной индекс нашего издания нашего издания в каталоге «Газеты и журналы» – **80248**



Ф. СП-1	ВЕСТНИК ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ		80248 (индекс издания)								
			количество комплектов								
на 2022 год по месяцам											
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Куда											
(почтовый индекс)		(адрес)									
Кому											
(фамилия, инициалы)											
Ф. СП-1			ДОСТАВОЧНАЯ КАРТОЧКА								
			на журнал 80248 (индекс издания)								
ПВ	место	ли-тер									
ВЕСТНИК		ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ									
стоимость	подписки	руб.	коп.								
	пере-адресовки	руб.	коп.								
на 2022 год по месяцам											
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Куда											
(почтовый индекс)		(адрес)									
Кому											
(фамилия, инициалы)											

DOI: 10.15825/1995-1191-2022-1-96-106

СТРУКТУРНАЯ ДЕГЕНЕРАЦИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОТЕЗОВ КЛАПАНОВ СЕРДЦА: ИМЕЮТСЯ ЛИ ОБЩИЕ МЕХАНИЗМЫ С АТЕРОСКЛЕРОЗОМ И КАЛЬЦИНИРУЮЩИМ АОРТАЛЬНЫМ СТЕНОЗОМ?

А.Е. Костюнин

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация

Современные исследования показывают, что некоторые из патогенетических процессов, стоящих за структурным разрушением биопротезов клапанов сердца, в значительной мере сходны с таковыми, задействованными при развитии атеросклеротических поражений сосудов и кальцификации нативных клапанов. К их числу относится липидная и лейкоцитарная инфильтрация, характерная как для протезных, так и для нативных тканей. Эти процессы сопровождаются формированием пенистых клеток, избыточной продукцией матрикс-разрушающих ферментов и усилением окислительного стресса. Данный факт позволяет выдвинуть предположение, что некоторые подходы консервативной терапии атеросклероза могут быть полезны для продления сроков функционирования биопротезов клапанов.

Ключевые слова: биопротезы клапанов сердца, структурная дегенерация клапана, атеросклероз, кальцинирующий аортальный стеноз, консервативная терапия, патофизиология, факторы риска.

STRUCTURAL VALVE DEGENERATION: ARE THERE COMMON MECHANISMS WITH ATHEROSCLEROSIS AND CALCIFIC AORTIC STENOSIS?

A.E. Kostyunin

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation

Current research shows that some of the pathogenetic processes behind structural destruction of bioprosthetic valves are largely similar to those involved in the development of atherosclerotic vascular lesions and native valve calcification. These processes include lipid and leukocyte infiltration, typical for both prosthetic and native tissues. They are accompanied by formation of foam cells, excessive production of matrix-degrading enzymes and increased oxidative stress. This fact suggests that some approaches to conservative treatment of atherosclerosis may be useful for prolonging the lifespan of bioprosthetic valves.

Keywords: bioprosthetic heart valves, structural valve degeneration, atherosclerosis, calcific aortic stenosis, conservative therapy, pathophysiology, risk factors.

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день основным способом коррекции тяжелых клапанных пороков сердца является протезирование пораженных клапанов [1–3]. По разным оценкам, в мире ежегодно выполняют от 250 до 400 тыс. таких операций [4–7], в России – порядка 10 тыс. [8]. При этом наблюдается общемировая тенденция к увеличению числа вмешательств

на клапанном аппарате сердца, которая связана с повышением доступности хирургической помощи в развивающихся странах, а также старением населения стран Запада, сопровождаемым ростом распространенности приобретенных пороков клапанов [7]. Согласно прогнозам, к 2050 году количество операций протезирования клапанов сердца может достичь отметки в 850 тыс. в год [4]. В качестве заменителей

Для корреспонденции: Костюнин Александр Евгеньевич. Адрес: 650002, Кемерово, Сосновый бульвар, 6. Тел. (900) 108-10-97. E-mail: rhabdophis_tigrina@mail.ru

Corresponding author: Alexander Kostyunin. Address: 6, Sosnovy Boulevard, Kemerovo, 650002, Russian Federation. Phone: (900) 108-10-97. E-mail: rhabdophis_tigrina@mail.ru

нативных клапанов используют механические (МПК) и биологические протезы (БПК) [9, 10]. Бесшумность работы, оптимальные гемодинамические параметры и низкая тромбогенность выгодно отличают БПК от МПК [10]. Вместе с тем БПК имеют существенный недостаток, заключающийся в ограниченности периода их функционирования, что обусловлено возникновением дегенеративных изменений в протезном биоматериале с течением времени [9, 10]. В англоязычной литературе это явление получило название structural valve degeneration – структурная дегенерация клапана (СДК) [11, 12]. Из-за развития СДК от 20 до 50% классических каркасных БПК требуют замены уже через 15 лет после имплантации [6]. Причем более быстрые темпы развития СДК прямо коррелируют с более молодым возрастом пациента [5, 6]. Данная особенность БПК предопределяет потребность в операциях репротезирования и является существенным ограничением для широкого применения медицинских изделий этого типа, особенно у молодых лиц [1–3].

Важно подчеркнуть, что механизмы, ответственные за развитие СДК, изучены слабо и пока плохо понятны. Еще 15–20 лет назад многие исследователи считали, что за разрушением и кальцификацией биологической составляющей БПК стоят исключительно пассивные физические и химические процессы [13–15], однако в настоящее время эти взгляды рассматривают как упрощенные [16]. Результаты многочисленных оригинальных исследований, проведенных в течение последних двух десятилетий, подразумевают, что значимый вклад в дегенерацию биологических тканей БПК может вносить иммунный ответ реципиента. Таким образом, сегодня исследователи все чаще рассматривают СДК как активный клеточно-регулируемый процесс [9, 17], патофизиология которого отчасти напоминает таковую атеросклероза и кальцификации нативных аортальных клапанов (АК) [6, 18, 19].

С учетом сложившейся в последние десятилетия тенденции к увеличению доли БПК, используемых в мировой хирургической практике [4, 20], возрастает потребность в поиске методов снижения темпов развития СДК, выступающей в качестве главной причины их дисфункций. При этом концепция СДК как активного клеточно-регулируемого процесса открывает новые возможности в сфере разработки способов модификации применяемого для клапанного протезирования ксенобиоматериала, а также медикаментозного сопровождения прооперированных пациентов с целью профилактики раннего отказа и увеличения сроков функционирования БПК. Таким образом, настоящий обзор сконцентрирован на анализе актуальной информации о патофизиологии СДК и сходстве стоящих за ней механизмов с таковыми, ответственными за развитие атеросклероза

за и кальцинирующего аортального стеноза (КАС). Также рассмотрены последние достижения в сфере разработки методов уменьшения иммунного ответа на ткани БПК.

СДК, АТЕРОСКЛЕРОЗ И КАС: ЧТО ОБЩЕГО?

Как известно, атеросклероз и КАС разделяют многие общие факторы риска, такие как возраст, курение, гипертония, метаболический синдром, сахарный диабет и гиперхолестеринемия [21, 22]. Результаты ряда клинических исследований также указывают на связь последних с СДК и ухудшением гемодинамических параметров БПК, обусловленных дегенерацией протезного биоматериала [23–27]. Учитывая наличие общих факторов риска между СДК, атеросклерозом и КАС, можно предположить, что данные патологические состояния отчасти реализуются через похожие механизмы.

Атеросклероз и КАС являются медленно прогрессирующими хроническими воспалительными заболеваниями, которые характеризуются накоплением липидов и активацией процессов неадаптивного ремоделирования архитектуры внеклеточного матрикса в пораженных участках сосудистой стенки и створках АК соответственно [28]. В качестве ключевых гистопатологических событий, объединяющих патогенезы атеросклероза и КАС, выступают интенсивная липидная и лейкоцитарная инфильтрации, сопровождаемые формированием пенных клеток, которые представляют собой нагруженные липидами макрофаги [28–33]. Посредством выделения провоспалительных цитокинов макрофаги и пенные клетки индуцируют чрезмерную активацию резидентных гладкомышечных клеток (ГМК) сосудов и вальвулярных интерстициальных клеток (ВИК) клапанов, что становится главной движущей силой патологических изменений, наблюдаемых при развитии рассматриваемых заболеваний [28–33].

В свою очередь, СДК представляет собой процесс постепенного и необратимого разрушения биологической составляющей БПК, по-видимому, обусловленный в основном пассивными клеточно-независимыми механизмами [14, 15]. На микроструктурном уровне СДК проявляется главным образом расслоением, фрагментацией и кальцификацией коллагеновых и эластиновых фибрилл внеклеточного матрикса, на макроструктурном – перфорациями, отрывами и/или минерализацией створок, что в конечном итоге становится причиной дисфункции протеза из-за стенозирования и/или транспротезной регургитации [11, 12]. Впрочем, как и пораженные участки сосудов и нативных клапанов, ткани имплантируемых БПК подвержены инфильтрации иммунными клетками, среди которых макрофаги являются преобладающим типом [34–41]. Также некоторые авторы отмечают присутствие в эксплантационных по причине дис-

функций БПК липидных пятен и пенистых клеток [34, 41, 42], что является ключевым признаком атерогенных процессов. Нужно отметить, что клеточные и липидные инфильтраты в БПК обычно солюкализованы с участками поврежденного или кальцинированного матрикса.

Хотя первостепенная роль липидов и иммунных клеток (в частности, макрофагов и пенистых клеток) в прогрессировании атеросклероза и КАС в целом понятна [28–33], их вклад в дегенерацию БПК во многом неясен. По-видимому, макрофаги и другие иммунные клетки могут способствовать дополнительному разрушению и кальцификации протезного биоматериала через несколько механизмов. В частности, макрофаги и пенистые клетки способны продуцировать множество матрикс-деградирующих ферментов, включающих практически весь спектр матриксных металлопротеиназ (ММП) и катепсины В/К/Л/С/В [43–46]. Повышенная экспрессия ряда ММП и катепсинов отмечена в удаленных атеросклеротических бляшках [47] и стенозированных АК [29], однако БПК на предмет присутствия протеолитических ферментов в их тканях практически не изучались. Тем не менее установлено, что инфильтрирующие БПК макрофаги и пенистые клетки активно секретируют ММП-9 [41] и профермент плазминоген [40]. Показано, что эксплантированные из-за разрывов створок некальцинированные перикардальные БПК демонстрируют более высокое содержание ММП-9 по сравнению с кальцинированными протезами и интактным перикардом крупного рогатого скота (КРС) [48]. Также известно, что активированные макрофаги и гранулоциты создают высокие концентрации реактивных форм кислорода (РФК) в окружающем пространстве, достаточные для того, чтобы вызывать повреждение ДНК и гибель совместно культивируемых моноцитов [49]. Как и в случае с атеросклеротическими бляшками и кальцинированными створками АК [28, 29], РФК провоцируют усиление оксидативного стресса в дегенерирующих тканях БПК и инфильтрирующих их иммунных клетках, предположительно способствуя окислительному повреждению протезного биоматериала [50, 51] и его дистрофической кальцификации, частично обусловленной минерализацией апоптировавших макрофагов [40]. Наконец, макрофаги могут продуцировать кальций-связывающие белки, в частности остеокальцин и остеоонектин [52, 53], а также производить пузырьки, напоминающие выделяемые костными остеобластами матричные везикулы, что опосредуют биоминерализацию костной ткани [54, 55]. Важно отметить, что иммуногистохимическим методом в тканях эксплантированных БПК был выявлен ряд неколлагеновых белков костного матрикса, в том числе остеокальцин, остеоонектин и остеокальцин, причем паттерн окрашивания данных

протеинов совпадал с расположением макрофагальных скоплений и кальциевых депозитов, а уровни их экспрессии положительно коррелировали со степенью клеточной инфильтрации и кальцификацией створок [56]. Опять же, данная картина во многом напоминает таковую при минерализации нативных АК [57, 58].

Изучение створок БПК посредством иммуногистохимического окрашивания показало, что обнаруживаемые в них липидные отложения состоят главным образом из окисленных липопротеинов низкой плотности (окЛПНП) [41, 42], что также характерно и для пораженных атеросклерозом сосудов, и для створок кальцинированных АК [28–33]. Вклад окЛПНП в развитие СДК и формирование дисфункций БПК до сих пор неизвестен. Потенциально липидная инфильтрация створок БПК может ускорять их дегенерацию, стимулируя воспалительную активацию инфильтрирующих имплантаты макрофагов, формирование пенистых клеток и усиление продукции ими протеолитических ферментов. Экспериментальные данные подтверждают эту гипотезу: результаты иммуногистохимического окрашивания тканей эксплантированных БПК показывают, что проникающие в них макрофаги в присутствии окЛПНП экспрессируют высокие уровни ММП-9, чего не наблюдается в образцах без выраженной липидной инфильтрации [41]. Эти выводы хорошо согласуются с результатами исследований, указывающих на важную роль окЛПНП в стимуляции секреции ММП иммунными клетками [59–63]. Также известно, что окЛПНП усиливают продукцию макрофагами различных провоспалительных цитокинов и хемокинов, например, интерлейкинов-1 β /-6/-8, фактора некроза опухоли альфа, моноцитарного хемоаттрактантного белка-1, макрофагальных воспалительных протеинов и др. [32, 62–64]. Выброс цитокинов и хемоаттрактантных молекул может способствовать привлечению новых иммунных клеток в очаг воспаления, хотя данный процесс на примере тканей БПК не изучался.

Примечательно, что результаты клинических исследований выявляют связь между дегенерацией БПК и нарушениями липидного обмена. В частности, было обнаружено, что риск более раннего развития СДК выше у пациентов с увеличенными долями ЛПНП и аполипопротеина В по отношению к липопротеинам высокой плотности и аполипопротеину А-I соответственно [65, 66]. Кроме того, повышенные циркулирующие уровни пропротеиновой конвертазы субтилизин-кексинового типа 9 также коррелируют с более быстрым развитием СДК и ухудшением гемодинамических характеристик БПК [66, 67]. Наконец, с дегенерацией БПК, по-видимому, связан продуцируемый макрофагами и/или переносимый ЛПНП фермент – липопротеин-ассоциированная фосфолипаза А2 (Лп-ФЛА2) [42]. Как известно, Лп-ФЛА2

задействована в развитии и атеросклероза, и КАС, усиливая воспаление и кальцификацию нативных тканей за счет генерации таких провоспалительных, проапоптотических и проостеогенных медиаторов, как лизофосфатидилхолин и окисленные жирные кислоты [29, 68].

Вероятно, еще один механизм может объединять патогенезы СДК и КАС. Установлено, что степень и скорость прогрессии кальцификации нативных АК коррелирует с наличием в тканях клапана внутрисердечных кровоизлияний (ВСК) [69], при этом участки с ВСК обычно сококализованы с кальциевыми депозитами [70, 71]. Взаимосвязь между ВСК и минерализацией АК изучена слабо [72]. Предполагается, что усилению кальцификации способствует накопление в матриксе железа, которое происходит из погибших эритроцитов и индуцирует дифференцировку ВИК в остеобластоподобные клетки через повышение оксидативного стресса [72]. Недавно группой исследователей из Китая было отмечено, что в створках эксплантированных БПК также присутствуют отложения эритроцитарного железа, сококализованные с участками минерализованного матрикса [73]. Вероятно, накапливаемое в БПК железо способствует генерации РФК через окислительно-восстановительные реакции Фентона и Габера–Вейса и последующей окислительно-обусловленной дегенерации протезного биоматериала [50, 51]. Кроме того, фрагменты диффундирующих в разрыхленные ткани и затем погибающих в них эритроцитов могут служить ядрами нуклеации фосфатов кальция.

Некоторая общность характерных для СДК патологических черт с таковыми других воспалительных заболеваний сердечно-сосудистой системы прослеживается и в результатах, полученных группой, работавшей под руководством доктора Д. Сковасча (Skowasch et al.) [74]. Проведенные исследования показали повышенную экспрессию С-реактивного белка (СРБ) инфильтрирующими БПК клетками, причем наблюдалась положительная корреляция между уровнями СРБ в дегенерирующих тканях БПК и таковыми в сыворотке крови [74]. Помимо вышеописанных в развитии СДК могут быть задействованы и другие механизмы, свойственные патогенезам атеросклероза и КАС. Например, за усиление оксидативного стресса, и как следствие, воспалительных и фибропролиферативных процессов в пораженных сосудах и АК во многом ответственны активация ренин-ангиотензин-альдостероновой системы [75–77] и накопление аутоксина [78]. Предположительно эти же факторы могут иметь значение и при развитии СДК, однако их вклад в процессы дегенерации БПК еще не был изучен.

СДК, АТЕРОСКЛЕРОЗ И КАС: ПРИНЦИПИАЛЬНЫЕ РАЗЛИЧИЯ

Несмотря на очевидное сходство ряда процессов, объединяющих патофизиологию СДК, атеросклероза и КАС, они имеют заметные различия. Наиболее важным из них является отсутствие фибропролиферативного ответа на воспалительную инфильтрацию со стороны тканей БПК, поскольку в них обычно нет живых клеток мезенхимального ряда, которые могли бы его опосредовать. Возможным исключением являются лишь гомовитальные аллогенные клапанные кондуиты, в тканях которых присутствуют значительные популяции эндотелиальных клеток, ГМК и ВИК донорского происхождения. Также живые клетки в аллографтах могут сохраняться после обработки антибиотиками и криоконсервации, хотя их количество в этом случае обычно невелико [79, 80]. Небольшие скопления клеток с эндотелиальным и фибробластным фенотипом были выявлены и в ксеногенных БПК [39, 81, 82], однако в современной литературе не описано примеров, когда их численность была бы сопоставима с таковой в нативных тканях.

Гипотетически фиброзирование и окостенение створок БПК, контролируемые соответственно миофибробластами и остеобластоподобными клетками, могут иметь место при развитии СДК [6], причем для этого в тканях БПК как минимум имеются все необходимые компоненты [83]. Тем не менее кажется крайне маловероятным, чтобы небольшая популяция мезенхимальных клеток могла вносить такой вклад в фиброзное и/или остеогенное ремоделирование матрикса протезной биоткани, который был бы заметен на фоне пассивных дегенеративно-дистрофических процессов. Данные современных исследований подтверждают эти взгляды. Так, группе ученых из Японии не удалось обнаружить в эксплантированных БПК клеток с фенотипами миофибробластов или ГМК, тогда как фиброз и минерализация их створок, по-видимому, были связаны с депонированием фибриногена из плазмы крови и апоптозом макрофагов [40]. Другой научной группой была предпринята попытка изучить экспрессию компонентов цитокиновой системы OPG/RANKL/RANK в тканях эксплантированных БПК (последняя, как известно, ответственна за остеогенную дифференцировку клеток в нативных АК), по результатам которой было показано, что эта система не вовлечена в развитие СДК [84].

Еще одно важное отличие СДК от атеросклероза и КАС заключается в триггерах, запускающих процессы аккумуляции липидов и лейкоцитарную инфильтрацию. Так, в качестве основной причины развития патологических изменений в пораженных сосудах и АК выступает эндотелиальная дисфункция, сопровождаемая изменением секреторного профиля

эндотелиального слоя и/или его частичной утратой [28, 29]. Из-за этого в субэндотелиальное пространство и более глубокие слои сосудистой стенки или створок начинают проникать ЛПНП. Окисляясь, они провоцируют развитие интенсивной асептической воспалительной реакции с дальнейшим рекрутированием иммунных клеток. За исключением гомовитальных аллогенных клапанных кондуитов БПК лишены эндотелиальной выстилки (хотя на их поверхности могут встречаться небольшие реэндотелизованные участки [40]), таким образом, рассматриваемый механизм не может быть задействован в их случае. Анализ современных литературных источников показывает, что главным триггером воспалительной инфильтрации ксеногенных БПК, вероятнее всего, являются остаточные ксеногликаны, концевые звенья полисахаридных цепочек которых представлены такими сахарами, как галактоза- α -1,3-галактоза и N-гликолиллейраминаовая кислота [85]. В то же время основным триггером иммунного ответа на аллогенные клапанные заменители, по-видимому, выступают остаточные молекулы человеческого лейкоцитарного антигена [86–88]. Липидная инфильтрация ЛПНП при этом вторична по отношению к макрофагальной [41, 83].

Основываясь на вышесказанном, следует заключить, что в отличие от атеросклероза и КАС развитие СДК вряд ли может опосредоваться резидентными или пришлыми клетками мезенхимального ряда. Таким образом, за клеточно-опосредованную деградацию БПК ответственны иммунные клетки, в первую очередь макрофаги. При этом основным триггером воспалительной инфильтрации и ксеногенных, и аллогенных БПК служат чужеродные углеводные и белковые молекулы, что позволяет рассматривать стоящие за СДК активные процессы не как атеросклерозоподобный процесс, а скорее как один из вариантов хронического отторжения имплантатов [9, 17], для которого присущи некоторые черты атеросклеротического поражения. Сравнительная характеристика СДК, атеросклероза и КАС приведена в таблице.

ТЕРАПИЯ АТЕРОСКЛЕРОЗА В ТОРМОЖЕНИИ РАЗВИТИЯ СДК

К настоящему моменту не существует методов консервативной терапии, которые позволили бы замедлить развитие СДК. Тем не менее частичное сходство между СДК и атеросклерозом предполагает, что противоатеросклеротические препараты могут быть эффективными для торможения процессов дегенерации БПК. Ранее некоторые авторы полагали, что лучшие клинические результаты могут быть достигнуты при помощи гиполипидемической терапии у пациентов с соответствующими показаниями [89]. Результаты двух маломасштабных ретроспективных

исследований продемонстрировали меньшие темпы увеличения пиковой скорости потока, уменьшения эффективной площади открытия клапана и усиления регургитации у пациентов с БПК, принимавших статины, по сравнению с пациентами в контрольной группе [90, 91]. В другом исследовании прием статинов способствовал снижению уровней СРБ в плазме крови у пациентов с БПК, что указывает на их противовоспалительное действие [74]. Однако результаты последнего и самого крупного на сегодня обсервационного исследования, включающего данные по 1193 пациентам, не показали любых клинических преимуществ гиполипидемической терапии в замедлении СДК для БПК в аортальной позиции через 1, 5 и 10 лет после имплантации [92]. В связи с этим к применению статинов для профилактики раннего отказа БПК стали относиться скептически [92, 93].

На сегодняшний день все еще нельзя сделать окончательный вывод об эффективности статинов в замедлении развития СДК ввиду ограниченного числа исследований и противоречивости их результатов. Существует вероятность, что гиполипидемическая терапия может быть эффективной лишь для части пациентов, например молодых лиц, чья иммунная система более реактивна, а процессы дегенерации БПК предположительно в большей степени связаны с их клеточной инфильтрацией, нежели усталостным разрушением протезного биоматериала. Так, по данным группы доктора Г. Ноллerta (Nollert et al.) [27], высокий уровень холестерина и триглицеридов, а также курение сигарет коррелируют с ускоренной дегенерацией БПК у пациентов в возрасте 57 лет и моложе, тогда как у пациентов старше 57 лет такой связи не наблюдается. При этом нужно отметить, что в обсервационное исследование 2010 года были включены пациенты старше 63 лет [92].

ДРУГИЕ ПУТИ УМЕНЬШЕНИЯ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА НА БПК

Поскольку СДК отчасти напоминает хроническое иммунное отторжение живых трансплантатов органов и тканей, логично предположить, что полезной для замедления дегенерации БПК может стать иммуносупрессивная терапия. Данная гипотеза подтверждается опытами на лабораторных животных. В частности, эксперименты с имбредными крысами показали прямую зависимость между интенсивностью воспаления и степенью кальцификации имплантированных им аортальных клапанов морских свинок, обработанных глутаровым альдегидом, а также уменьшение воспалительного ответа и степени дегенерации имплантатов при использовании стероидов [94]. Ряд клинических наблюдений также свидетельствует о том, что длительное применение кортикостероидов снижает темпы кальцификации

БПК у молодых пациентов [95, 96]. Впрочем, иммуносупрессивную терапию вряд ли можно считать жизнеспособным вариантом: из-за значительных побочных эффектов эта стратегия неприменима для

большинства пациентов с БПК. Кроме того, эффективность иммуносупрессии в отношении торможения дегенерации БПК не была проверена клиническими испытаниями.

Таблица

Сравнительная характеристика некоторых патофизиологических черт между структурной дегенерацией биологической составляющей протезов клапанов сердца, атеросклерозом и кальцинирующим аортальным стенозом

Comparative characteristics of some pathophysiological features between SVD, atherosclerosis and CAS

Признак	Структурная дегенерация клапана	Атеросклероз	Кальцинирующий аортальный стеноз
Присутствие воспалительных клеточных инфильтратов	Присутствуют, но далеко не во всех случаях	Присутствуют всегда	Присутствуют всегда
Отложение окисленных липопротеинов низкой плотности и формирование пенистых клеток	Отмечено несколькими исследователями группами, но, по-видимому, редко сопровождается клеточную инфильтрацию протезных биотканей	Ключевой признак заболевания	Ключевой признак заболевания
Увеличение продукции протеолитических ферментов, активация протеолиза	Выявлено значительное повышение экспрессии ММП-9 в некоторых образцах. При этом взаимодействие протеолитических ферментов со стабилизированным матриксом изучено слабо	Повышение экспрессии различных ММП, катепсинов и других матрикс-деградирующих ферментов. Активное ремоделирование матрикса	Повышение экспрессии различных ММП, катепсинов и других матрикс-деградирующих ферментов. Активное ремоделирование матрикса
Выброс воспалительных медиаторов, включающих различные цитокины и хемокины	Практически не изучен. Как минимум в одном исследовании отмечено увеличение экспрессии СРБ в дегенерирующих биопротезах. Имеются косвенные данные, указывающие на вовлечение в процесс разрушения протезных биотканей Лп-ФЛА2	Увеличение продукции широкого спектра цитокинов, хемоаттрактантных и других провоспалительных агентов	Увеличение продукции широкого спектра цитокинов, хемоаттрактантных и других провоспалительных агентов
Увеличение внутриклеточного оксидативного стресса, интенсификация внеклеточного окисления	Как минимум в двух исследованиях отмечено окислительно-зависимое повреждение протезной биоткани	Один из основных механизмов патогенеза	Один из основных механизмов патогенеза
Участие неколлагеновых белков костного матрикса в биоминерализации	Выявлена повышенная экспрессия остеоопонтина, остеоонектина и остеокальцина в кальцинированных областях матрикса	Задействованы в тех случаях, когда наблюдается кальцификация атеросклеротической бляшки	Одни из главных участников в процессах кальцификации аортального клапана
Иницирующие причины липидной и лейкоцитарной инфильтрации	Остаточные ксеногликаны и другие чужеродные молекулы	Дисфункция и повреждение эндотелиального слоя	Дисфункция и повреждение эндотелиального слоя
Активный фибропролиферативный ответ на воспалительную инфильтрацию со стороны тканей	Вероятно, невозможен в связи с полным отсутствием или крайне малой популяцией клеток мезенхимального ряда. За фиброз створок ответственны пассивные механизмы (расслоение волокон биоткани, депонирование фибриногена и других белков из плазмы крови)	Один из основных механизмов развития заболевания, опосредуется синтетическими гладкомышечными клетками	Один из основных механизмов развития заболевания, опосредуется активированными вальвулярными интерстициальными клетками
Гетеротопическая оссификация	По-видимому, не может быть реализована, поскольку в протезных тканях не обнаружено остеобластоподобных клеток	Частичная минерализация обусловлена деятельностью гладкомышечных клеток с остеогенным фенотипом	Один из основных механизмов кальцификации аортального клапана

Приемлемой альтернативой иммуносупрессивной терапии является децеллюляризация или дополнительная ферментная обработка протезного биоматериала, направленная на устранение ксеногликанов – наиболее иммуногенных компонентов биоткани животного происхождения [85]. Также со временем, вероятно, станет возможным наладить получение биоматериала от генетически модифицированных животных, в тканях которых не экспрессируются наиболее иммунореактивные углеводные ксеноантигены [85]. В настоящее время уже выведены линии свиней [97] и КРС [98], дефицитные по галактоза- α -1,3-галактозе и N-гликолилнейраминовой кислоте. Также изготовлены первые экспериментальные модели БПК из тканей нокаутных свиней [99]. Если будущие клинические испытания докажут преимущества использования БПК, создаваемых из тканей модифицированных животных, они, вероятно, плотно войдут в клиническую практику [100].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Согласно современным взглядам, СДК является не просто пассивным дегенеративно-дистрофическим процессом и отчасти реализуется через клеточно-зависимые механизмы. Триггеры и характер клеточной инфильтрации БПК позволяют отнести эту реакцию, возникающую как на химически-стабилизированные биологические ткани ксеногенного происхождения, так и на нефиксированный аллогенный биоматериал, к хроническому иммунному отторжению. Примечательно, что некоторые из выявленных его механизмов напоминают таковые, задействованные при развитии атеросклероза сосудов и кальциноза нативных АК. Они включают: аккумуляцию липидов, формирование пенных клеток, увеличение продукции матрикс-разрушающих ферментов, выброс медиаторов воспаления и усиление окислительного стресса. Клиническое значение перечисленных явлений пока еще плохо понятно.

К сожалению, в настоящее время нет медикаментозной терапии, которая могла бы замедлить разрушение БПК. Предположения о том, что гиполлипидемическая терапия может быть полезна в этом отношении, подтвердить не удалось, хотя существует вероятность, что она все еще может играть роль у пациентов моложе 57 лет. Помимо этого, высказывают мнения, что специальная обработка биоматериала, нацеленная на устранение его иммуногенности, а также изготовление БПК из тканей генетически модифицированных животных, позволят снизить воспалительный ответ на имплантаты и увеличить сроки их функционирования у молодых пациентов. С учетом общемировой тенденции к росту числа операций протезирования клапанов сердца и увеличению доли используемых для этого БПК даже небольшое улучшение последних, сопровождаемое увеличением

сроков их функционирования в среднем на 3–5 лет, окажет значительное клиническое влияние.

Работа выполнена в рамках комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН по фундаментальной теме НИИ КПССЗ № 0546-2015-0011 «Патогенетическое обоснование разработки имплантатов для сердечно-сосудистой хирургии на основе биосовместимых материалов, с реализацией пациент-ориентированного подхода с использованием математического моделирования, тканевой инженерии и геномных предикторов».

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Baumgartner H, Falk V, Bax JJ, De Bonis M, Hamm C, Holm PJ et al. 2017 ESC/EACTS Guidelines for the management of valvular heart disease. *Eur Heart J*. 2017; 38 (36): 2739–2791. doi: 10.1093/eurheartj/ehx391.
2. Nishimura RA, Otto CM, Bonow RO, Carabello BA, Erwin JP 3rd, Fleisher LA et al. 2017 AHA/ACC focused update of the 2014 AHA/ACC guideline for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology American Heart Association task force on clinical practice guidelines. *Circulation*. 2017; 135 (25): e1159–e1195. doi: 10.1161/CIR.0000000000000503.
3. Nishimura RA, Otto CM, Bonow RO, Carabello BA, Erwin JP 3rd, Guyton RA et al. 2014 AHA/ACC guideline for the management of patients with valvular heart disease: executive summary: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol*. 2014; 63 (22): 2438–2488. doi: 10.1016/j.jacc.2014.02.537.
4. Bax JJ, Delgado V. Bioprosthetic heart valves, thrombosis, anticoagulation, and imaging surveillance. *JACC Cardiovasc Interv*. 2017; 10 (4): 388–390. doi: 10.1016/j.jcin.2017.01.017.
5. Fiedler AG, Tolis G Jr. Surgical treatment of valvular heart disease: overview of mechanical and tissue prostheses, advantages, disadvantages, and implications for clinical use. *Curr Treat Options Cardiovasc Med*. 2018; 20 (1): 7. doi: 10.1007/s11936-018-0601-7.
6. Pibarot P, Dumesnil JG. Prosthetic heart valves: selection of the optimal prosthesis and long-term management. *Circulation*. 2009; 119 (7): 1034–1048. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.778886.
7. Zilla P, Brink J, Human P, Bezuidenhout D. Prosthetic heart valves: catering for the few. *Biomaterials*. 2008; 29 (4): 385–406. doi: 10.1016/j.biomaterials.2007.09.033.
8. Бокерия ЛА, Милюевская ЕБ, Куздоева ЗФ, Прянишникова ВВ. Сердечно-сосудистая хирургия – 2017. Болезни и врожденные аномалии системы кровообращения. М.: НМИЦССХ им. Бакулева МЗ РФ, 2018. 252. Bockeria LA, Milievskaia EB, Kuzdoeva ZF,

- Pryanishnikova VV*. Cardiovascular surgery – 2017. Diseases and congenital anomalies of the circulatory system. M.: NMITSSSKh im. Bakuleva MZ RF, 2018. 252.
9. *Manji RA, Lee W, Cooper DKC*. Xenograft bioprosthetic heart valves: past, present and future. *Int J Surg*. 2015; 23 (PtB): 280–284. doi: 10.1016/j.ijssu.2015.07.009.
 10. *Tillquist MN, Maddox TM*. Cardiac crossroads: deciding between mechanical or bioprosthetic heart valve replacement. *Patient Prefer Adherence*. 2011; 5: 91–99. doi: 10.2147/PPA.S16420.
 11. *Capodanno D, Petronio AS, Prendergast B, Eltchaninoff H, Vahanian A, Modine T et al*. Standardized definitions of structural deterioration and valve failure in assessing long-term durability of transcatheter and surgical aortic bioprosthetic valves: a consensus statement from the European Association of Percutaneous Cardiovascular Interventions (EAPCI) endorsed by the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *Eur Heart J*. 2017; 38 (45): 3382–3390. doi: 10.1093/eurheartj/ehx303.
 12. *Dvir D, Bourguignon T, Otto CM, Hahn RT, Rosenhek R, Webb JG et al*. Standardized definition of structural valve degeneration for surgical and transcatheter bioprosthetic aortic valves. *Circulation*. 2018; 137 (4): 388–399. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.030729.
 13. *Schoen FJ, Levy RJ*. Tissue heart valves: current challenges and future research perspectives. *J Biomed Mater Res*. 1999; 47 (4): 439–465. doi: 10.1002/(SICI)1097-4636(19991215)47:4<439::AID-JBM1>3.0.CO;2-O.
 14. *Schoen FJ, Levy RJ*. Calcification of tissue heart valve substitutes: progress toward understanding and prevention. *Ann Thorac Surg*. 2005; 79 (3): 1072–1080. doi: 10.1016/j.athoracsur.2004.06.033.
 15. *Simionescu DT*. Prevention of calcification in bioprosthetic heart valves: challenges and perspectives. *Expert Opin Biol Ther*. 2004; 4 (12): 1971–1985. doi: 10.1517/14712598.4.12.1971.
 16. *Rodriguez-Gabella T, Voisine P, Puri R, Pibarot P, Rodés-Cabau J*. Aortic bioprosthetic valve durability: incidence, mechanisms, predictors, and management of surgical and transcatheter valve degeneration. *J Am Coll Cardiol*. 2017; 70 (8): 1013–1028. doi: 10.1016/j.jacc.2017.07.715.
 17. *Manji RA, Ekser B, Menkis AH, Cooper DKC*. Bioprosthetic heart valves of the future. *Xenotransplantation*. 2014; 21 (1): 1–10. doi: 10.1111/xen.12080.
 18. *Барбараш ЛС, Роголина НВ, Рутковская НВ, Овчаренко ЕА*. Механизмы развития дисфункций биологических протезов клапанов сердца. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2018; 7 (2): 10–24. *Barbarash LS, Rogulina NV, Rutkovskaya NV, Ovcharenko EA*. Mechanisms underlying bioprosthetic heart valve dysfunctions. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2018; 7 (2): 10–24. doi: 10.17802/2306-1278-2018-7-2-10-24.
 19. *Cote N, Pibarot P, Clavel MA*. Incidence, risk factors, clinical impact, and management of bioprosthesis structural valve degeneration. *Curr Opin Cardiol*. 2017; 32 (2): 123–129. doi: 10.1097/HCO.0000000000000372.
 20. *Head SJ, Çelik M, Kappetein AP*. Mechanical versus bioprosthetic aortic valve replacement. *Eur Heart J*. 2017; 38 (28): 2183–2191. doi: 10.1093/eurheartj/ehx141.
 21. *Lindman BR, Clavel MA, Mathieu P, Jung B, Lancellotti P, Otto CM et al*. Calcific aortic stenosis. *Nat Rev Dis Primers*. 2016; 2: 16006. doi: 10.1038/nrdp.2016.6.
 22. *Rajamannan NM*. Mechanisms of aortic valve calcification: the LDL-density-radius theory: a translation from cell signaling to physiology. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2010; 298 (1): H5–15. doi: 10.1152/ajp-heart.00824.2009.
 23. *Briand M, Pibarot P, Després JP, Voisine P, Dumesnil JG, Dagenais F et al*. Metabolic syndrome is associated with faster degeneration of bioprosthetic valves. *Circulation*. 2006; 114 (1 Suppl): I512–I517. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.000422.
 24. *Farivar RS, Cohn LH*. Hypercholesterolemia is a risk factor for bioprosthetic valve calcification and explanation. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2003; 126 (4): 969–975. doi: 10.1016/s0022-5223(03)00708-6.
 25. *Lorusso R, Gelsomino S, Luca F, De Cicco G, Bille G, Carella R et al*. Type 2 diabetes mellitus is associated with faster degeneration of bioprosthetic valve: results from a propensity score-matched Italian multicenter study. *Circulation*. 2012; 125 (4): 604–614. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.025064.
 26. *Nitsche C, Kammerlander AA, Knechtelsdorfer K, Kraiger JA, Goliash G, Dona C et al*. Determinants of bioprosthetic aortic valve degeneration. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2020 Feb; 13 (2 Pt 1): 345–353. doi: 10.1016/j.jcmg.2019.01.027. [Epub 2019 Mar 13].
 27. *Nollert G, Miksch J, Kreuzer E, Reichart B*. Risk factors for atherosclerosis and the degeneration of pericardial valves after aortic valve replacement. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2003; 126 (4): 965–968. doi: 10.1016/s0022-5223(02)73619-2.
 28. *Гуляев НИ, Варавин НА, Коровин АЕ, Кузнецов ВВ, Яковлев ВВ, Гордиенко АВ*. Современные аспекты патогенеза кальциноза аортальных полулуний (обзор литературы). *Вестник СПбГУ*. 2016; 3: 20–34. *Gulyaev NI, Varavin NA, Korovin AE, Kuznetsov VV, Yakovlev VV, Gordienko AV*. Modern aspects of pathogenesis of calcification of the aortic valve. *Bulletin of Saint-Petersburg State University*. 2016; 3: 20–34. doi: 10.21638/11701/spbu11.2016.302.
 29. *Kostyunin AE, Yuzhalin AE, Ovcharenko EA, Kutikhin AG*. Development of calcific aortic valve disease: do we know enough for new clinical trials? *J Mol Cell Cardiol*. 2019; 132: 189–209. doi: 10.1016/j.yjmcc.2019.05.016.
 30. *Li H, Horke S, Förstermann U*. Vascular oxidative stress, nitric oxide and atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2014; 237 (1): 208–219. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2014.09.001.
 31. *Parisi V, Leosco D, Ferro G, Bevilacqua A, Pagano G, de Lucia C et al*. The lipid theory in the pathogenesis of calcific aortic stenosis. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2015; 25 (6): 519–525. doi: 10.1016/j.numecd.2015.02.001.

32. Schaftenaar F, Frodermann V, Kuiper J, Lutgens E. Atherosclerosis: the interplay between lipids and immune cells. *Curr Opin Lipidol.* 2016; 27 (3): 209–215. doi: 10.1097/MOL.0000000000000302.
33. Weber C, Noels H. Atherosclerosis: current pathogenesis and therapeutic options. *Nat Med.* 2011; 17 (11): 1410–1422. doi: 10.1038/nm.2538.
34. Bottio T, Thiene G, Pettenazzo E, Ius P, Bortolotti U, Rizzoli G et al. Hancock II bioprosthesis: a glance at the microscope in mid-long-term explants. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2003; 126 (1): 99–105. doi: 10.1016/s0022-5223(03)00131-4.
35. Butany J, Zhou T, Leong SW, Cunningham KS, Thangaroopan M, Jegatheeswaran A et al. Inflammation and infection in nine surgically explanted Medtronic Freestyle stentless aortic valves. *Cardiovasc Pathol.* 2007; 16 (5): 258–267. doi: 10.1016/j.carpath.2007.01.009.
36. Grabenwöger M, Fitzal F, Gross C, Hutschala D, Böck P, Brucke P et al. Different modes of degeneration in autologous and heterologous heart valve prostheses. *J Heart Valve Dis.* 2000; 9 (1): 104–111. PMID: 10678382.
37. Lepidi H, Casalta JP, Fournier PE, Habib G, Collart F, Raoult D. Quantitative histological examination of bioprosthetic heart valves. *Clin Infect Dis.* 2006; 42 (5): 590–596. doi: 10.1086/500135.
38. Manji RA, Hara H, Cooper DK. Characterization of the cellular infiltrate in bioprosthetic heart valves explanted from patients with structural valve deterioration. *Xenotransplantation.* 2015; 22 (5): 406–407. doi: 10.1111/xen.12187.
39. Nair V, Law KB, Li AY, Phillips KR, David TE, Butany J. Characterizing the inflammatory reaction in explanted Medtronic Freestyle stentless porcine aortic bioprosthesis over a 6-year period. *Cardiovasc Pathol.* 2012; 21 (3): 158–168. doi: 10.1016/j.carpath.2011.05.003.
40. Sakaue T, Nakaoka H, Shikata F, Aono J, Kurata M, Uetani T et al. Biochemical and histological evidence of deteriorated bioprosthetic valve leaflets: the accumulation of fibrinogen and plasminogen. *Biol Open.* 2018; 7 (8): bio034009. doi: 10.1242/bio.034009.
41. Shetty R, Pibarot P, Audet A, Janvier R, Dagenais F, Perron J et al. Lipid-mediated inflammation and degeneration of bioprosthetic heart valves. *Eur J Clin Invest.* 2009; 39 (6): 471–480. doi: 10.1111/j.1365-2362.2009.02132.x.
42. Mahmut A, Mahjoub H, Boulanger MC, Fournier D, Després JP, Pibarot P, Mathieu P. Lp-PLA2 is associated with structural valve degeneration of bioprostheses. *Eur J Clin Invest.* 2014; 44 (2): 136–145. doi: 10.1111/eci.12199.
43. Abd-Elrahman I, Meir K, Kosuge H, Ben-Nun Y, Weiss Sadan T, Rubinstein C et al. Characterizing cathepsin activity and macrophage subtypes in excised human carotid plaques. *Stroke.* 2016; 47 (4): 1101–1108. doi: 10.1161/STROKEAHA.115.011573.
44. Böhling F, Reisenauer A, Gerber A, Krüger S, Weber E, Brömme D et al. Cathepsin K – a marker of macrophage differentiation? *J Pathol.* 2001; 195 (3): 375–382. doi: 10.1002/path.959.
45. Kessenbrock K, Brown M, Werb Z. Measuring matrix metalloproteinase activity in macrophages and polymorphonuclear leukocytes. *Curr Protoc Immunol.* 2011; Chapter 14: Unit 14.24. doi: 10.1002/0471142735.im1424s93.
46. Yasuda Y, Li Z, Greenbaum D, Bogyo M, Weber E, Brömme D. Cathepsin V, a novel and potent elastolytic activity expressed in activated macrophages. *J Biol Chem.* 2004; 279 (35): 36761–36770. doi: 10.1074/jbc.M403986200.
47. Johnson JL. Metalloproteinases in atherosclerosis. *Eur J Pharmacol.* 2017; 816: 93–106. doi: 10.1016/j.ejphar.2017.09.007.
48. Simionescu A, Simionescu DT, Deac RF. Matrix metalloproteinases in the pathology of natural and bioprosthetic cardiac valves. *Cardiovasc Pathol.* 1996; 5 (6): 323–332. PMID: 25851789.
49. Ponath V, Kaina B. Death of monocytes through oxidative burst of macrophages and neutrophils: killing in trans. *PLoS One.* 2017; 12 (1): e0170347. doi: 10.1371/journal.pone.0170347.
50. Christian AJ, Lin H, Alferiev IS, Connolly JM, Ferrari G, Hazen SL et al. The susceptibility of bioprosthetic heart valve leaflets to oxidation. *Biomaterials.* 2014; 35 (7): 2097–2102. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.11.045.
51. Lee S, Levy RJ, Christian AJ, Hazen SL, Frick NE, Lai EK et al. Calcification and oxidative modifications are associated with progressive bioprosthetic heart valve dysfunction. *J Am Heart Assoc.* 2017; 6 (5): e005648. doi: 10.1161/JAHA.117.005648.
52. Rittling SR. Osteopontin in macrophage function. *Expert Rev Mol Med.* 2011; 13: e15. doi: 10.1017/S1462399411001839.
53. Rosset EM, Bradshaw AD. SPARC/osteonectin in mineralized tissue. *Matrix Biol.* 2016; 52–54: 78–87. doi: 10.1016/j.matbio.2016.02.001.
54. New SE, Aikawa E. Role of extracellular vesicles in de novo mineralization: an additional novel mechanism of cardiovascular calcification. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013; 33 (8): 1753–1758. doi: 10.1161/ATVBAHA.112.300128.
55. New SE, Goettsch C, Aikawa M, Marchini JF, Shibasaki M, Yabusaki K et al. Macrophage-derived matrix vesicles: an alternative novel mechanism for microcalcification in atherosclerotic plaques. *Circ Res.* 2013; 113 (1): 72–77. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.113.301036.
56. Srivatsa SS, Harrity PJ, Maercklein PB, Kleppe L, Veinot J, Edwards WD et al. Increased cellular expression of matrix proteins that regulate mineralization is associated with calcification of native human and porcine xenograft bioprosthetic heart valves. *J Clin Invest.* 1997; 99 (5): 996–1009. doi: 10.1172/JCI119265.
57. Mohler ER 3rd, Adam LP, McClelland P, Graham L, Hathaway DR. Detection of osteopontin in calcified human aortic valves. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997; 17 (3): 547–552. doi: 10.1161/01.atv.17.3.547.
58. Pohjolainen V, Taskinen P, Soini Y, Rysä J, Ilves M, Juvonen T et al. Noncollagenous bone matrix proteins as a part of calcific aortic valve disease regulation. *Hum*

- Pathol.* 2008; 39 (11): 1695–1701. doi: 10.1016/j.hum-path.2008.04.015.
59. Ardans JA, Economidou AP, Martinson JM Jr, Zhou M, Wahl LM. Oxidized low-density and high-density lipoproteins regulate the production of matrix metalloproteinase-1 and -9 by activated monocytes. *J Leukoc Biol.* 2002; 71 (6): 1012–1018. PMID: 12050187.
 60. Huang Z, Meng S, Wang L, Wang Y, Chen T, Wang C. Suppression of oxLDL-induced MMP-9 and EMM-PRIN expression by berberine via inhibition of NF- κ B activation in human THP-1 macrophages. *Anat Rec (Hoboken).* 2012; 295 (1): 78–86. doi: 10.1002/ar.21489.
 61. Sanda GM, Deleanu M, Toma L, Stancu CS, Simionescu M, Sima AV. Oxidized LDL-exposed human macrophages display increased MMP-9 expression and secretion mediated by endoplasmic reticulum stress. *J Cell Biochem.* 2017; 118 (4): 661–669. doi: 10.1002/jcb.25637.
 62. Yang K, Liu X, Liu Y, Wang X, Cao L, Zhang X et al. DC-SIGN and Toll-like receptor 4 mediate oxidized low-density lipoprotein-induced inflammatory responses in macrophages. *Sci Rep.* 2017; 7 (1): 3296. doi: 10.1038/s41598-017-03740-7.
 63. Ye J, Wang C, Wang D, Yuan H. LncRBA GSA5, up-regulated by ox-LDL, aggravates inflammatory response and MMP expression in THP-1 macrophages by acting like a sponge for miR-221. *Exp Cell Res.* 2018; 369 (2): 348–355. doi: 10.1016/j.yexcr.2018.05.039.
 64. Bae YS, Lee JH, Choi SH, Kim S, Almazan F, Witztum JL et al. Macrophages generate reactive oxygen species in response to minimally oxidized low-density lipoprotein: toll-like receptor 4- and spleen tyrosine kinase-dependent activation of NADPH oxidase 2. *Circ Res.* 2009; 104 (2): 210–218. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.108.181040.
 65. Nsaibia MJ, Mahmut A, Mahjoub H, Dahou A, Boucharreb R, Boulanger MC et al. Association between plasma lipoprotein levels and bioprosthetic valve structural degeneration. *Heart.* 2016; 102 (23): 1915–1921. doi: 10.1136/heartjnl-2016-309541.
 66. Mahjoub H, Mathieu P, Sénéchal M, Larose E, Dumesnil J, Després JP et al. ApoB/ApoA-I ratio is associated with increased risk of bioprosthetic valve degeneration. *J Am Coll Cardiol.* 2013; 61 (7): 752–761. doi: 10.1016/j.jacc.2012.11.033.
 67. Salaun E, Mahjoub H, Dahou A, Mathieu P, Larose E, Després JP et al. Hemodynamic deterioration of surgically implanted bioprosthetic aortic valves. *J Am Coll Cardiol.* 2018; 72 (3): 241–251. doi: 10.1016/j.jacc.2018.04.064.
 68. Wilensky RL, Macphee CH. Lipoprotein-associated phospholipase A(2) and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol.* 2009; 20 (5): 415–420. doi: 10.1097/MOL.0b013e3283307c16.
 69. Akahori H, Tsujino T, Naito Y, Matsumoto M, Lee-Kawabata M, Ohyanagi M et al. Intraleaflet haemorrhage is associated with rapid progression of degenerative aortic valve stenosis. *Eur Heart J.* 2011; 32 (7): 888–896. doi: 10.1093/eurheartj/ehq479.
 70. Morvan M, Arangalage D, Franck G, Perez F, Cattaneo L, Codogno I et al. Relationship of iron deposition to calcium deposition in human aortic valve leaflets. *J Am Coll Cardiol.* 2019; 73 (9): 1043–1054. doi: 10.1016/j.jacc.2018.12.042.
 71. Stam OCG, Daemen MJAP, van Rijswijk JW, de Mol BAJM, van der Wal AC. Intraleaflet hemorrhages are a common finding in symptomatic aortic and mitral valves. *Cardiovasc Pathol.* 2017; 30: 12–18. doi: 10.1016/j.carpath.2017.06.002.
 72. Deutsch MA, Gummert JF. Intraleaflet hemorrhage and iron-dependent pathomechanisms in calcific aortic valve disease: epiphenomenon or major actor? *J Am Coll Cardiol.* 2019; 73 (9): 1055–1058. doi: 10.1016/j.jacc.2018.12.041.
 73. Lee S, Ferrari G, Levy RJ. Abstract 14677: oxidative damage in failed clinical bioprosthetic heart valve explants. *Circulation.* 2015; 132 (3): A14677.
 74. Skowasch D, Schrempf S, Preusse CJ, Likungu JA, Welz A, Lüderitz B et al. Tissue resident C reactive protein in degenerative aortic valves: correlation with serum C reactive protein concentrations and modification by statins. *Heart.* 2006; 92 (4): 495–498. doi: 10.1136/hrt.2005.069815.
 75. Kattoor AJ, Pothineni NVK, Palagiri D, Mehta JL. Oxidative stress in atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep.* 2017; 19 (11): 42. doi: 10.1007/s11883-017-0678-6.
 76. Костюнин АЕ, Овчаренко ЕА, Барбараш ОЛ. Ренин-ангиотензин-альдостероновая система как потенциальная мишень для терапии пациентов с кальцинирующим аортальным стенозом: обзор литературы. *Кардиология.* 2019; 59 (11S): 4–17. Kostyunin AE, Ovcharenko EA, Barbarash OL. The renin-angiotensin-aldosterone system at a potential target for therapy in patients with calcific aortic stenosis: a literature review. *Kardiologiya.* 2019; 59 (11S): 4–17. doi: 10.18087/cardio.n328.
 77. Sata M, Fukuda D. Crucial role of renin-angiotensin system in the pathogenesis of atherosclerosis. *The Journal of Medical Investigation.* 2010; 57 (1–2): 12–25. doi: 10.2152/jmi.57.12.
 78. Zhao Y, Hasse S, Zhao C, Bourgoin SG. Targeting the autotaxin – lysophosphatidic acid receptor axis in cardiovascular diseases. *Biochem Pharmacol.* 2019; 164: 74–81. doi: 10.1016/j.bcp.2019.03.035.
 79. Armiger LC. Viability studies of human valves prepared for use as allografts. *Ann Thorac Surg.* 1995; 60 (2 Suppl): S118–S121. doi: 10.1016/0003-4975(95)00217-9.
 80. Oei FB, Stegmann AP, van der Ham F, Zondervan PE, Vaessen LM, Baan CC et al. The presence of immune stimulatory cells in fresh and cryopreserved donor aortic and pulmonary valve allografts. *J Heart Valve Dis.* 2002; 11 (3): 315–325. PMID: 12056721.
 81. Мухамадияров РА, Рутковская НВ, Кокорин СГ, Одаренко ЮН, Мильто ИВ, Барбараш ЛС. Типирование клеток биопротезов клапанов сердца, эксплантированных вследствие развития кальций-ассоциированных дисфункций. *Бюллетень сибирской медицины.* 2018; 17 (4): 94–102. Mukhamadiyarov RA, Rutkovskaya NV, Kokorin SG, Odarenko YuN, Mil'to IV,

- Barbarash LS. Cell typing of biological heart valves prosthesis explained due to the development of calcium-associated dysfunctions. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2018; 17 (2): 94–102. doi: 10.20538/1682-0363-2018-4-94-102.
82. Мухамадияров РА, Рутковская НВ, Сидорова ОД, Барбараиш ЛС. Исследование клеточного состава кальцинированных биопротезов клапанов сердца. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2015; 70 (6): 662–668. Mukhamadiyarov RA, Rutkovskaya NV, Sidorova OD, Barbarash LS. Cellular composition of calcified bioprosthetic heart valves. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (6): 662–668. doi: 10.15690/vramn560.
83. Костюнин АЕ, Овчаренко ЕА, Клышников КЮ. Современное понимание механизмов структурной дегенерации биопротезов клапанов сердца. *Российский кардиологический журнал*. 2018; 11: 145–152. Kostyunin AE, Ovcharenko EA, Klyshnikov KY. Modern understanding of mechanisms of bioprosthetic valve structural degeneration: a literature review. *Russian Journal of Cardiology*. 2018; 11: 145–152. doi: 10.15829/1560-4071-2018-11-145-152.
84. Steinmetz M, Skowasch D, Wernert N, Welsch U, Preusse CJ, Welz A et al. Differential profile of the OPG/RANKL/RANK-system in degenerative aortic native and bioprosthetic valves. *J Heart Valve Dis*. 2008; 17 (2): 187–193. PMID: 18512489.
85. Костюнин АЕ, Резцова МА. Роль остаточных ксеноантигенов в дегенерации ксеногенных биопротезов клапанов сердца. *Иммунология*. 2019; 40 (4): 56–63. Kostyunin AE, Reztova MA. The role of residual xenanthigens in the degeneration of xenogenic bioprosthetic heart valves. *Immunologiya*. 2019; 40 (4): 56–63. doi: 10.24411/0206-4952-2019-14006.
86. Bibeovski S, Ruzmetov M, Fortuna RS, Turrentine MW, Brown JW, Ohye RG. Performance of SynerGraft decellularized pulmonary allografts compared with standard cryopreserved allografts: results from multiinstitutional data. *Ann Thorac Surg*. 2017; 103 (3): 869–874. doi: 10.1016/j.athoracsur.2016.07.068.
87. Hoekstra F, Knoop C, Vaessen L, Wassenaar C, Jutte N, Bos E et al. Donor-specific cellular immune response against human cardiac valve allografts. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1996; 112 (2): 281–286. doi: 10.1016/S0022-5223(96)70250-7.
88. Hogan P, Duplock L, Green M, Smith S, Gall KL, Frazer IH et al. Human aortic valve allografts elicit a donor-specific immune response. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1996; 112 (5): 1260–1267. doi: 10.1016/S0022-5223(96)70139-3.
89. Colli A, Gherli T, Mestres CA, Pomar JL. Degeneration of native and tissue prosthetic valve in aortic position: do statins play an effective role in prevention? *Int J Cardiol*. 2007; 116 (2): 144–152. doi: 10.1016/j.ijcard.2006.03.047.
90. Antonini-Canterin F, Popescu BA, Zuppiroli A, Nicolosi GL. Are statins effective in preventing bioprosthetic aortic valve failure? A need for a prospective, randomized trial. *Ital Heart J*. 2004; 5 (2): 85–88. PMID: 15086137.
91. Antonini-Canterin F, Zuppiroli A, Popescu BA, Granata G, Cervesato E, Piazza R et al. Effect of statins on the progression of bioprosthetic aortic valve degeneration. *Am J Cardiol*. 2003; 92 (12): 1479–1482. doi: 10.1016/j.amjcard.2003.08.066.
92. Kulik A, Masters RG, Bédard P, Hendry PJ, Lam BK, Rubens FD et al. Postoperative lipid-lowering therapy and bioprosthesis structural valve deterioration: justification for a randomised trial? *Eur J Cardiothorac Surg*. 2010; 37 (1): 139–144. doi: 10.1016/j.ejcts.2009.06.051.
93. Gilmanov D, Bevilacqua S, Mazzone A, Glauber M. Do statins slow the process of calcification of aortic tissue valves? *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2010; 11 (3): 297–301. doi: 10.1510/icvts.2009.230920.
94. Manji RA, Zhu LF, Nijjar NK, Rayner DC, Korbutt GS, Churchill TA et al. Glutaraldehyde-fixed bioprosthetic heart valve conduits calcify and fail from xenograft rejection. *Circulation*. 2006; 114 (4): 318–327. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.549311.
95. Eishi K, Ishibashi-Ueda H, Nakano K, Kosakai Y, Sasaki Y, Kobayashi J et al. Calcific degeneration of bioprosthetic aortic valves in patients receiving steroid therapy. *J Heart Valve Dis*. 1996; 5 (6): 668–672. PMID: 8953446.
96. Shimazaki Y, Kuraoka S, Takeda F, Watanabe T, Inui K. Mitral valve re-replacement for impaired bioprostheses after 19 years in a patient undergoing steroid treatment. *J Heart Valve Dis*. 2003; 12 (1): 45–47. PMID: 12578334.
97. Zhang R, Wang Y, Chen L, Wang R, Li C, Li X et al. Reducing immunoreactivity of porcine bioprosthetic heart valves by genetically-deleting three major glycan antigens, GGTA1/β4GalNT2/CMAH. *Acta Biomater*. 2018; 72: 196–205. doi: 10.1016/j.actbio.2018.03.055.
98. Perota A, Lagutina I, Duchini R, Zanfrini E, Lazzari G, Judor JP et al. Generation of cattle knockout for galactose-α1,3-galactose and N-glycolylneuraminic acid antigens. *Xenotransplantation*. 2019; 26 (5): e12524. doi: 10.1111/xen.12524.
99. Rahmani B, McGregor C, Byrne G, Burriesci G. A durable porcine pericardial surgical bioprosthetic heart valve: a proof of concept. *J Cardiovasc Transl Res*. 2019; 12 (4): 331–337. doi: 10.1007/s12265-019-09868-3.
100. Smood B, Hara H, Cleveland DC, Cooper DKC. In search of the ideal valve: optimizing genetic modifications to prevent bioprosthetic degeneration. *Ann Thorac Surg*. 2019; 108 (2): 624–635. doi: 10.1016/j.athoracsur.2019.01.054.

Статья поступила в редакцию 10.12.2021 г.
The article was submitted to the journal on 10.12.2021

БЕЛКОВЫЙ СОСТАВ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ И ПОЧКИ

А.В. Дерюгина¹, О.П. Абаева², С.В. Романов³, М.В. Ведунова¹, Е.Н. Рябова^{1, 3},
С.А. Васенин³, Н.А. Титова¹

¹ ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород, Российская Федерация

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

³ ФБУЗ «Приволжский окружной медицинский центр» ФМБА России, Нижний Новгород, Российская Федерация

Трансплантация органов является эффективным методом лечения пациентов с терминальными стадиями ряда тяжелых заболеваний. Однако серьезным осложнением при трансплантации являются реперфузионные повреждения, которые связаны с микроциркуляторными нарушениями и агрегацией форменных элементов крови. Эритроциты играют существенную роль в поддержании гемодинамических и реологических свойств крови, и изучение механизмов изменения их функциональных показателей является актуальной задачей. Основным показателем функционирования эритроцита служит стабильность структуры мембраны. Вопрос о модификации эритроцитарной мембраны при трансплантации органов на сегодняшний день не исследован. **Цель:** изучение белкового состава мембран эритроцитов, их агрегационных и электрокинетических показателей у реципиентов печени и почки, а также родственных доноров почки и фрагмента печени до и в динамике послеоперационного периода. **Материалы исследования.** Кровь 12 реципиентов почки, 5 родственных доноров почки, 8 реципиентов печени и 4 родственных доноров фрагмента печени во временной динамике – за 1–2 часа до операции, через 1 неделю, 1, 2, 7, 10, 12 месяцев после операции. Группу контроля составили 8 здоровых добровольцев. **Методы исследования.** Разделение белков проводили методом электрофореза по Лэммли. Электрофоретическую подвижность эритроцитов, характеризующую электрокинетические свойства клеток, измеряли методом микроэлектрофореза. Агрегацию рассчитывали микроскопически, путем подсчета неагрегированных эритроцитов. Сравнение полученных величин проводили по U-критерию Манна–Уитни. **Результаты.** Исследование мембраны эритроцитов крови реципиентов почки выявило значимое снижение количества белка полосы 3 и гликофорина до и после проведения трансплантации. Уровень белка полосы 3 был снижен в течение 1 месяца, гликофорина – в течение 7 месяцев после операции с максимальным уменьшением данных фракций белков более чем на 50% к 7-м суткам относительно значений контроля. Также регистрировалось снижение содержания спектрина в течение 2 месяцев после операции с максимальным снижением на 30% к 1 месяцу. У реципиентов печени анализ белков мембраны эритроцитов выявил снижение количества гликофорина до операции и дальнейшее его уменьшение в течение 2 месяцев посттрансплантационного периода. Максимальное снижение показателя – на 72% – было отмечено к 7-м суткам после операции. Кроме того, наблюдалось снижение количества спектрина и белка полосы 3 в течение 1 месяца более чем на 60% относительно значений контроля. У доноров изменения в белковой фракции эритроцитарных мембран регистрировались в отдаленный период после операции: у доноров почки снижение в 2 раза количества спектрина и белка полосы 3 отмечалось на 2-й месяц, у доноров печени снижение гликофорина в 2,3 раза – к 1-му месяцу после операции. Также в обеих группах доноров регистрировался рост концентрации актина к 1-му месяцу после операции. Выявленные изменения количества белков в белковой фазе эритроцитарных мембран сочетались с функциональными показателями эритроцитов. У реципиентов почки снижение ЭФПЭ и увеличение агрегации наблюдалось в течение 2 месяцев, у реципиентов печени изменения данных показателей зафиксированы в течение 1 месяца. У доноров обеих групп было выявлено уменьшение ЭФПЭ. **Заключение.** Совокупность полученных

Для корреспонденции: Абаева Ольга Петровна. Адрес: 603001, Нижний Новгород, Нижне-Волжская наб., 2. Тел. (910) 792-55-07. E-mail: abaevaop@inbox.ru

Corresponding author: Olga Abaeva. Address: 2, Nizhne-Volgskaya Naberezhnaya, Nizhny Novgorod, 603001, Russian Federation. Phone: (910) 792-55-07. E-mail: abaevaop@inbox.ru

результатов показала, что изменение электроотрицательности мембран эритроцитов сопряжено с изменением содержания гликофорина и белка полосы 3, тогда как в процессе агрегации эритроцитов у пациентов после трансплантации печени/почки значимыми факторами являются структурно-функциональные нарушения взаимосвязей таких мембранных белков, как спектрин, белок полосы 3, гликофорин. Изменение актина определяет сдерживание роста агрегации эритроцитов у доноров.

Ключевые слова: трансплантация почки, трансплантация печени, эритроциты.

PROTEIN COMPOSITION AND FUNCTIONAL PARAMETERS OF RBC MEMBRANES IN LIVER AND KIDNEY TRANSPLANTATION

A.V. Deryugina¹, O.P. Abaeva², S.V. Romanov³, M.V. Vedunova¹, E.N. Ryabova^{1, 3}, S.A. Vasenin³, N.A. Titova¹

¹ Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod, Nizhni Novgorod, Russian Federation

² Sechenov University, Moscow, Russian Federation

³ Volga District Medical Center, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Organ transplantation is an effective treatment for many end-stage diseases. However, reperfusion injury constitutes a major complication of transplantation, which is associated with microcirculatory disorders and aggregation of blood corpuscles. Red blood cells (RBC) play an essential role in maintaining hemodynamic and rheological properties of the blood. Moreover, the study of mechanisms of changes in RBC functional indices is an urgent task. The main indicator of RBC functioning is the stability of RBC membrane structure. The issue of RBC membrane modification in organ transplantation has not been studied so far. **Objective:** to study the protein composition of RBC membranes, their aggregation and electrokinetic parameters in liver and kidney recipients, as well as in related kidney and liver fragment donors before and after operation. **Research materials.** Blood of 12 kidney recipients and 5 related kidney donors, 8 liver recipients and 4 related liver fragment donors – 1–2 hours before surgery, 1 week, 1, 2, 7, 10, 12 months after surgery. The control group consisted of 8 healthy volunteers. **Research methods.** Protein separation was done by Laemmli electrophoresis. RBC electrophoretic mobility, which characterizes the electrokinetic properties of cells, was measured by microelectrophoresis. Aggregation was calculated microscopically by counting unaggregated RBCs. Obtained values were compared by Mann-Whitney U test. **Results.** Examination of the RBC membrane of kidney recipients revealed a significant decrease in the amount of Band 3 protein and glycophorin before and after transplantation. Band 3 protein levels reduced at 1 month, glycophorin reduced at 7 months after surgery, with a maximum decrease in these protein fractions by more than 50% by 7 days compared with control values. There was also a decrease in spectrin content for 2 months after surgery with a maximum decrease of 30% by 1 month. In liver recipients, analysis of RBC membrane proteins revealed a decrease in the amount of glycophorin before surgery and further decrease at 2 months of post-transplant period. The maximum decrease in this index was 72% by 7 days after surgery. In addition, there was a fall in spectrin and Band 3 protein levels at 1 month by more than 60% relative to the control values. In donors, there were changes in the protein fraction of RBC membranes in the long-term post-operative period: spectrin and Band 3 protein levels reduced by 2 times at month 2 in kidney donors, while glycophorin levels reduced by 2.3 times at month 1 after operation in liver donors. Similarly, both groups of donors had increased actin levels at month 1 after surgery. The revealed changes in protein levels in the protein phase of RBC membranes were combined with functional indices of RBCs. In kidney recipients, decreased RBC electrophoretic mobility and increased aggregation were detected at 2 months. In liver recipients, the changes in these indicators were at 1 month. A decrease in RBC electrophoretic mobility was detected in donors of both groups. **Conclusion.** Changes in RBC membrane electronegativity are associated with changes in glycophorin and Band 3 protein levels, whereas in RBC aggregation process in liver/kidney recipients, the structural and functional disorders in the interrelationships of such membrane proteins as spectrin, Band 3 protein, and glycophorin, are significant factors. Alteration of actin determines inhibition of RBC aggregation growth in donors.

Keywords: kidney transplantation, liver transplantation, red blood cells.

ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация органов завоевала уверенные позиции в мире как эффективный метод лечения пациентов с терминальными стадиями ряда тяжелых

заболеваний [1]. При этом трансплантация является технически сложным оперативным вмешательством, которое может сопровождаться массивной кровопотерей, являющейся причиной осложнений в раннем

послеоперационном периоде [2]. Кроме того, при данном виде хирургического вмешательства изменение гомеостаза сопряжено с дисбалансом в свертывающей системе [3, 4]. Патогенез коагулопатии опосредуется через энтоделиальные повреждения и активацию каскада гиперкоагуляции, что приводит к нарушениям микроциркуляции в раннем посттрансплантационном периоде [3].

Эритроциты, в свою очередь, оказывают существенное влияние на реологические свойства крови и микроциркуляцию [16]. Нарушение структуры мембраны приводит к изменению их жесткости, способствует уменьшению деформации, повышению агрегации эритроцитов и инициированию процесса тромбообразования [5, 6]. Усиление агрегации клеток и увеличение высвобождения таких прокоагулянтов, как эритроцитин и АДФ, стимулирует процесс свертывания крови [7, 8]. Агрегация эритроцитов может быть причиной тканевой гипоксии, так как агрегаты, заполняя просвет капилляров, не оставляют места для пристеночного слоя плазмы, являясь причиной стаза крови [9]. Таким образом, эритроциты играют существенную роль в поддержании гемодинамических и реологических свойств крови, и изучение механизмов изменения их функциональных показателей является актуальной задачей. Основным показателем функционирования эритроцита служит стабильность структуры мембраны [10]. Однако вопрос о модификации эритроцитарной мембраны при трансплантации органов на сегодняшний день не исследован. С этих позиций не изучен послеоперационный период не только реципиентов, но и родственных доноров, у которых при изъятии почки или фрагмента печени риск развития нарушения гемодинамики многократно возрастает.

Целью работы ставилось изучение белкового состава мембран эритроцитов, их агрегационных и электрокинетических показателей у реципиентов печени и почки, а также родственных доноров почки и фрагмента печени до и в динамике послеоперационного периода.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе проводилось исследование крови пациентов, которым была произведена трансплантация почки или печени, и родственных доноров в послеоперационный период. Операции по эксплантации и трансплантации почки и печени осуществлялись на базе Федерального бюджетного учреждения здравоохранения «Приволжский окружной медицинский центр» Федерального медико-биологического агентства (далее – ФБУЗ ПОМЦ ФМБА России), где подобные медицинские вмешательства выполняются начиная с 2006 года [11]. Все пациенты дали добровольное информированное согласие, по форме, утвержденной приказом Министерства здравоохра-

нения Российской Федерации от 11 августа 2017 г. № 517н. Проведение исследования было одобрено локальным этическим комитетом ФБУЗ ПОМЦ ФМБА России. Под наблюдением находилось 12 реципиентов почки от посмертного донора, 5 родственных доноров почки, 8 реципиентов печени от посмертного донора и 4 родственных донора фрагмента печени в возрасте от 40 до 58 лет. Среднее время консервации: от посмертных доноров почки – $510 \pm 219,33$ мин, от родственных доноров почки – $22 \pm 2,73$ мин, от посмертных доноров печени – $330 \pm 32,07$ мин, от родственных доноров печени – $26,5 \pm 1,73$ мин. Группу контроля составили 8 здоровых добровольцев. Все участники исследования наблюдались в амбулаторном центре трансплантации ФБУЗ ПОМЦ ФМБА России в соответствии с утвержденными стандартами [12]. Кровь для анализа брали из локтевой вены пациентов во временной динамике – за 1–2 часа до операции, через 1 неделю, 1, 2, 7 месяцев после операции для исследования белковых фракций мембран эритроцитов и дополнительно через 10 и 12 месяцев после операции для исследования степени агрегации и электрофоретической подвижности эритроцитов, характеризующей их электрокинетические свойства.

Разделение белков проводили методом электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) в присутствии додецилсульфата натрия (ДСН) [ДСН-ПААГ-электрофорез (SDS-PAGE)] по Лэммли [13] с использованием камеры Mini – PROTEAN Tetra Cell (Bio-Rad, USA). Для приготовления гелей использовали 30% раствор акриламида/метилен-бис-акриламида. Буфер для приготовления концентрирующего геля содержал 0,5 М Трис-ОН, 0,4% ДСН, pH 6,8. Для приготовления разделяющего геля использовали буфер, содержащий 1,5 М Трис-ОН, 0,4% ДСН, pH 8,8. Камеры для проведения электрофореза заполняли буфером, содержащим 0,025 М Трис-ОН, 0,192 М глицин, 0,1% ДСН, pH 8,3. Полимеризацию проводили в присутствии тетраметилэтилендиамина (TEMED) и 10% персульфата аммония (APS) при комнатной температуре. Объем наносимых проб составлял 20 мкл. Перед нанесением образцы разводили буфером для проб (0,0625 М Трис-НСl, 10% глицерин, 0,001% бромфеноловый синий, 5% меркаптоэтанол, 2,3% ДСН, pH 6,8) и прогревали на водяной бане (100 °С) в течение 10 мин. Во время прохождения пробами концентрирующего геля электрофорез проводили при постоянной силе тока 20 мА. В разделяющем геле сила тока составляла 40 мА. По окончании электрофореза гель окрашивали 30–60 мин в растворе, содержащем Coomassie Blue R250, 40% метанола, 10% уксусной кислоты. Несвязанный краситель удаляли отмывкой геля в растворителе (40% метанол, 10% уксусная кислота). Полученные гель-дорожки были обработаны в программе ImageJ. В качестве

метчиков использовали стандартные образцы белков (Bio-Rad, USA).

Методом электрофореза в мембране эритроцитов обнаруживают около 15 основных мембранных белков с молекулярной массой от 15 до 250 кД. Около 60% массы мембранных белков приходится на спектрин, гликофорин и белок полосы 3. Учитывая, что главными белками цитоскелета являются спектрин (полоса 1 и 2), анкирин (полоса 2.1), белки полосы 4.1, 4.9 и актин (полоса 5), а по функциональному и количественному отношению среди интегральных белков преобладают белок полосы 3 или анионный канал и гликофорины [14, 15], в нашей работе был проведен анализ именно данных фракций белков мембраны эритроцитов.

Определение электрокинетических и агрегационных свойств проводили по измерению электрофоретической подвижности эритроцитов (далее – ЭФПЭ) и оптическому измерению агрегации эритроцитов. ЭФПЭ определяли методом микроэлектрофореза с использованием цитоферометра в нашей модификации [16]. Регистрировали время прохождения эритроцитами расстояния 100 мкм в трис-НСl буфере с рН 7,4 при силе тока 8 мА. Агрегацию эритроцитов изучали методом оптической микроскопии путем подсчета одиночных эритроцитов и их агрегатов в раствор голубого декстрана Т-2000 (GE Healthcare фирма, 20 мг/мл) в Трис НСl-буфере [17].

Статистическая обработка полученных данных выполнена в Statistica 12, R. Проверку распределения на соответствие нормальному закону выполня-

ли с применением критерия согласия Колмогорова–Смирнова. При анализе различий в отдельных группах статистическую значимость рассчитывали с помощью множественного t-критерия с использованием метода Сидака–Бонферрони. Различия между группами реципиентов и доноров анализировали с помощью непараметрического теста Манна–Уитни. Используемые в работе доверительные интервалы для обозначения статистической значимости следующие: $p < 0,05$ – данные различаются (*); $p < 0,01$ – данные различаются (#).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты исследования белков эритроцитарной мембраны показали значимое количественное изменение белковых фракций в мембране эритроцитов как реципиентов почки/печени, так и родственных доноров.

При анализе белков мембраны эритроцитов реципиентов почки выявлено снижение основных интегральных белков эритроцитарной мембраны: белка полосы 3 и гликофорина до операции на 24 и 25% относительно значений контроля (рис. 1). В постоперационный период регистрировалось дальнейшее снижение концентрации белка полосы 3 на 60% к 7-м суткам после операции относительно значений контроля с последующим постепенным восстановлением показателя к контрольным значениям. Также к 7-м суткам регистрировалось снижение концентрации спектрина и гликофорина на 34 и 58% соответ-

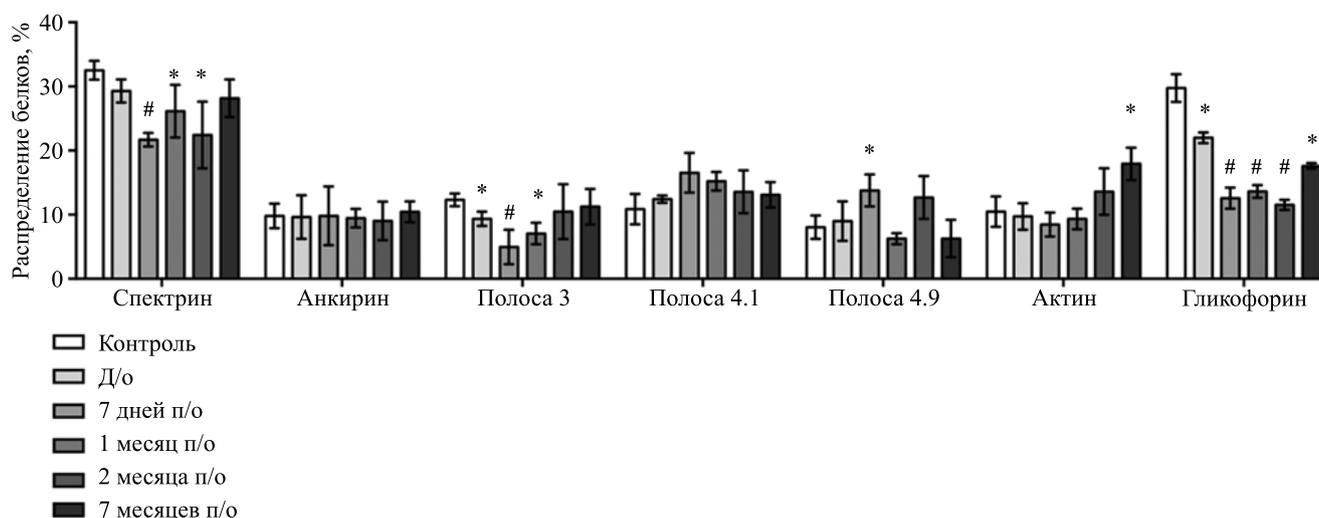


Рис. 1. Динамика белкового состава мембран эритроцитов крови пациентов, перенесших трансплантацию почки. Здесь и далее на рис.: д/о – до операции; п/о – после операции; * – статистически значимые различия относительно контроля ($p < 0,05$); # – статистически значимые различия относительно контроля ($p < 0,01$). Планки погрешностей представлены стандартным отклонением

Fig. 1. Dynamics of protein composition of RBC membranes in kidney transplant recipients. Here and below in Fig.: д/о – before surgery; п/о – after surgery; * – statistically significant differences versus control ($p < 0.05$); # – statistically significant differences versus control ($p < 0.01$). The error bars represent standard deviations

ственно относительно значений контроля с последующим сохранением сниженного уровня спектрина в течение двух месяцев постоперационного периода и гликофорина – в течение всего срока наблюдения.

У родственных доноров почки регистрировалось снижение спектрина на 50%, белка полосы 3 на 65% на 2-й месяц постоперационного периода и рост количества актина к 1 месяцу на 78% относительно контроля (рис. 2). Через 7 месяцев после операции белковый состав мембран восстанавливался до контрольных значений.

Сравнение белкового состава эритроцитов между группами реципиентов и доноров почки выявило различия в динамике спектрина, белка полосы 3 и гликофорина на всех точках регистрации до 2-го месяца после операции ($p < 0,05$), что свидетельствует

о более выраженном изменении белкового состава эритроцитов реципиентов.

Исследование мембраны эритроцитов у пациентов после трансплантации печени выявило значимое снижение количества гликофорина до и после операции в течение 2 месяцев с максимальным снижением показателя к 7-м суткам после операции на 72% относительно значений контроля (рис. 3). После операции на 7-е сутки регистрировалось снижение белка полосы 3 на 80%, к 1 месяцу сохранялось пониженное значение белка полосы 3 на 66% и наблюдалось снижение концентрации спектрина на 25% относительно контроля. К концу исследования белковый спектр восстанавливался до контроля.

У родственных доноров фрагмента печени изменения белкового состава были выявлены только

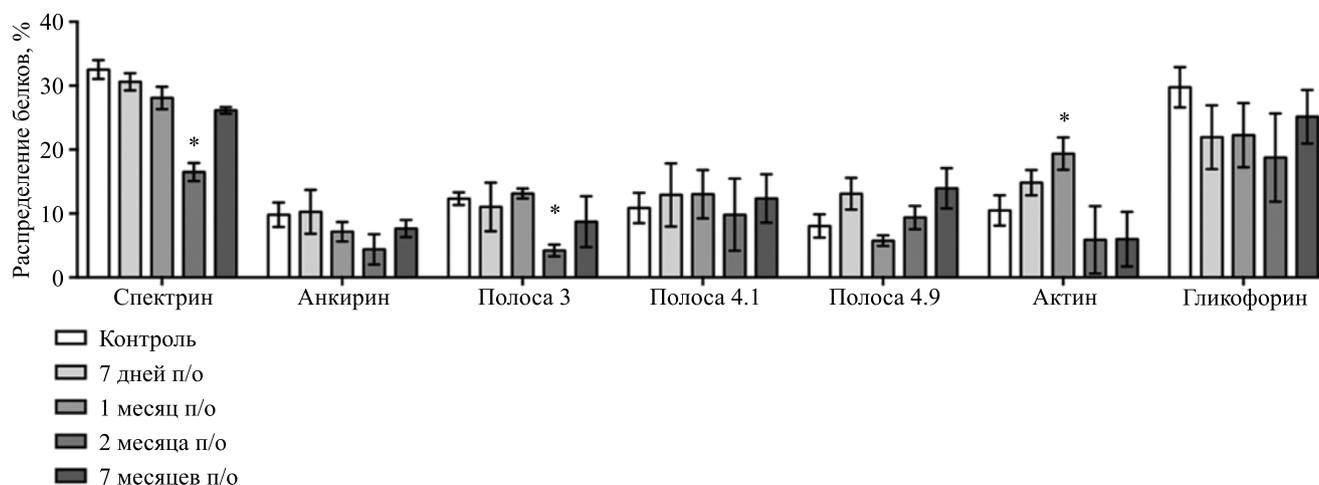


Рис. 2. Динамика белкового состава мембран эритроцитов крови родственных доноров почки

Fig. 2. Dynamics of protein composition of RBC membranes in related kidney donors

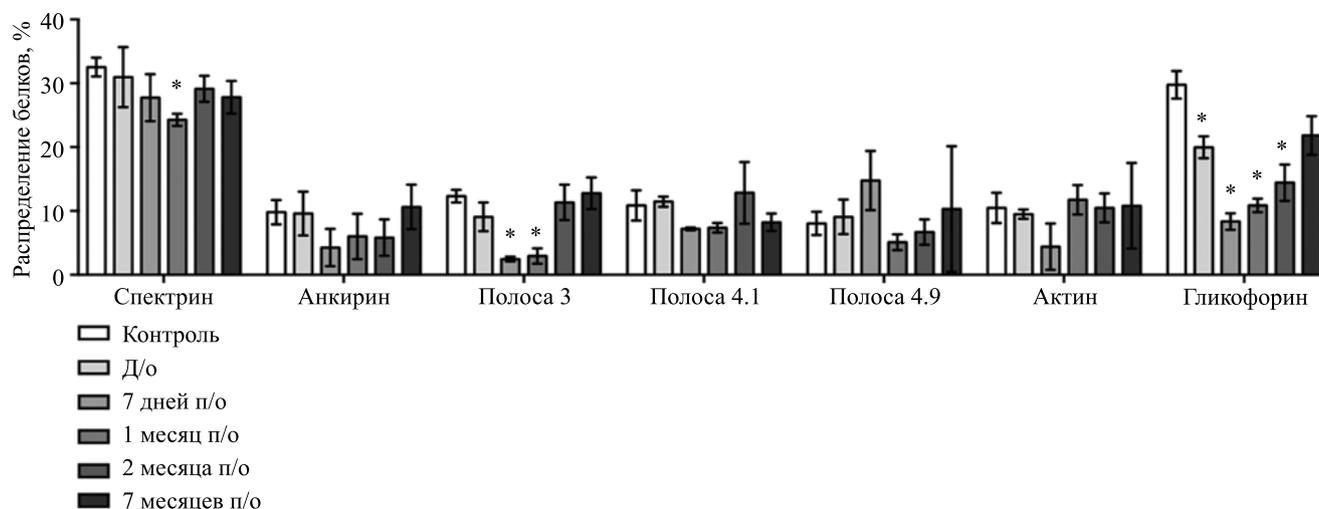


Рис. 3. Динамика белкового состава мембран эритроцитов крови пациентов, перенесших трансплантацию печени

Fig. 3. Dynamics of protein composition of RBC membranes in liver transplant recipients

в отношении содержания гликофорина к 1 месяцу наблюдения (снижение составило 65%) и актина, концентрация которого увеличивалась на 49%, при сохранении остальных фракций на уровне значений контроля (рис. 4).

При сравнении концентраций белковых фракций мембран эритроцитов у реципиентов и доноров печени были выявлены значимые отличия по содержанию спектрина через 1 месяц после операции, белка полосы 3 – на 7-е сутки и 1 месяц после операции и гликофорина – 7-е сутки – 2 месяца после операции ($p < 0,05$).

Таким образом, в послеоперационный период наблюдались изменения как периферических, так и интегральных белков эритроцитарной мембраны, что сочеталось с изменением функциональных показателей эритроцитов (ЭФПЭ – показателя, отражающе-

го поверхностный заряд клеток) и агрегационными свойствами эритроцитов. Показано, что у пациентов, перенесших трансплантацию почки, значение ЭФПЭ было значимо снижено в период до второго месяца после операции (рис. 5). У доноров почки происходило снижение ЭФПЭ в период от 1 до 2 месяцев после операции (рис. 6). После двух месяцев показатель ЭФПЭ восстанавливался. Исследование агрегационных свойств эритроцитов выявило, что у пациентов, перенесших трансплантацию почки, наблюдалось повышение агрегации эритроцитов, что согласуется с понижением ЭФПЭ у данной группы пациентов (рис. 7). У родственных доноров почки не наблюдалось значимого изменения агрегации (рис. 8).

У пациентов, перенесших трансплантацию печени, регистрировалось снижение ЭФПЭ в течение первого месяца после операции (рис. 9). У родственных

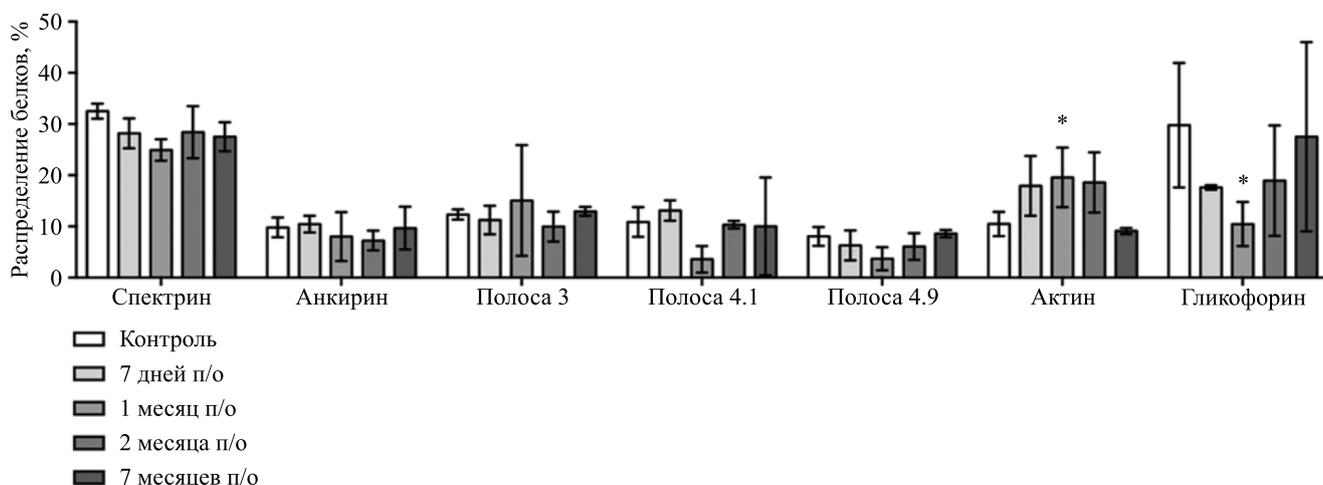


Рис. 4. Динамика белкового состава мембран эритроцитов крови родственных доноров печени

Fig. 4. Dynamics of protein composition of RBC membranes in related liver donors

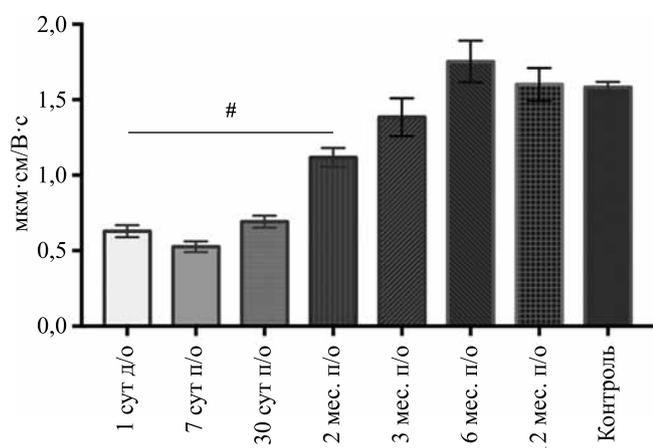


Рис. 5. Динамика изменения ЭФПЭ пациентов, перенесших трансплантацию почки

Fig. 5. Dynamics of changes in RBC electrophoretic mobility in kidney transplant recipients

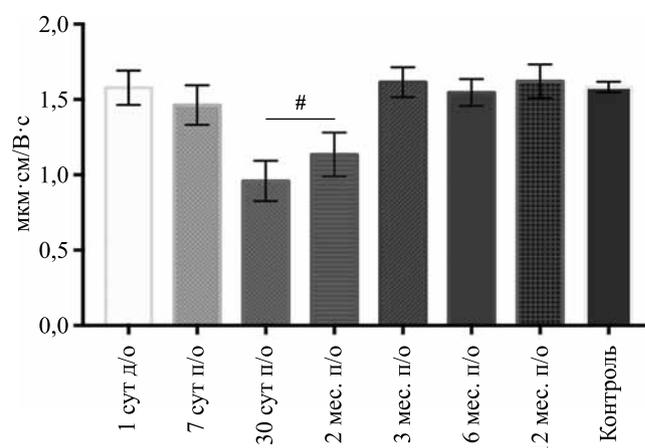


Рис. 6. Динамика изменения ЭФПЭ родственных доноров почки

Fig. 6. Dynamics of change in RBC electrophoretic mobility in related kidney donors

доноров фрагмента печени снижение ЭФПЭ было отмечено на 30-е сутки после операции (рис. 10). Показано, что у пациентов, перенесших трансплантацию печени, наблюдалось достоверное повышение агрегации эритроцитов в период до 1 месяца (рис. 11). У родственных доноров фрагмента печени значимых изменений исследуемого показателя не отмечено (рис. 12).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Известно, что структурные изменения мембран эритроцитов при развитии патологических процессов играют решающую роль в реализации функциональной активности клеток. В данном пилотном исследовании нами показано, что изменение белкового состава мембраны влияло на элетроотрицательность эритроцитов и их агрегацию у реципиен-

тов и на элетроотрицательность у доноров печени и почки. При этом необходимо учитывать, что серьезным осложнением при трансплантации являются реперфузионные повреждения, которые связаны с микроциркуляторными нарушениями и агрегацией форменных элементов крови [18].

Анализ результатов показал, что у реципиентов печени и почки, а также родственных доноров наблюдалась однонаправленная динамика, выраженная в снижении количества интегральных белков. Причем у реципиентов изменение интегрального белка – гликофорина регистрировалось до операции и сохранялось в постоперационный период. Учитывая высокую сопряженность ЭФПЭ с отклонением гликофорина и белка полосы 3, можно предположить, что отмеченная выше динамика изменения уровня данных мембранных белков является одним из ве-

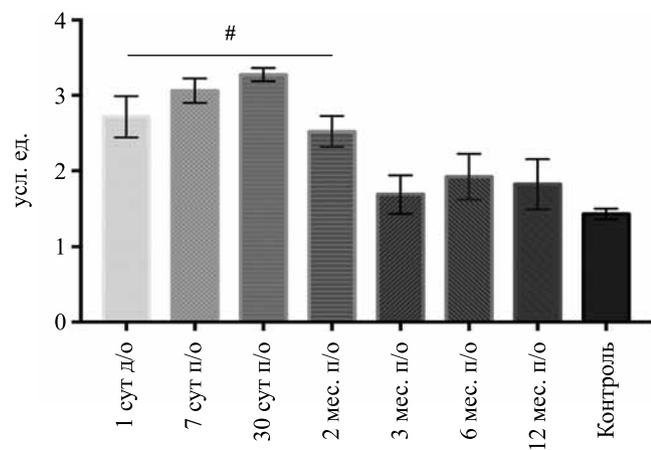


Рис. 7. Динамика агрегации эритроцитов у пациентов, перенесших трансплантацию почки

Fig. 7. Dynamics of RBC aggregation in kidney transplant recipients

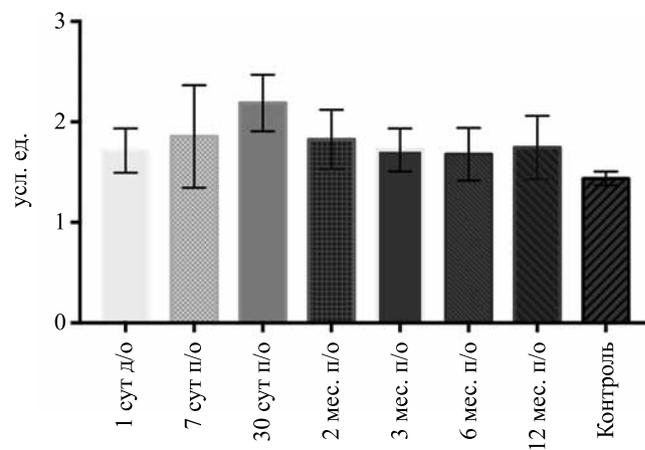


Рис. 8. Показатель агрегации эритроцитов у родственных доноров почки

Fig. 8. Dynamics of RBC aggregation in related kidney donors

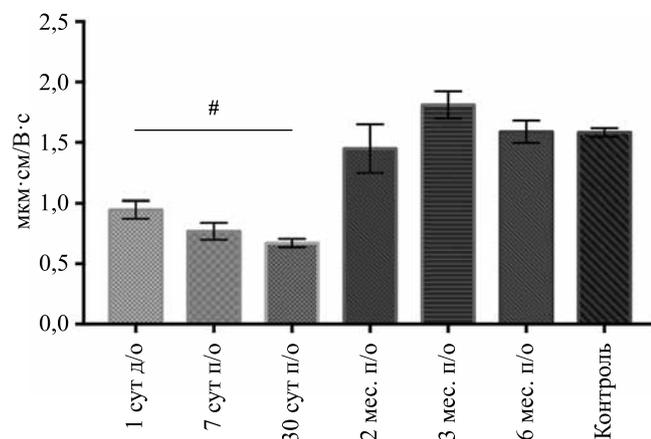


Рис. 9. Динамика изменения ЭФПЭ пациентов, перенесших трансплантацию печени

Fig. 9. Dynamics of changes in RBC electrophoretic mobility in liver transplant recipients

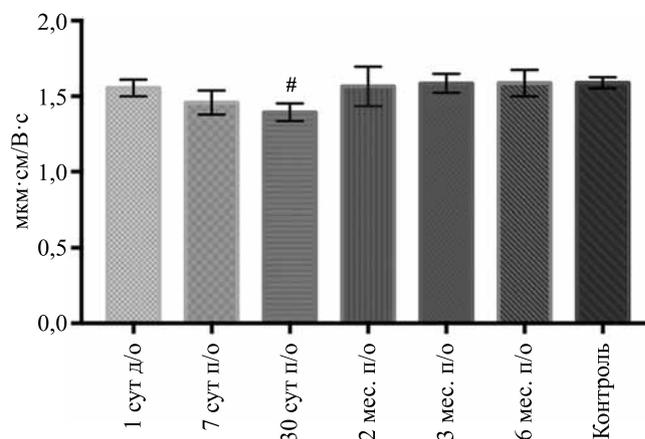


Рис. 10. Динамика изменения ЭФПЭ родственных доноров фрагмента печени

Fig. 10. Dynamics of changes in RBC electrophoretic mobility in related liver donors

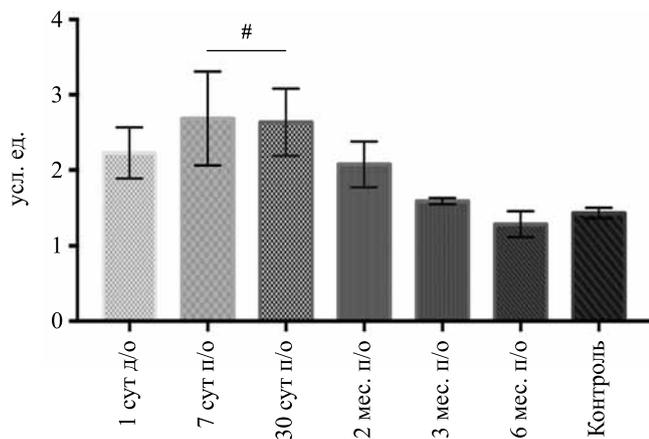


Рис. 11. Показатель агрегации эритроцитов у пациентов, перенесших трансплантацию печени, во временной динамике

Fig. 11. Dynamics of RBC aggregation in liver transplant recipients

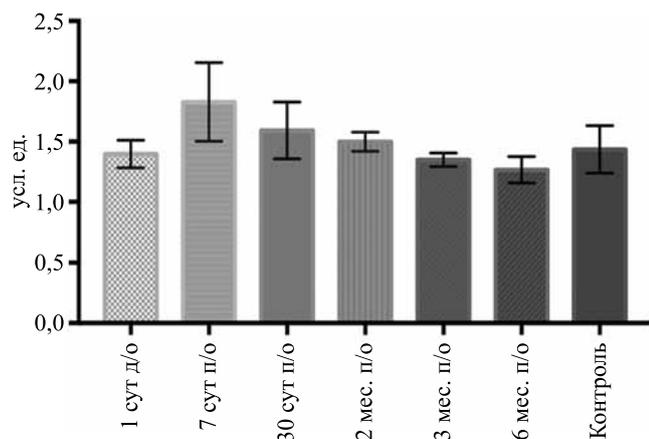


Рис. 12. Показатель агрегации эритроцитов у родственных доноров почки

Fig. 12. Dynamics of RBC aggregation in related kidney donors

дущих факторов, определяющих изменение электроотрицательности эритроцитарных мембран. В частности, известно, что белок полосы 3 и гликофорин относятся к сиалогликопротеинам и вносят основной вклад в создание отрицательного поверхностного заряда [19, 20]. Модификация поверхностного заряда может вносить вклад в агрегацию эритроцитов, но не является основополагающим фактором, что доказывает выявленное снижение ЭФПЭ и отсутствие агрегации у доноров исследуемых групп.

Изменение агрегации, по всей видимости, носит более сложный характер и определяется множественными взаимодействиями как интегральных, так и периферических белков. В качестве значимых факторов в процессе агрегации могут выступать белки цитоскелета, которые определяют пластичность мембраны:

при уменьшении содержания спектрина наблюдается сокращение мест связывания с анкирином и снижение поверхностной вязкости мембраны [21]. Вероятно, определенный вклад в такие характеристики, как пластичность и агрегация эритроцитов, вносит белок полосы 3. Так, цитоплазматическая область белка полосы 3 имеет сайты связывания с рядом ферментов гликолиза [22], снижение активности гликолиза уменьшает концентрацию АТФ, активность Na-K-АТФазы и пластичность эритроцитов [23]. Угнетение активности Na-K-АТФазы приводит к увеличению концентрации внутриклеточного Ca²⁺ [24]. Накопление ионов Ca²⁺ активирует кальмодулин, который определяет рост агрегации эритроцитов [22, 25].

Таким образом, совокупность полученных результатов свидетельствует, что в процессе агрегации эритроцитов у пациентов после трансплантации печени/почки значимыми факторами являются структурно-функциональные нарушения, определяемые спектрином, белком полосы 3, гликофорин. Причем, анализируя динамику белкового состава эритроцитов доноров, можно говорить, что рост концентрации актина сдерживает усиление агрегации эритроцитов.

ВЫВОД

При трансплантации органов, в частности печени и почки, происходит повреждение белковой структуры мембран эритроцитов, выраженное как у реципиента, так и у родственных доноров, что может инициировать снижение электроотрицательности и увеличение агрегации эритроцитов.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Готье СВ. Трансплантология XXI века: высокие технологии в медицине и инновации в биомедицинской науке. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2017; 19 (3): 10–32. Gautier SV. Transplantation of the 21st century: High technologies in medicine and innovations in biomedical science. *Russian Journal of Transplantation and Artificial Organs*. 2017; 19 (3): 10–32. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2017-3-10-32.
2. Журавель СВ, Кузнецова НК, Чжао АВ, Тимербеев ВХ. Трансфузия компонентов крови при ортотопической трансплантации печени. *Общая реаниматология*. 2007; 3 (4): 28–30. Zhuravel SV, Kuznetsova NK, Chzhao AV, Timerbayev VKh. Transfusion of blood components during orthotopic hepatic transplantation. *General reanimatology*. 2007; 3 (4): 28–30. [In Russ].
3. Тарабарко НВ, Епифанов СЮ, Пинчук АВ. Комплексная коррекция состояния свертывающей системы крови в ранние сроки после трансплантации почки.

- Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2016; (5): 24–25. Tarabarko NV, Epifanov SU, Pinchook AV. The complex correction of blood coagulability in early terms after kidney transplantation. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs.* 2016; (5): 24–25. [In Russ].
4. Хубутия МШ, Журавель СВ, Гуляев ВА, Кабанова СА, Хватов ВБ, Никулина ВП. Использование эритроцитов донора печени при ортотопической трансплантации трупной печени. *Вестник Российской военно-медицинской академии.* 2014; 4 (48): 152–157. *Khubutiya MSh, Zhuravel SV, Gulyaev VA, Kabanova SA, Khvatov VB, Nikulina VP.* Usage of red blood cells from cadaveric donor during orthotopic liver transplantation. *Vestnik Rossiiskoi Voenno-meditsinskoi akademii.* 2014; 4 (48): 152–157. [In Russ, English abstract].
 5. Манченко ЕА, Козлова ЕК, Сергунова ВА, Черныш АМ. Однородная деформация нативных эритроцитов при их длительном хранении. *Общая реаниматология.* 2019; 15 (5): 2–10. *Manchenko EA, Kozlova EK, Sergunova VA, Chernysh AM.* Homogeneous deformation of native erythrocytes during long-term storage. *General reanimatology.* 2019; 15 (5): 2–10. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15360/1813-9779-2019-5-4-10.
 6. Муравьев АВ, Михайлов ПВ, Тихомирова ИА. Микроциркуляция и гемореология: точки взаимодействия. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция.* 2017; 16 (2): 90–100. *Muravyov AV, Mikhailov PV, Tikhomirova IA.* Microcirculation and hemorheology: points of interaction. *Regional blood circulation and microcirculation.* 2017; 16 (2): 90–100. [In Russ, English abstract].
 7. Бояринов ГА, Бояринова ЛВ, Дерюгина АВ, Соловьева ОД, Зайцев РР, Военнов ОВ и др. Роль вторичных факторов повреждения мозга в активации сосудисто-тромбоцитарного гемостаза при черепно-мозговой травме. *Общая реаниматология.* 2016; 12 (5): 42–51. *Boyarinov GA, Boyarinova LV, Deryugina AV, Solov'eva OD, Zaytsev RR, Voyennov OV et al.* Role of secondary brain damage factors in activation of vascular platelet hemostasis in traumatic brain injury. *General reanimatology.* 2016; 12 (5): 42–51. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15360/1813-9779-2016-5-42-51.
 8. Kuhn V, Diederich L, Keller TCS 4th, Kramer CM, Lückstädt W, Panknin C et al. Red Blood Cell Function and Dysfunction: Redox Regulation, Nitric Oxide Metabolism, Anemia. *Antioxidants & redox signaling.* 2017; 26 (13): 718–742. doi: 10.1089/ars.2016.6954.
 9. Дерюгина АВ, Грачева ЕА. Динамика морфофункциональных показателей эритроцитов при действии сульфгидрильного ингибитора ангиотензин-превращающего фермента фентиаприла в экспериментальном моделировании артериальной гипертензии. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова.* 2019; 105 (9): 1163–1170. *Deryugina AV, Gracheva EA.* Dynamics of the morpho-functional indicators of erythrocytes under the action of sulfhydryl inhibitor of angiotensin-converting enzyme fentiaprilin the experimental model of arterial hypertension. *Russian journal of physiology.* 2019; 105 (9): 1163–1170. [In Russ, English abstract]. doi: 10.1134/S0869813919090048.
 10. Skoumalová A, Herget J, Wilhelm J. Hypercapnia protects erythrocytes against free radical damage induced by hypoxia in exposed rats. *Cell Biochem Funct.* 2008; 26 (7): 801–807. doi: 10.1002/cbf.1509. PMID: 18683905.
 11. Романов СВ, Абаева ОП, Александрова ОЮ, Смирнова ГЮ. Проблемы и перспективы построения системы органного донорства в регионе (на примере Нижегородской области). *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2019; 21 (1): 57–63. *Romanov SV, Abaeva OP, Alexandrova OY, Smirnova GY.* Issues and perspectives of building a regional system of donor services (on the example of Nizhny Novgorod region). *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs.* 2019; 21 (1): 57–63. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2019-1-57-63.
 12. Романов СВ, Жуков СН, Дзюбак СА. Экономические и социальные проблемы оказания медицинской помощи реципиентам почки и печени в амбулаторных условиях (на примере регионального амбулаторного центра трансплантации). *Главврач.* 2020; (1): 23–33. *Romanov SV, Zhukov SN, Dzyubak SA.* Economic and social problems of providing medical care to kidney and liver recipients on an outpatient basis (on the example of a regional outpatient transplantation center) Chief Medical Officer. 2020; (1): 23–33. [In Russ, English abstract]. doi: 10.33920/med-03-2002-02.
 13. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 1970; 227 (259): 680–685.
 14. Боровская МК, Кузнецова ЭЭ, Горохова ВГ, Корякина ЛБ, Курильская ТЕ, Пивоваров ЮИ. Структурно-функциональная характеристика мембраны эритроцита и ее изменения при патологиях разного генеза. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН.* 2010; 3 (73): 334–354. *Borovskaya MK, Kuznetsova EE, Gorokhova VG, Koriakina LB, Kuril'skaya TE, Pivovarov JuI.* Structural and functional characteristics of membrane's erythrocyte and its change at pathologies of various genesis. *Bulletin of ESCC SB RAMS.* 2010; 3 (73): 334–354. [In Russ, English abstract].
 15. Bonarska-Kujawa D, Cyboran-Mikołajczyk S, Kleszczyńska H. Molecular mechanism of action of chlorogenic acid on erythrocyte and lipid membranes. *Molecular Membrane Biology.* 2015; 32 (2): 46–54.
 16. Дерюгина АВ, Иващенко МН, Игнатъев ПС, Лодяной МС, Самоделькин АГ. Изменение фазового портрета и электрофоретической подвижности эритроцитов при различных видах заболеваний. *Современные технологии в медицине.* 2019; 11 (2): 63–68. *Deryugina AV, Ivashchenko MN, Ignatiev PS, Lodyanoy MS, Samodelkin AG.* Alterations in the phase portrait and electrophoretic mobility of erythrocytes in various diseases. *Modern Technologies in Medicine.* 2019; 11 (2): 63–68. [In Russ, English abstract]. doi: 10.17691/stm2019.11.2.09.
 17. Дерюгина АВ, Абаева ОП, Романов СВ, Ведунова МВ, Рябова ЕН, Васенин СА, Тимова НА. Электрокине-

- тические, оксидантные и агрегационные свойства эритроцитов в послеоперационном периоде при трансплантации почки. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2020; 22 (2): 72–79. *Deryugina AV, Abaeva OP, Romanov SV, Vedunova MV, Ryabova EN, Vasenin SA, Titova NA*. Electrokinetic, oxidative and aggregation properties of red blood cells in the post-operative period following kidney transplantation. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2020; 22 (2): 72–79. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2020-2-72-79.
18. *Искендеров Э, Кандога А, Менде К*. Влияние усилителя регенерации печени на течение реперфузионного повреждения *in vivo*. *Вестник Авиценны*. 2012; (4): 154–158. *Iskenderov E, Kandoga A, Mende K*. Effects of amplifier liver regeneration on the currency *in vivo* reperfusion injury. *Avicenna bulletin*. 2012; (4): 154–158. [In Russ, English abstract].
19. *Simmonds MJ, Herbert JM, Oguz KB*. Blood rheology and agin. *Journal of Geriatric Cardiology*. 2013; 10 (3): 291–301. doi: 10.3969/j.issn.1671-5411.2013.03.010.
20. *Шумилова АВ, Дерюгина АВ, Гордлеева СЮ, Бояринов ГА*. Действие цитофлавина на электрокинетические и агрегационные показатели эритроцитов в посттравматический период черепно-мозговой травмы в эксперименте. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2018; 81 (3): 20–23. *Shumilova AV, Deryugina AV, Gordleeva SYu, Boyarinov GA*. Cytoflavin action on electro-kinetic and aggregation indices of erythrocytes in the post-traumatic period of cerebrocranial injury in experiment. *Éksperimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya*. 2018; 81 (3): 20–23. [In Russ, English abstract]. doi: 10.30906/0869-2092-2018-81-3-20-23.
21. *Moroz VV, Chernysh AM, Kozlova EK, Borshegovskaya PY, Bliznjuk UA, Rysaeva RM, Gudkova OY*. Comparison of red blood cell membrane microstructure after different physicochemical influences: atomic force microscope research. *Journal of Critical Care*. 2010; 25 (3): e531–512. doi: 10.1016/j.jcrc.2010.02.007.
22. *Nunomura W, Takakuwa Y, Parra M, Conboy J, Mohandas N*. Regulation of Protein 4.1R, p55, and Glycophorin C Ternary Complex in Human Erythrocyte Membrane. *The Journal of biological chemistry*. 2000; 275 (32): 24540–24546. doi: 10.1074/jbc.M002492200.
23. *Yamaguchi T, Fukuzaki S*. ATP effects on response of human erythrocyte membrane to high pressure. *Biophysics and physcobiology*. 2019; 16: 158–166. doi: 10.2142/biophysico.16.0_158.
24. *Glitsch HG*. Electrophysiology of the sodium-potassium-ATPase in cardiac cells. *Physiol Rev*. 2001; 81: 1791–1826. doi: 10.1152/физрев.2001.81.4.1791.
25. *Muravyov AV, Tikhomirova IA, Maimistova AA, Bulaeva SV, Zamishlayev AV, Batalova EA*. Crosstalk between adenylyl cyclase signaling pathway and Ca²⁺ regulatory mechanism under red blood cell microrheological changes. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2010; 45 (2–4): 337–345. doi: 10.3233/CH-2010-1317.

*Статья поступила в редакцию 22.07.2020 г.
The article was submitted to the journal on 22.07.2020*

Q-METHODOLOGY TO IDENTIFY PERCEPTIONS OF DECEASED ORGAN DONATION IN THE UK

R.M. Muaid, T. Chesney

University of Nottingham, Nottingham, Great Britain

Background. Attitude towards organ donation is predominantly positive in the UK, however, donation rate remains low. To develop more effective interventions, this research aims to examine the behavioural barriers in organ donations using Q methodology to elicit patterns of overlap among different barriers and motivators. **Method.** A Q methodology study was conducted with 40 participants aged 19–64 were asked to rank 47 statements on issues that are associated with organ donation. By-person factor analysis using Centroid method and Varimax rotation was conducted to bring out patterns in the way statements were ranked to obtain groupings of participants who had arranged the statements in similar fashion. **Results.** Four viewpoints were extracted: The Realist, the Optimist Hesitant, the Pessimist Determinant and the Empathetic. Salient barriers to organ donation presented in each viewpoint suggest that perceived lack of knowledge, anxiety, mistrust in the healthcare system and lack of cue to action are the main barriers to organ donation. Consensus statements suggest that religion and family agreement are inconsequential if attitude to organ donation is well formed. **Conclusion.** There are different attitudes around deceased organ donation that were uncovered using Q methodology. These results suggest that people respond to behavioural change campaigns differently depending in their own perceptions on organ donation. We argue that a paradigm shift in behavioural interventions is underpinned by understanding the overlapping yet distinctive nature perceived perspectives.

Keywords: Organ donation, Q methodology, behavioural interventions.

INTRODUCTION

Despite the joined effort of hundreds of researchers to improve the rate of organ donation, there has only been a slight increase in donation rates in the UK averaging at 2% growth rate annually (NHS, 2019b) [1].

Organ donation decision is extremely complex. It invokes countless beliefs, symbols, sentiments, and emotions as well as numerous rituals and social practices. A meta-analysis Feeley and Moon (2009) [2] and Li et al. in (2015) [3] showed weak performance and low effect size for those interventions, likely caused by the extensive emotional reactions organ donation triggers (Miller, Currie, & O'carroll, 2018) [4] that can influence information processing (Handley & Lassiter, 2002) [5] and communication (Stefanelli & Seidl, 2017) [6]. When asked about barrier to organ donation, participants usually respond with familiar notions triggered intuitively (Greene & Haidt, 2002) [7]. Religion, fear of death and «I don't know much about it» are, unsurprisingly, the most common barriers reported in qualitative studies. Most interventions to increase donation rate are based on the main modifiable barrier reported in literature, which is knowledge and information. We propose, however, that people have heterogenous views about organ donation, an amalgam of different components jumbled together to shape the attitude.

Subjective perception to barriers to donation have not been fully explored in organ donation. Literature suggests that what is considered as a barrier might act as a motivator depending on individual subjective perception. This study uses Q methodology to identify how people in UK perceive barrier to organ donation and how such perception creates distinctive views. Views on organ donation further our understanding of barriers against organ donation and inform behavioural interventions to produce more targeted and effective approaches.

MATERIALS AND METHODS

To investigate attitudes towards deceased organ donation in people residing temporarily or permanently in UK for six months or longer, we conducted a Q methodology study. Q methodology combines the strengths of both qualitative and quantitative research practises and allows for a systematic investigation of human subjectivity (McKeown & Thomas, 2013) [8]. It is neither a survey nor an interview. The sample size for Q methodology studies is small and «does not need large numbers of subjects as does survey analysis» (Smith, 2001) [9]. It is especially suitable for research with «many, potentially complex and contested answers» (Watts & Stenner, 2005) [10]. In Q methodology research, attitudes represent «prototypical exemplars» (Valenta & Wigger,

1997) [11] rather than disconnected, non-overlapping ideas with cut-off points such opposite to the attitudes presented in the current literature.

In a Q study, participants are presented with a set of statements around the area of study. Participants are then asked to rank those statements according to their agreement with each statement on a quasi-normal grid. Q methodology is completed through several stages (Fig. 1). The first step is to create a concourse. A concourse refers to the collection of all discussions around the topic (Stephenson, 1980) [12]. This includes statements made around the topic of organ donation collected from existing literature (interviews and surveys), social media contents, essays, publications, and any other source related to the issue.

Initially, 224 statements were collected to account for all possible views, statements and opinions around the topic (Stephenson, 1980) [12]. A comprehensive literature review using several databases was the major source of these statements, complemented by Google searches and informal conversations to enrich the collection of concourses beyond the published. Statements from social media, like Facebook comments, YouTube videos, blogs, and NHS (National Health Services in the UK) websites were collected. Concourse statements were structured into 8 themes: religion, body, death, healthcare, knowledge, awareness, recipient, and others.

The statements were then reduced to a manageable-sized list to form the Q set, 47 statements representing barriers and motivators falling under all themes. The participants sample in Q methodology, the P set; was strategically selected (Brown, 1980) [13]. P set does not represent the population, it represents the variety of views in a population, thus the sample size in Q methodology is smaller than that of a survey, and it is generalisable in representing the variety in population. Data collected from 40 participants recruited through snowball sampling strategy, aged between 19–64 years' old (45% female and 55% male). A conscious effort was put to ensure that participants hold different religions and cultural origins. Data were collected online on qmethodsoftware.com.

Participants were provided with instructions to arrange the statements from +5 (similar to what I think) to –5 (opposite to what I think) with the zero column representing statements that (do not concern me) (Brown, 1980) [13]. The grid distributions forces participants to rank statements from 2 statements per column on ends to 7 statements at the middle. The resulting outcome is the Q sort, a genuine ‘operationalised’ representations of personal point of views (McKeown & Thomas, 2013) [8].

RESULTS

Q sorts resulted in 7 factors initially. We used Pearson correlation for this study and opted for Varimax rotation and centroid method for analysis. This is followed by creating factors arrays, which represent a hypothetical Q sort that loads perfectly onto a factor. Kaiser-Guttman criteria, Humphrey’s Rule and Scree Test were used to reduce the number of factors into distinguishable attitudes to facilitate interpretations. We found three factors that satisfy all three criteria used for factor extraction, those three factors account for 31 participants and explain 39% of total variance (Table 1).

Factors’ Interpretation. Factor interpretation was carried out using the «*crib sheet*» method (Watts & Stenner, 2012) [14] to ensure systematic and holistic approach in the interpretation process. The crib sheet lists the two statements at each end (on location +5 and –5) then lists the statements ranked the lowest and the highest by that factor. The support factor interpretation and comparison between factors.

Factor Interpretation

The interpretation is conducted by applying abductive strategy in interpretation. By the end of interpretation, we created a qualitative account each viewpoint, a story to describe each viewpoint comprehensively.

Factor 1 – I want to know more; Factor 1 explains 11% of variance in the study. Eight people loaded significantly on this factor (Table 2). Only participant is registered as an organ donor (Fig. 2).

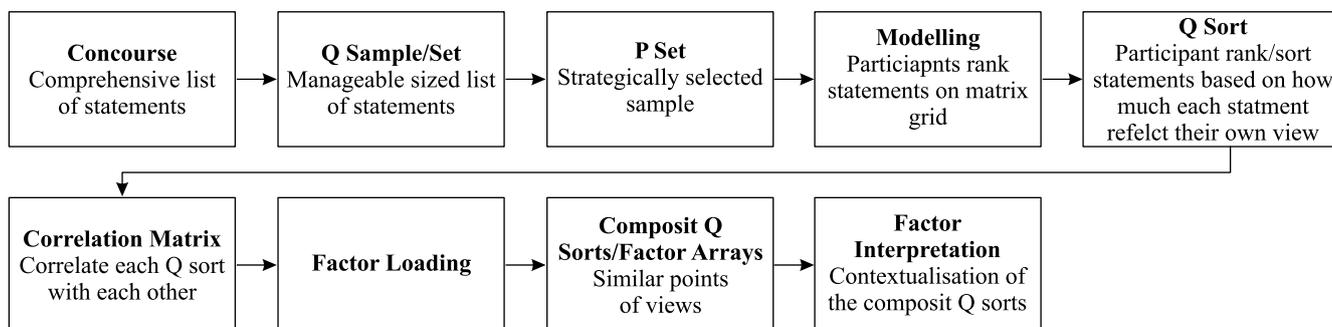


Fig. 1. Q Methodology Stages

Table 1

Statements and Factor Arrays

Statement	Factor 1	Factor 2	Factor 3
1 – I believe my religion does not allow it	-2	-1	0
2 – I think rich or famous people can receive organs before the people with the most need	-1	-2	2
3 – I do not think I have ever thought about it	-2	1	1
4 – I think the process of registration is complicated	0	-2	-1
5 – I think anyone can register and be a donor even if old or have a disease	0	1	2
6 – I think there is no special need for organs for Asian, African, and Middle Eastern groups	-3	-3	-2
7 – I think giving out organs to save someone’s life is a noble act	4	4	5
8 – I think doctors might not do their best to save someone’s life if they know they are on the Organ Donor Register	1	-3	-4
9 – I think I am too old to donate	-4	-2	-3
10 – I believe I will be haunted if I donate	-4	0	-2
11 – I think it is non-religious to take organs	-5	-1	0
12 – I do not know anyone who donated an organ	5	-2	4
13 – I believe there is a great need for organs especially in minority groups	2	1	3
14 – Brain death is confusing to me, but I think experts know better	1	2	2
15 – I feel I cannot decide to donate because I do not know all the facts	5	3	-1
16 – I believe transplantation results are successful and they are improving people’s health	3	5	5
17 – If someone religious says it is not allowed, then I will not do it	-3	1	-5
18 – I feel talking about death and after life is important to appreciate our lives	0	3	3
19 – I think doctors will prematurely declare my death If I am a donor just so they can harvest my organs	0	-4	-2
20 – It feels scary to donate, but once I pass that emotional hurdle, I feel better about myself	1	3	2
21 – I believe the human body is not a machine	-1	-1	0
22 – I think brain dead people can regain consciousness	1	0	1
23 – I thought about registering as a donor but I never did	2	5	1
24 – I do not want doctors or the healthcare system to be in control of my organs	3	-5	0
25 – When someone asks me to register to donate, it feels like he is waiting for my death to get my organs	-2	-5	-1
26 – I trust the donation system to be fair	-1	4	3
27 – I do not mind organ donation but my family disagree	0	0	0
28 – I trust doctors and nurses to always provide the best care they can	2	4	4
29 – I think people exaggerate on the importance of the whole organ donation subject	0	-3	-1
30 – I think people who have medical conditions cannot donate	4	-1	1
31 – I feel I have no responsibility towards anyone else	-1	-4	-3
32 – I think transplant recipients do not live more than 10 years after a transplant operation	2	-1	0
33 – People on the waiting lists are ill and I believe they need my help	1	2	4
34 – I believe donated organs can be bought and sold	-1	-3	1
35 – I might feel easy to donate because my family encourages me to donate	-2	1	2
36 – I believe the present need for transplant organs is fully covered	-3	-2	-3
37 – I believe people would not need transplants if they took better care of their health	4	-4	-4
38 – I do not mind donating some organs, but not my heart or eye	-1	2	0
39 – I believe organs are a gift from god, we are not allowed to give them away	-5	0	-5
40 – No matter how hard it is to think about organ donations, it makes me feel good about myself	2	2	3
41 – I do not think I have the courage to donate	0	3	-2
42 – I think it is just easier to say no than to think about it	3	1	-4
43 – I think my religion encourages organ donation in order save other people’s lives	-3	2	-1
44 – I do not mind donating when I am alive, not when I am dead	-2	0	-3
45 – I want to be cremated and if I donated organs, I cannot do that	-4	-1	-1
46 – Talking about death is creepy	1	0	-2
47 – I think I am not dead if my heart is still beating	3	0	1

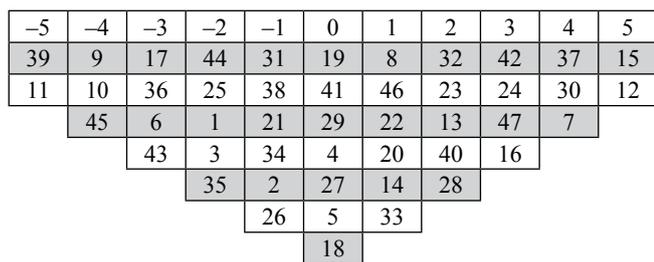


Fig. 2. Factor 1 Array

People on this factor value information and hold themselves responsible for seeking information to make better decisions for themselves. They show a positive view on the success of transplantation procedures. They also have good information on the registration process, but they show a misunderstanding on the donation criteria. They tend to stay rational and in control of their emotional attachments with their bodies keep the religion influence on their decisions to minimum, their religion is personal reflects a positive relationship with their religions, however, they do not tend to follow religious leaders.

The pattern of barriers in this factor shows that both religious and non-religious individual may share similar views. It also shows that the mechanic view of the body

may not be related to non-religious views. Our analysis shows that knowledge is not an abstract term, and educational campaigns targeting this view may prioritise targeting certain themes (such as eligibility criteria and the reasons for organ failures) over other aspect.

Factor 2: I need inspiration & I will never do it; Factor 2 explains 12% of variance in the study. Eight people loaded significantly on this factor (Table 3). None of them is registered as an organ donor. Three out of eight are loaded negatively on this factor, thus; interpretation will be divided into two halves, one for the positively loaded participants and then for the negatively loaded ones.

Factor 2-A: I need inspiration, People on this factor show a high level of trust in healthcare professionals and they extend this trust to the harvesting and allocation systems as well (Fig. 3).

People who loaded positively on this factor show a high level of trust¹. They trust the healthcare professionals² and extend this trust to the harvesting and allocation system as well³. This trust acts as the main motivator for people loading positively on this factor. People loading on this factor show spiritual connections with religion⁴ and with their body⁵.however, they do not perceive religion as a barrier to donation⁶.

Table 2

Sorts Weights on F1

Q Sort	Weight	Gender	Age	Education	Socio-Economic Class	Ethnicity	Religion	Years in UK	Donor
I6205	10	M	27	Mid	Mid	Asian (Nepalese)	N/A	2	No
I4585	5.49	M	33	Mid	Mid	Middle East British	Atheist	3	No
I4584	5.30	F	26	Mid	Mid	Netherlands	Atheist	4	No
I5931	4.10	F	19	Low	Mid	White American	Christian	2	No
I4609	4	M	25	Mid	Mid	White Ukrainian	Atheist	16	Yes
I4652	4	F	36	Mid	Mid	Middle East	Muslim	2	No
I6018	3.89	M	34	Mid	Mid	African	Christian	3	No
I4572	-6.89	M	22	Mid	Mid	Indian	Sikh	2	No

¹ Statement 16 – I believe transplantation results are successful and they are improving people’s health is on +5 rank, 26 – I trust the donation system to be fair and 28 – I trust doctors and nurses to always provide the best care they can on +4 highest among factors.

² Statements 24 – I don’t want doctors or the healthcare system to be in control of my organs and 25 – When someone asks me to register to donate, it feels like he is waiting for my death to get my organs both on –5 and distinguishing statements for this factor, 19 – I think doctors will prematurely declare my death If I am a donor just so they can harvest my organs on –4 and distinguishing factor as well and 8 – I think doctors might not do their best to save someone’s life if they know they are on the Organ Donor Register on –3 both are lowest among factors.

³ Statement 34 – I believe donated organs can be bought and sold on –3 a distinguishing statement and 2 – I think rich or famous people can receive organs before the people with the most need on –2 rank and lowest among factors.

⁴ Statement 43 – I think my religion encourages organ donation in order save other people’s lives on +2 and 17 – If someone religious says it is not allowed, then I will not do it on +1, both are distinguishing statements.

⁵ Statement 38 – I do not mind donating some organs, but not my heart or eye on +2 and distinguishing statement and 21 – I believe the human body is not a machine on –2 and the highest among factors.

⁶ Statement 17 – If someone religious says it is not allowed, then I will not do it is on +1 and a distinguishing statement, statement 11 – I think it is non-religious to take organs and 1 – I believe my religion does not allow it on –1, and 39 – I believe organs are a gift from God, we are not allowed to give them away a distinguishing statement on 0.

-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5
25	31	6	9	11	39	17	43	41	26	23
24	19	34	36	45	10	3	38	18	28	16
	37	29	2	1	44	35	14	20	7	
		8	4	21	27	5	33	15		
			12	32	46	13	40			
				30	22	42				
					47					

Fig. 3. Factor 2 Array

They exhibit a significant fear from the process of organ donation⁷. Several statements show how consistent this group of people in expressing their fear from donating organs and their hesitancy to register. That fear seems to be crippling, and it might be the main barrier against donation⁸. However, positive views from their family and friends may help alleviate such fear⁹.

Knowledge on brain death is not the main drive for the attitude, for people loading on this factor (both positively and negatively), related statements lie in the middle region of the grid, indicating these statements are irrelevant to the decision to donate¹⁰. Most knowledge related statements were ranked in the middle area of the

grid (-2 to +2) indicating that these statements are not extremely relevant to their views on organ donation¹¹.

People loaded positively on this factor demonstrate a trustworthy view of the healthcare system and healthcare providers. They show a spiritual view of the body despite a generally positive view on organ donation. They also show brain death knowledge is not relevant to them and religion may or may not hold negative to organ donation but that does not seem to be the main drive for their attitude. Fear and emotional distress play a major role for people loaded positively on this factor. Despite a great trust in the healthcare system, they appear to be hesitant to take a positive step towards organ donation.

This pattern of barriers shows that messages on religious view on organ donation or myth busting campaigns on brain death may not be relevant. It is the irrational fear that plays the major role regardless of any information they may hold on organ donation.

Factor 2-B: I will never do it, this group represents the people who loaded negatively in Factor 2 (Table 3). People in this group, contrary to the group loaded positively on this factor; show a great mistrust in the healthcare system represented by healthcare providers and allocation system. They largely show an extreme negative view

Table 3

Sorts Weights on F2

Q Sort	Weight	Gender	Age	Education	Socio-Economic Class	Ethnicity	Religion	Years in UK	Donor
4567	5.18	F	46	Low	Low	White American	Christian	12	No
4616	3.98	M	29	Mid	Mid	White European	Atheist	2	No
5897	5.97	F	22	Low	Low	White European	N/A	5	No
6263	5.73	F	52	Low	Mid	White Australian	Christian	25	No
6291	7.9	F	56	Mid	Mid	Chinese	Taoism	7	No
4586	-8.66	F	26	Mid	Mid	Chinese Malaysian	Christian	7	No
6216	-10.3	M	40	Mid	Mid	Latino	Christian	3	No
4648	-13.74	M	25	Mid	Mid	White European	Christian	10	No

⁷ Statement 23 – I thought about registering as a donor but I never did is on +5 and a distinguishing statement for this factor, 41 – I don't think I have the courage to donate and 20 – It feels scary to donate, but once I pass that emotional hurdle, I feel better about myself, and 15 – I feel I cannot decide to donate because I don't know all the facts, all on +3 and are distinguishing statements as well, and 40 – No matter how hard it is to think about organ donations, it makes me feel good about myself on +2 as well as 42 – I think it is just easier to say no than to think about it on +1 and a distinguishing statement.

⁸ Statement 20 – It feels scary to donate, but once I pass that emotional hurdle, I feel better about myself a distinguishing statement and scored the highest among factors and Statement 41 – I do not think I have the courage to donate scored the highest among factors and both statements are on +3.

⁹ Statement 35 – I might feel easy to donate because my family encourages me to donate on +1.

¹⁰ Statement 44 – I do not mind donating when I am alive, not when I am dead a distinguishing statement, 47 – I think I am not dead if my heart is still beating, the lowest among factors and 22 – I think brain dead people can regain consciousness, the lowest among factors, all on 0.

¹¹ They ranked 13 – I believe there is a great need for organs especially in minority groups on +1, 36 – I believe the present need for transplant organs is fully covered on -2 and 6 – I think there is no special need for organs for Asian, African, and Middle Eastern groups on -3. Regarding the registration process, transplantation results and eligibility criteria, they ranked statement 4 – I think the process of registration is complicated on -2, statement 32 – I think transplant recipients do not live more than 10 years after a transplant operation on -1 and statement 30 – I think people who have medical conditions cannot donate on -1 as a distinguishing statement and 9 – I think I am too old to donate on -2.

on organ donation. They may or may not have enough knowledge about registration process, brain death or allocation system, but they certainly have strong negative attitude towards it.

This group of people seems to be determined in their decision regarding organ donation. Their mind is set potentially from death anxiety, poor knowledge or by organ donation scandals in different countries. Behavioural interventions on this group of people seems futile. Further examinations of their views might uncover individual

-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5
25	31	6	9	11	39	17	43	41	26	23
24	19	34	36	45	10	3	38	18	28	16
	37	29	2	1	44	35	14	20	7	
		8	4	21	27	5	33	15		
			12	32	46	13	40			
				30	22	42				
					47					

Fig. 4. Factor 3 Array

reasons for those views. Either way, behavioural changes on this group require individualised and long-term campaigns to alter the negative views which might exhaust the limited resources for such interventions.

As a group, they correlate reasonably high with each other. Moreover, Factor 2 is closer to Factor 3 than to Factor 1.

Factor 3: It is a good deed, Factor 3 explains 16% of variance in the study. Fifteen people loaded significantly on this factor (Table 4). Four of them are registered as organ donors (Fig. 4).

People on this factor view organ donation as a noble act¹² and they are willing to fight their own fear to help those who are ill and in need of those organs¹³. Their fear does not stem from death anxiety or mistrust in the healthcare system. They show trust in healthcare providers¹⁴, while recognising possible corruption in the allocation system¹⁵. They are motivated by their responsibility towards others without assigning any blame towards those who fall ill¹⁶. People loaded on this factor

Table 4

Sorts Weights on F3

Q Sort	Weight	Gender	Age	Education	Socio-Economic Class	Ethnicity	Religion	Years in UK	Donor
4526	6.22	F	27	Mid	Mid	Middle East	Muslim	3	No
4527	4.40	F	26	Mid	Mid	Middle East	Christian	1	No
4565	5.42	F	34	Low	Low	African	Atheist	4	No
4583	5.15	M	38	Mid	Mid	Indian	Hindu	13	No
4606	3.611	M	46	low	High	Indian British	Sikh	46	No
4607	3.76	F	56	Mid	Mid	White British	COE	56	No
4633	4.45	M	30	Mid	Low	Indian	Hindu	2	No
4658	5.43	F	37	Mid	Mid	White British	Christian	37	Yes
4725	6.144	M	35	Mid	Mid	White European	Agnostic	11	Yes
4726	6.56	M	25	Mid	Mid	White European	Atheist	7	No
5839	4.26	M	27	Mid	High	Middle East British	Muslim	12	No
5850	3.91	F	53	Low	Mid	White British	COE	53	Yes
6271	44.25	F	24	Mid	Low	White European	Atheist	5	No
6277	5.04	M	47	Mid	Mid	Indian British	Buddhist	47	Yes
4570	-4.14	M	47	Low	Mid	Middle East British	Atheist	20	No

¹² Statement 7 – I think giving out organs to save someone’s life is a noble act on +5.

¹³ Statement 33 – People on the waiting lists are ill and I believe they need my help on +4 and a distinguishing statement for this factor, 40 – No matter how hard it is to think about organ donations, it makes me feel good about myself on +3 and the highest among all factors, and 20 – It feels scary to donate, but once I pass that emotional hurdle, I feel better about myself on +2. Statement 46 – Talking about death is creepy on -2 a distinguishing statement and lowest among all factors and 42 – I think it is just easier to say no than to think about it on -4 as a distinguishing statement and the lowest among all factors as well.

¹⁴ Statement 28 – I trust doctors and nurses to always provide the best care they can on +4, 8 – I think doctors might not do their best to save someone’s life if they know they are on the Organ Donor Register on -4 and higher among all factors, 14 – Brain death is confusing to me, but I think experts know better on +2 and highest among all factors.

¹⁵ Statement 2 – I think rich or famous people can receive organs before the people with the most need on +2, 34 – I believe donated organs can be bought and sold on +1 and 19 – I think doctors will prematurely declare my death If I am a donor just so they can harvest my organs on -2 all are distinguishing statements for this factor.

¹⁶ Statement 31 – I feel I have no responsibility towards anyone else on -3 and the lowest among all factors and statement 37 – I believe people would not need transplants if they took better care of their health on -4.

shares a more mechanical view and they do not perceive religion to be a barrier to organ donation¹⁷.

The awareness level in this group is high¹⁸ with a considerable knowledge about organ donation registration criteria¹⁹. This awareness is mixed with a certain level of misinformation especially in information related to brain death²⁰. Although they show some comfort with their knowledge level, and they do not perceive is as a barrier against becoming a donor²¹.

As a group, the Q sorts loading on this factor do not correlate with each other, and they load reasonably high on their factor. This indicates that participants loading on Factor 3 have a homogenous view on organ donation. Moreover, Factor 3 is closer to Factor 1 than to Factor 2.

Consensus Statements, Consensus statements are statements with similar Z scores across factors. In this study, there were six statements that were consensus among all three factors (Table 5). Three out of the six statements are related to the general and special need of organs for minority groups. It signifies the relative awareness in the need for organ donation, possibly, brought about by the active campaigns related to the new change in law in organ donation from opt-in to opt-out system. These results suggest that future campaigns can afford to shift their focus on issues other than awareness.

Another consensus statement was statement 9 – I think I am too old to donate, it implies a that age as a criterion for donation is not a major concern for participants, even for older participants, however, other criteria such as medical conditions as an eligibility criterion to donate was important to highlight especially in Factor 1.

The last statement that surprisingly, all factors agreed upon is statement 27 – I do not mind organ donation but my family disagree on rank 0, and it was non-significant even at $P > 0.05$. This results contradicts existing literature that used the Theory of Reasoned Action where subjective norm (a function of normative beliefs) is affected by perceptions of specific salient others' preferences about behaviour (Ryan & Carr, 2010) [15]. Many campaigns to support organ donation focused on improving family approval of their loved one's decision to donate, our study suggests that is not a significant barrier against donation.

DISCUSSION

Behavioural Intervention Insights, identifying three factors (four viewpoints), each with distinguishing combination of barriers and motivators suggests that campaigns with «one size fits all» strategy are ineffective and inefficient. Building on our analysis, we uncovered

Table 5

Consensus Statements

Statement	F1		F2		F3	
	Rank	Z Score	Rank	Z Score	Rank	Z Score
Those That Do Not Distinguish Between ANY Pair of Factors						
All Listed Statements are Non-Significant at $P > 0.01$, and Those Flagged with an * are also Non-Significant at $P > 0.05$						
6 – I think there is no special need for organs for Asian, African, and Middle Eastern groups*	-3	-0.947	-3	-0.995	-2	-0.746
9 – I think I am too old to donate	-4	-1.47	-2	-0.89	-3	-1.02
13 – I believe there is a great need for organs especially in minority groups	2	0.955	1	0.58	3	1.06
27 – I do not mind organ donation but my family disagree*	0	-0.095	0	0.087	0	-0.211
36 – I believe the present need for transplant organs is fully covered*	-3	-1.171	-2	-0.827	-3	-1.022
40 – No matter how hard it is to think about organ donations, it makes me feel good about myself*	2	0.911	2	0.773	3	1.064

¹⁷ Statement 39 – I believe organs are a gift from god, we are not allowed to give them away and 17 – If someone religious says it is not allowed, then I will not do it which is distinguishing statement for this factor, both on -5, 11 – I think it is non-religious to take organs, 43 – I think my religion encourages organ donation in order save other people's lives on -1 and a distinguishing statement and 1 – I believe my religion does not allow it on 0.

¹⁸ Statement 13 – I believe there is a great need for organs especially in minority groups on +3, 6 – I think there is no special need for organs for Asian, African, and Middle Eastern groups on -2 and 36 – I believe the present need for transplant organs is fully covered on -3.

¹⁹ Statement 5 – I think anyone can register and be a donor even if old or have a disease on +2 a distinguishing statement for this group, 9 – I think I am too old to donate on -3; registration process, 4 – I think the process of registration is complicated on -1 and transplantation results, 16 – I believe transplantation results are successful and they are improving people's health on +5.

²⁰ Statement 30 – I think people who have medical conditions cannot donate and 47 – I think I am not dead if my heart is still beating both on +1 and are distinguishing statements, and 22 – I think brain dead people can regain consciousness on +1.

²¹ Statement 15 – I feel I cannot decide to donate because I do not know all the facts on -1 as a distinguishing statement.

insights on potentially effective intervention design for each factor.

Factor 1, The hallmark for this factor is a thirst for knowledge and information with perceived lack of knowledge. For this factor, behavioural change campaigns should focus on providing detailed information about organ donation. However, information should not focus on need (S15/+5), but rather on information about eligibility criteria and brain death. Eligibility criteria might exclude people suffering from certain diseases but not necessarily age (S9/–4). For example, campaigns should focus on the fact that you can still register and even donate even if you have an illness (S30/+4). The eligibility criteria on NHS website which enlists very few diseases that excludes donation, they are Creutzfeldt-Jakob Disease (CJD), Ebola virus disease, Active cancer, and HIV. One can donate organs even if they have had cancer (but not active) or even if they cannot donate blood.

Another important part of information is brain death. Campaigns should focus on the fact that brain death is irreversible, and the patient cannot regain consciousness (S22/+1) (NHS, 2019a) [16] using preferably expert opinion (S14/+1). Campaigns should also focus on the diagnostic criteria of brain death and shows that strict measures for brain death diagnosis eliminates the risk of misdiagnosis.

The campaigns message for this group should stay away from religious messages, family agreement, and easy registration process (although this does not apply top UK anymore with the opt-out system). One effect about opt-out system however, that is important to this group, it is important to highlight that despite the opt-out system, a potential donor will not be forced to donate organs. No organ will be harvested without the permission of the family, thus, the decision to donate is still held by the hands of the person (S24/+3) as participant 4586 explains «If I die and then doctors ask my family for my organs, may be my mother would be so sad she will say no, I want to give her that chance, to say no». Messages here should encourage to communicate decision to the family if one wants to be a donor.

Q methodology analysis for this factor show that knowledge is categorical, and the level of knowledge is irrelevant to the perception of knowledge level. People may perceive their knowledge level to be low despite potentially scoring well in a survey for knowledge level. It shows how perception is at the core of behavioural barrier to organ donation. That is a similar case for religion. People may hold different religions with similar views and vice versa. To address knowledge perception, interventions that are founded on self-efficacy theory can be most relevant to this group.

Factor 2, the hallmark of this factor is the hesitation and anxiety. For this factor, behavioural change campaigns should focus on real-life stories that inspire

others to become a donor. However, campaigns messages should avoid evoking images of «wasted organs» (S38/+2) but rather visuals playing a nice emotional tune that fills the heart with warmth. Examples of emotionally stimulating have been implemented globally and in the UK (NHS, 2019c; Nicholas, 2017) [17, 18].

The campaigns message for this group should focus on emotionally attractive messages to encourage people to overcome their fear and decide to become an organ donor, especially promoting organ donation as a selfless noble act that will help save or improve people's lives. Messages involve positive religious views and religious leaders advocating for organ donation might be impactful. Campaigns promoting sharing decision with family might be helpful as well, especially if the family holds positive views as that would help ease the tension when it comes to considering donating.

This group shows anxiety as the main barrier to donation. Consistently, they show a great emotional reaction throughout the array. For this group, Terror Management Theory may be the most effective theory to be used in behavioural interventions. A study used this theory to alter organ donation behaviour showed that misconceptions mediate the relationship between death thoughts and organ donation intention, this study supports that finding and shows people loaded on this factor perceive their information on organ donation to be insufficient. Interventions to address the hesitancy and death anxiety in this groups should promote organ donation as a selfless noble act that will help save or improve people's lives.

Factor 3, The hallmark of this factor is the need for a cue for action suggesting that interventions based on Immediacy Theory may be most effective for this group. For this factor, behavioural campaigns should focus on providing information about allocation system and the laws that prevents unethical management of organs, this also includes highlighting if there are financial rewards for the donors, the nationality and race of the donors if possible. Complete transparency in the organ donation data on both ends; donation and transplantation are essential for this factor (S2/+2 and S34/+1). Other medical information regarding brain death definition is important too (S14/+2, S47/+1 and S30/+1).

The campaigns message for this group should maintain the organ donation is a selfless act (S7/+5) offering the gift of life (NHS, 2020) and improving the life of people in need, picturing donors as hero and asserting organ donation as the ultimate charitable act especially at certain holidays like Christmas and Eid (NHS, 2019a) [16]. this suggests that Self-Affirmation Theory by emphasising their roles as givers and their values such as selflessness to be effective for this group. Campaigns however should avoid religiously motivated messages and avoid awareness about the need for the organs as well (S13/+3 and S36/–3).

CONCLUSION

There is a chronic and severe shortage of donated organs in UK (NHS, 2018) [19] and a valid argument to a continuously increased demand (Cheetham et al., 2016; Jox, Assadi, & Marckmann, 2015) [20, 21]. There is a complex net of social, religious, and psychological barriers against organ donation, in addition to a potential lack of knowledge and awareness and a history of mistrust in the medical profession. Designing more effective interventions is crucial to increase donated organs.

We examined viewpoints on organ donation using Q methodology. Our results show four distinctive viewpoints. We make no claim to generalise the results for general population, instead, Q methodology examine the variations of views in the population. Our research suggests that people with different viewpoints are influenced by different behavioural change strategies, and we predict that interventions designed with these factors in mind will produce better outcomes than «one-size-fits-all» strategy.

Our data suggests that busting myths and improving knowledge level about organ donation is more effective for people loading on Factor 1, people loading on all other factors may benefit from different strategies that are seldom applied in focused and strategic ways. Moreover, the consensus statement on family agreement on rank zero implies that participants do not consider family disagreement as a barrier which contradicts the fundamental theoretical idea of theory of planned behaviour that is commonly used in the organ donation field. Taken together, the results indicate that there are many folds on the viewpoints about organ donation that we need to unfold. Further research should be conducted to assess the prevalence of each factor and experiments to validate the conclusions on the effective behavioural intervention designs.

The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

- NHS. (2019b). Organ Donation Activity. Retrieved from <https://nhsbtdbe.blob.core.windows.net/umbraco-assets-corp/16420/section-3-organ-donation-activity.pdf>.
- Feeley TH, Moon S-I. A meta-analytic review of communication campaigns to promote organ donation. *Communication Reports*. 2009; 22 (2): 63–73.
- Li AT, Wong G, Irving M, Jan S, Tong A, Ralph AF, Howard K. Community-Based Interventions and Individuals' Willingness to be a Deceased Organ Donor: Systematic Review and Meta-Analysis. *Transplantation*. 2015; 99 (12): 2634–2643. doi: 10.1097/tp.0000000000000897.
- Miller J, Currie S, O'carroll RE. 'What if I'm not dead?' – Myth-busting and organ donation. *British journal of health psychology*. 2019 Feb; 24 (1): 141–158.
- Handley IM, Lassiter GD. Mood and information processing: When happy and sad look the same. *Motivation and Emotion*. 2002; 26 (3): 223–255.
- Stefanelli A, Seidl R. Opinion Communication on Contested Topics: How Empirics and Arguments can Improve Social Simulation. *Journal of Artificial Societies and Social Simulation*. 2017; 20 (4): 1–3.
- Greene J, Haidt J. How (and where) does moral judgment work? *Trends in cognitive sciences*. 2002; 6 (12): 517–523.
- McKeown B, Thomas DB. Q methodology (Vol. 66): Sage publications. 2013.
- Smith N. Operant subjectivity: Objectivity of subjectivity. NW Smith, Current systems in psychology: History, theory, research, and applications Belmont, CA: Wadsworth/Thomson Learning. 2001.
- Watts S, Stenner P. Doing Q methodology: theory, method and interpretation. *Qualitative research in psychology*. 2005; 2 (1): 67–91.
- Valenta AL, Wigger U. Q-methodology: definition and application in health care informatics. *Journal of the American Medical Informatics Association: JAMIA*. 1997; 4 (6): 501–510. doi: 10.1136/jamia.1997.0040501.
- Stephenson W. Consciring: A general theory for subjective communicability. *Annals of the International Communication Association*. 1980; 4 (1): 7–36.
- Brown SR. Political subjectivity: Applications of Q methodology in political science: Yale University Press. 1980.
- Watts S, Stenner P. Doing Q methodological research: Theory, method & interpretation: Sage. 2012.
- Ryan S, Carr A. Applying the biopsychosocial model to the management of rheumatic disease. In *Rheumatology* (pp. 63–75): Elsevier. 2010.
- NHS. (2019a). A lifesaving gift is on the Christmas list of thousands of people this year. Retrieved from <https://www.organdonation.nhs.uk/get-involved/news/a-lifesaving-gift-is-on-the-christmas-list-of-thousands-of-people-this-year/>.
- NHS. (2019c). Real life stories. Retrieved from <https://www.organdonation.nhs.uk/helping-you-to-decide/real-life-stories/>.
- Nicholas R. 6 Campaigns Using Emotion to Boost Organ Donations. 2017. Retrieved from <https://www.mmm-online.com/home/channel/campaigns/6-campaigns-using-emotion-to-boost-organ-donations/>.
- NHS. (2018). Organ Donation and Transplantation – Activity figures for the UK as at 6 April 2018. Retrieved from NHS Blood and Transplant Website: https://nhsbtdbe.blob.core.windows.net/umbraco-assets/1343/annual_stats.pdf.
- Cheetham OV, Thomas MJC, Hadfield J, O'Higgins F, Mitchell C, Rooney KD. Rates of organ donation in a UK tertiary cardiac arrest centre following out-of-hospital cardiac arrest. *Resuscitation*. 2016; 101: 41–43. doi: <https://doi.org/10.1016/j.resuscitation.2016.01.003>.
- Jox RJ, Assadi G, Marckmann G. Organ Transplantation in Times of Donor Shortage: Challenges and Solutions (Vol. 59): Springer. 2015.

The article was submitted to the journal on 12.10.2021

DOI: 10.15825/1995-1191-2022-1-126-136

ANALYSIS OF IMPLICATIONS OF ORGAN DONATION ON LIVING DONORS IN SOUTHEASTERN IRAN: A QUALITATIVE STUDY

R.S. Bahador^{1, 2}, P. Mangolian², J. Farokhzadian², S.S. Afrazandeh³, E. Noohi²

¹ Student Research Committee, Razi Faculty of Nursing and Midwifery, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

² Nursing Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

³ Department of Nursing, Ferdows Paramedical School, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

Objectives: despite the annual increase in living donors and the positive and negative implications following organ donation, this issue had become a significant challenge for donors. The present study aimed to analyze the experiences and views of living donors to organ donation implications. **Material and Methods.** The present study was performed using qualitative content analysis. Twenty participants were selected using the purposive sampling method; data were collected by semi-structured interviews and analyzed based on Lundman and Graneheim contractual content analysis method after implementing MAX 12. **Results.** Data analysis elicited 721 codes, 20 subcategories, six main categories, and two themes, including positive and negative implications of organ donation from the viewpoint of living donors. The main categories of positive effects resulting from organ donation included the «donor's peace of mind», «fundamental strength», and «recipient's achievements». On the other hand, the main categories of negative implications resulting from organ donation included «donor's physical suffering», «damaged interactions», and «abandonment». **Conclusion.** Increasing the number of living donors makes us consider it essential to understand the efficiency of its two-way implications on many aspects of donor and recipient. Thus, managing the negative impacts of living organ donation and strengthening its positive side emphasizes the need to increase the awareness of organ donation associations, develop health policies at higher levels, and, most importantly, improve the satisfaction of live organ donors.

Keywords: qualitative study, implications, living donors, organ donation.

INTRODUCTION

In the current century, significant advances in providing health care services have shifted the pattern of disease to non-contagious diseases. These advances have led to an increase in life expectancy, life span, followed by the spread of chronic diseases and organ failure [1]. Iran is one of the 23 countries with a high burden of these diseases and low and middle income [2]. Organ transplantation is the best treatment for patients with end-stage organ failure. However, the demand for transplanting organs does not match the supply of living and deceased donors [3]. The lack of organs for transplantation is one of the major problems worldwide [4]. This deficiency is much more severe among Black and Asian societies than in European ones [5]. The unavailability of the donated organ is a global concern, as in most cases, this donation takes place when a person is brain dead [6]. Obviously, deceased donors cannot meet the growing demand, especially for organs such as the kidneys, and their families may not even be consent to organ donation

[7]. For this reason, voluntary organ donation attracted the attention of living people all over the world, including Iran. This donation can include organ donation during the wellbeing period and voluntary consent to donate organs after death by receiving an organ donation card [8].

Dong et al. (2011) stated that the transplantation of living organs has more benefits. For example, the liver is an organ that possesses the capacity to regenerate. In particular, after transplantation of a living organ, the donor and recipient's liver regrow and regenerate to complete organs. In terms of survival and transplant rejection, transplantation of living organs is better than that of dead organs [9].

Regardless of the benefits of living organ donation to the recipient, living donors may experience many positive and negative implications after donating an organ. For example, a recent literature review about these implications on living liver and kidney donors has shown that generally, they feel optimistic about the organ donation experience and are not regretful. They have a high level

of health related quality of life (HRQOL) [10, 11]. Some other studies have suggested that a considerable number of living donors experience psychosocial problems after donation. For example, one study found an increase in detectable psychiatric disorders among one in four living donors, including cases without a history of pre-donation disorders. In this analysis, at most one-third of donors reported poor health conditions or significantly got worse than before the donation, and persistent fatigue and pain were relatively common complaints [10]. Others agree on considering the potential benefits of donating to living kidney donors. They agreed that organ donation candidates should be aware of the risks and benefits of donation despite the confirmation of guidelines; there is, unfortunately, no scientific evidence on the benefits of live donation [12, 13]. However, some studies showed that the experience after transplantation, the same as a new chronic condition, leads to an uncertainty about the future and affects life accommodation [14].

Despite the growing number of living donors, few qualitative studies measured the implications of organ donation. The present study examined the positive and negative implications of organ donation from participants' perspectives in southeastern Iran's cultural context, using a qualitative approach and in-depth analysis of the phenomenon from the standpoint of living donors regarding the high frequency of organ donations in this region. It directs the community's policies toward describing potential risks and enhancing its benefits for potential donors when making informed decisions and informed consent.

MATERIALS AND METHODS

Study design and setting

A qualitative approach of contractual content analysis was used to explain organ donation's impact on living donors, applying purposive sampling of living organ donors in the southeastern part of Iran. In the present study, samples were referred to the organ donation center, Kidney and Bone Marrow Donation Commission in Afzalipour hospital, and Kidney Donation Association. The interview place, chosen by participants, was cozy and comfortable so that people safe during the interview (hospital, private home, park, nursing school, etc.).

Participants

In the present study, a total of 20 participants, including 16 organ donors, one member from the family of the donor, one organ recipient, one surgeon from the Organ Donation Commission, and one psychologist, were studied. Nine of the donors participating in the study included kidney donors, five were non-related (for sale), and four were related (not for sale). Four of them had bone marrow donations, one non-related (for sale)

and three related (not for sale), and the remaining three donors, who were related (not for sale), donated a portion of the liver.

Data collection

The collected data analysis determined the number of participants; sampling continued without any restrictions until all levels and codes were saturated and completed. Proper communication was established between categories. The first author conducted interviews. However, all the researchers reviewed the interviews like an outside supervisor. After each interview, the researchers studied the interviews, identified the interview's strengths and weaknesses, and reviewed the items considered in the following interview. According to the written reminders, the proposed questions required researchers to refer to two participants for the interview during the analysis of the interviews. Two interviews were conducted with participants 2 and 1. Researchers conducted a total of 22 interviews with 20 participants. The interview questions centered on the implications of organ donation in living donors. First, the interview started with open questions like «Would you mind sharing your experience of positive and negative implications of the organ donation you did?», then a follow-up question was asked to clarify the concept. The interview took 45–90 minutes. At the end of the interview, participants were given the interviewer's mobile phone number and asked to discuss any issues with the interviewer if they remembered any of the implications of organ donation and the possibility of further interviews. Finally, participants were appreciated with a small gift.

Analysis

Data collection and analysis were performed simultaneously. The MAXQDA.12 used to facilitate organization and comparison of the data. The transcription of each interview was reviewed several times. The qualitative data content analysis process was performed according to the method proposed by Graneheim and Lundman, including writing the entire interview, reading the entire text of interviews several times to achieve a general understanding of its content and immersion in the data, determining semantic units and summarizing them, extracting the primary codes, classifying the similar primary codes under the same subcategories, classifying similar codes under more comprehensive categories, extracting latent and manifest concepts from the data, and formulating the final themes [15]. To this end, after preparing the transcriptions, each text was reviewed several times. Later, the semantic units were identified based on the research questions and appropriate codes were written for each semantic unit. As shown in Table 1, the preliminary codes were categorized and labeled based

on their conceptual similarity (subcategories). The subcategories were compared and placed under the main categories, which were more abstract (categories). The main categories were categorized under a more abstract concept (theme). All extracted codes and categories were reviewed and approved by the second and fifth authors of this study. The initial extracted codes were reduced by continuous data analysis and comparison; finally, the categories and subcategories were abstracted. Lincoln and Guba criteria (credibility, dependability, confirmability, and transferability) were used to ensure the data trustworthiness [16]. To ensure the results credibility, participants were asked to confirm the extracted codes from the interview and resolve the contents on demand (member check). Data-source triangulation from interviews with family caregivers with variety in relationship with patient, ethnicity and religion established credibility. Regarding confirmability of the findings, all texts of the interviews, codes, and categories were reviewed and confirmed by the second, third, and fifth authors of this study (peer check) as well as a faculty member outside the research area (faculty check). To ensure the dependability of the results, all stages of the study were recorded. Participants were selected by maximum variation sampling in terms of ethnicity, level of education, religion, economic status, relation to the patient, and social class, which enhanced the transferability of the study.

Ethics approval and consent to participate

To observe ethical considerations, the researcher asked participants to complete the informed consent form, and before starting the interview, they were allowed to record audio and take notes. They were assured all demographic information would remain confidential. After the final report, the audio files would be removed, and, if desired, they could obtain the audio file of the interview from the researcher and be informed of the overall results. Participants were reassured that they were free to leave the study at any stage of the study. The Ethics Committee of Kerman University of Medical Sciences approved this study with the code of IR.KMU.REC.1398.222.

RESULTS

A total of 20 participants, including 16 organ donors, one donor family member, one organ recipient, a surgeon member of the donation commission, and a psychologist included in the present study. Participants were in the 26–58 age range. Table 1 displays other participants' features including gender, marital status, education level, age, etc. Based on the participants' statements about organ donation implications, we extracted 721 codes, 20 subcategories, six main categories, and two themes

(Table 2). Table 3 also shows the narrations of the participants according to the subcategories.

Positive Implications of Organ Donation

The Peace of Mind

The first major category of positive implications was living donor's «peace of mind». Based on a thorough analysis of interviews with living donors, this category includes the subcategories of «Donor's Sense of calm and Satisfaction», «Satisfaction of donor's Spiritual Needs», «Improvement of donor's Economic status», and «Donor's Adaptation and acceptance and his family with a donation».

Donor's Sense of Tranquilization and Satisfaction:

This subcategory was more evident in related donors. Participants felt disburdened after donating, thus leading to peace of mind and happiness. Some participants considered donation an honor and never regret it. They stated that their family members pay attention to them more than before, which leads to strengthening their relationship and finally their satisfaction.

Satisfaction of donor's Spiritual Needs: Donating an organ is a humanitarian and God-pleasing act and can save the lives of patients who need organs or transplanted tissues due to having various diseases. Hence, some participants showed great interest in filling the form of transplant cards. Participants described it God-pleasing act and anticipated a reward in the other world. Some of the participants who donated the organ for charitable purposes stated that they felt light, disburdened, and satisfied.

Improvement of donor's Economic Status: Due to the economic plight governing the society, selling the organs in towns has increased. We see Organ For Sale Ads distributed in social networks beside urban graffiti. Improving the donor's economic state is what some donors consider as a positive consequence of organ donation.

Donor's Adaptation and acceptance with a donation: When a person steps into the process of acquiring a new identity, he or she may anticipate and experience many challenges and concerns along the way. What awareness the donor face or what reaction their family member show facilitates the acceptance. In this regard, we have seen better acceptance and adaptation in related donor families and non-related donor families who did this great job to save their family's lives.

The present study showed that most related donors felt satisfied, peace of mind, acceptance, and adaptation, but non-related donors did not feel them. However, improving the economic state was seen more in non-related donors in the early days due to receiving money from the receivers; and in the long term, due to compensating for the hard-working and suffering of patient's family by the receivers in related donors. Spiritual needs of

both non-related and related donors of kidney and bone marrow were satisfied.

Donor's Fundamental Strength

The second major category of positive implications of organ donation, in living donors, is the fundamental strength of the donor. This main category includes three subcategories of donor's «Paying more attention to life», «Taking more care of the physical condition», and «Resistance against the difficulties».

Paying more attention to life: This is the first and most leading subcategories. Evidence has shown that those who experience life-threatening diseases appreciate the renewed life.

Taking more care of physical condition: Because these people once experienced illness and transplantation, they prefer to take more care and pay more attention

to their physical condition so that they do not get sick again. Post-donation self-control and self-care are positive aspects.

Resistance against the difficulties: A number of donors believed, it is normal to have troubles, unhappiness, and failures in our lives. Problems and inconveniences arise in people's lives and are not specific to one person. When people face problems and losses, they have to solve them to the best of their abilities. Life has its ups and downs and is not always meant to be. Sometimes the hardships and misfortunes grow and evolve us. This increases capacity, patience, and forbearance. Both related and non-related donors of kidney, liver, and bone marrow experienced these subcategories. They were more intense in related donors.

Table 1

Participants demographic characteristics

Row	Gender	Age	Education	Economic state	Marital status	Donation	Period	Donation state	Relation with recipient
1	Female	30	Bachelor's Degree	average	single	kidney	1 year	not for sale (related)	sister
2	Male	35	Master's	poor	single	kidney	1 year	not for sale (related)	brother
3	Female	33	Diploma	poor	others	kidney	5 years	for sale (non-related)	non-related
4	Female	27	Bachelor's Degree	good	single	kidney	5 months	not for sale (related)	sister
5	Female	43	Master's	good	others	bone marrow	8 months	not for sale (humanitarian aids)	non-related
6	Male	45	Diploma	good	married	bone marrow	4 months	not for sale (related)	father
7	Male	28	Diploma	poor	single	bone marrow	2 years	for sale ads (non-related)	non-related
8	Male	36	Bachelor's Degree	poor	married	kidney	6 years	for sale by organ donation association (non-related)	non-related
9	Female	35	illiterate	poor	married	kidney	10 years	not for sale (related)	mother
10	Male	38	Bachelor's Degree	average	married	liver	2 years	not for sale (related)	father
11	Male	32	Diploma	good	others	liver	1 year	not for sale (related)	mother
12	Male	40	Diploma	average	single	kidney	5 years	for sale by organ donation association (non-related)	non-related
13	Male	56	Bachelor's Degree	average	married	kidney	15 years	for sale by organ donation association (non-related)	non-related
14	Female	29	Master's	good	single	liver	11 months	not for sale (related)	sister
15	Male	40	Diploma	average	others	kidney	7 years	for sale by organ donation association (non-related)	non-related
16	Female	46	Diploma	good	married	bone marrow	1 year	not for sale (related)	mother
17	Male	56	Super-specialized	good	married	–	–	–	Surgeon
18	Female	38	PhD	good	married	–	–	–	psychologist
19	Female	34	Diploma	poor	married	–	–	–	donor's family member
20	Male	26	Bachelor's Degree	average	single	–	–	–	recipient

Table 2

Theme, Categories and subcategories extracted from the data

Theme	Main category	Subcategory
Positive consequences of organ donation	Peace of mind	Donor’s sense of tranquilization and satisfaction
		Satisfaction of donor’s Spiritual Needs
		Improvement of donor’s Economic status
		Donor’s Adaptation and with a donation
	Fundamental strength	Taking more care of the physical condition
		Paying more attention to life
		Strengthening the donor against the difficulties
	Recipient’s achievements	Recipient’s Mental state Improvement
		Recipient’s more attention to life
		Reducing the time limits of disease
		Recipient’s More Accomplishments in life
	Negative consequences of organ donation	Physical suffering
Physical effects on the donor		
Damaged interaction		The emotional gap in married life
		Threats and the collapse of intimacy
		Chaos and differences in relationships
Abandonment		Donor’s psychological disorders
		Donor’s Fear of the unknown future
		Regret for the decision to donate
		Economic, social, educational collapse on the donor

Table 3

Examples of quotes from study participants

Subcategories	Participant Narratives
Donor’s Sense of Tranquilization and Satisfaction	«We were all happy after the donation. I had a strange feeling after donating my kidney, as if I was feeling peace and calm. I was feeling on top of the world. I had never experienced it before. «It was a calm after a storm.» (P1). «I feel intimate with my partner more than before, Elahe tells me that she feels a piece of my organ in her body, and she is into me. I am not regretful; It was the best decision I had ever made. I talk about it with honor.» (P4).
Satisfaction of donor’s Spiritual Needs	«By doing so, I proved to myself and my children that this world is transient and hereafter is important, and God gives me a hand. I felt I took one of thousand responsibilities God assigned me.» (P5). «In our religion, just as taking the life of a human being is highly condemned, giving life to people is also highly valued. I strongly believe in this expression. By doing so, I feel released from concerns of daily life» (P6).
Improvement of donor’s Economic Status	«I could clear my debts. At least I did not feel ashamed in front of my family. I did not have any mental concern» (P15). «I could run a business, it was not so profitable, but I am happy with it.» (P7).
Donor’s Adaptation and acceptance with a donation	«Before making this decision, I was anticipating these days, so I tried to deal with the issue of living with one kidney, so that this issue would not be challenging for me in the future, and thank God, My family and I accepted this issue, and I cope with it easily.» (P4). «I sold my kidneys in a tough situation and my wife supported me greatly. Even after the donation, she paid more attention to me physically and mentally; I feel better and better. As she accepted this matter, I could deal with it.» (P15).
Paying more attention to life	«Sometimes I find this event a flip, believe it or not, I don’t waste my times after donating, and I plan for every moment of life» (P14).
Taking more care of physical condition	«I am careful of my about healthy nutrition and safety. For example, in the fall, I will get the influenza vaccine. Thank God I did not face any problem.» (P8). «My sister and I are much more careful about our health than before. We strengthen ourselves. We try to stay far away from someone who has an infectious disease because now our body system is more vulnerable.» (P4).
Resistance against the difficulties	«Now I do not make life hard as I did before and am not greedy for many things. I don’t get tired with any difficulty. I am extremely patient now». (P11). «I stand on my own feet now. I think I will be able to cope with many problems alone, either economically or psychologically and ...». (P12).

Subcategories	Participant Narratives
Recipient's Mental state Improvement	<i>«I remember exactly a few days after the donation, that his mental state had improved. He was no longer sad. I never imagined that he would get better quickly and get out of his loneliness.» (P2). «I saw my patient's wellness. They were no longer as frustrated and depressed as they were during the disease period», said the psychologist. (P18).</i>
Recipient's More Accomplishments in life	<i>«My sister has won a place in chess and tennis and even won a medal. She is very successful at work as well.» (P1). «I promised that if I returned to normal life, I would work hard and be able to compensate for my family's attempts», said one of the participants, who was a recipient and related donor (P20)</i>
Recipient's more attention to life	<i>A related participant who is close to the recipient stated: «When he talks to relatives and acquaintances, he advises them not to waste their life and appreciate it. He keeps repeating these words at home.» (P16). the experience of the organ recipient was as follows: «I no longer need to follow a strict diet, I am more active, more outgoing, now I feel like I live like other people.» (P20).</i>
Changes in the body image	<i>«Now, when I see the scar on my body, I feel bad. In the early days, I felt malformed, and I was upset. Or if someone saw my scars, I would tell them that I fell and wounded.» (P15). «I think because I am different financially and physically from the others, it has caused me to lose my self-confidence.» (P8). «I think I am entirely different from others. This weakens my morale. I feel a change in people's behavior to me. Is it a true feeling, or I became crazy?» (P3).</i>
Physical Complications	<i>«Although I underwent transplantation long ago, sometimes I feel pain on my scar; I went to the doctor several times, had a general examination and sonography, and finally told me that you have no problem, another doctor told me that it could be caused by damage and you have to put up with it.» (P10). «Evidence has shown that patients undergoing kidney transplantation may have long-term complications such as high blood pressure, diabetes, etc.», the participant surgeon said. «Therefore, they should be monitored for a long time and given the necessary training.» (P17). «When I researched the complications of kidney donation, I got information about the risk of death, not about the physical damage.» (P 9).</i>
The emotional gap in married life	<i>«After the operation, my wife distance herself from me. She did not express her feelings at all. She did not say anything. Later, I found out that she was under the care of a urologist and she is physically malformed.» I turned the blind eye. I was damaged emotionally.» (P19).</i>
Chaos and differences in relationships	<i>«Every time I dispute with my wife, she blames this as my weakness. It makes me even more nervous. We were on the verge of getting divorced once.» (P13). «My wife did not have the slightest idea of my donation when she found out, e had conflicts and dispute. I am regretful. Although I am happy with this act, I would consult my wife if I returned.» (P15). «I objected because I did not want my husband to be defective and a friend and acquaintance would tease me. Although I turn a blind eye, I blame him sometimes (P19).</i>
The threat of intimacy	<i>«I lost my favorite girl because I told a lie to her about it. At first, I thought she would get angry and come back, but she left me forever. So sometimes I say, 'I wish I had not done it' Now I think I cannot start a family.» (P12).</i>
Fear of the future	<i>«I'm afraid of any possible problem in the future because I am a man and I have to work. If I get exhausted, my family do nothing», said one participant. (P12). «Before making a decision, I did not think about the future at all, I thought only about the present, I wanted to make those conditions better, but now after a few years, I am regretful. I know I was under a lot of pressure at the time, and I really could not make the right decision, I could not collect the correct information because I did not have much time.» (P3).</i>
Economic, social, and educational collapse	<i>«The tests and visits were costly for me because I was not insured. Unfortunately, the recovery process took a long time because of the extreme stress I had. I am the head of my family.» (P9). «I did not attend the classes for a while due to the situation at home, my sister's illness, and the decision I made for the donation. I was excluded from the class because of my frequent absence. I got fired from a part-time job due to troubles we go into.» (P4).</i>
Mental disorders	<i>«After the operation, I was completely depressed. I am no longer as happy as before. I am not hopeful for life. I just got better. The first few months after I had severe depression, I was targetless. I used to go mountain climbing and travel, but now I don't even like to attend family events.» (P13). the psychologist believed: «Donors are not physically monitored, except for some alarming cases. Psychological symptoms are like flames in the ashes, which, if not constantly monitored, can lead to more severe mental disorders.» (P18).</i>

Recipient's achievements

The last category of positive implications of organ donation in living donors was the achievements of the recipient. Because we used theoretical sampling, our participants included organ recipients, psychologists, and donor families. In the present study, most participants were related donors, regularly interacted with the recipient, and saw the implications of organ donation clearly in him, so this main category was elicited from their conversations. It includes four subcategories of «Recipient's Mental state Improvement», «Recipient's More Accomplishments in life», «Recipient's more attention to life», and «Time constraints reduction of diseases».

Recipient's Mental state Improvement: Recipients experience lots of pressure and stress due to enduring the disease's stressful conditions and involving family members in similar situations. Thus, it causes severe psychological problems. Related donors, friends, relatives, co-workers, psychologists, and even the recipient believed in improving the mental state after the operation was successful. The psychologist participating in the study also agreed with the patient's family members.

Recipient's More Accomplishments in life: Most organ recipients became successful in various life areas after the transplantation. The reason for their belief in working hard in life is to compensate for the wasted time.

Recipient's more attention to life: Another subcategory of recipient achievements is the recipient's more attention to life, which was also the case with organ donors.

Reducing the time limits of disease: During the illness, we hear about restrictions on diet, physical, recreational, and social activity in interviews with the patient and his relatives. These restrictions greatly affected the patient and those around him. Organ transplants significantly reduced the limitations of the disease.

Negative Implications of Organ Donation

Despite the positive implications of living organ donation, participants believed that the other side of the spectrum was dark. It is clear that the expansion of living organ donation, like any other phenomenon in the treatment system, along with undeniable achievements, has undesirable implications. The negative implications of organ donation include «donor's physical suffering», «damaged interactions» and «Donor abandonment».

Donor's physical suffering: The first category of perceived negative implications of living-organ donation is donor's physical suffering, which includes two subcategories of «Changes in the body image» and «Physical effects».

Changes in the body image: Many participants believed that organ donation caused them unforeseen

physical experiences. This mental image results from sensory perceptions over the years, social interactions with other people, and responses. The body image changes with the gradual body change over the years. Any change in the body image of the body seriously disturbs the balance of the person. These changes can result from disease, accidents, or evolutionary changes in the body's structures and function. People are distressed by the slightest change in appearance or bodily functions. Significant changes can be devastating. Some people express their feelings easily and freely in such cases, but others even refuse to look or touch the area. Some people are so preoccupied with a change in their body's mental image that they become depressed or resort to self-destructive behaviors.

Physical Complications: Participants believed that organ donation caused unpredictable physical complications for them. In this regard, doctors in this study pointed to the unforeseen short-term and long-term complications of organ donation.

Damaged interactions

The second category associated with perceived negative implications is damaged interactions, which included three subcategories of the emotional gap in married life, intimacy threats, conflict, and turmoil in the relationship. This category was more common in non-related donors.

The emotional gap in married life: Participants believed that organ donation caused an emotional gap following marital dissatisfaction in their lives.

Chaos and differences in relationships: Some donors had donated organs without consulting them due to the possible opposition against donations by the family. When their family learned this issue, implications such as chaos, quarrels, and disputes would arise. Family members of some patients saw organ donation as a defect in organs and a factor in labeling others, which they believed caused family members to be embarrassed by friends and acquaintances.

The threat of intimacy: Loss of intimacy and closeness between family members, especially spouses, was an important implication of organ donation.

Abandonment: The third category was related to the negative implications of organ donation in living donors. This category was elicited from the participants' statements. They stated that there was no monitoring after the donation, including three subcategories of «occurrence of psychological problems in the donor», «fear of the future», «regret for donating», and «the economic, social and educational collapse».

Fear of the future: Most participants with different intensities experienced fear of the future. This fear was more prevalent among non-related donors. It was evident in related donors whose transplant was rejected but was

more accepted by the related donors, arguing that the transplant would be done to save the life of their beloved ones and they acted resorting to God. A small number of organ donors regretted the decision sometime after the organ donation. They believed that the decision was made in a critical situation and alone; perhaps a safer decision would have been made if there was enough time.

Economic, social, and educational collapse: Another subcategory was donor abandonment after the donation that was more evident in related donors. Participants believed that no insurance covered their costs, and they were completely ignored after the donation in many ways, which disrupted their lives after the donation. This was more evident in poor donors.

Mental disorders: Several participants believed that they experienced different symptoms after donating an organ. These symptoms were more severe in non-related donors, while the related donors, except in cases of forcible donation (lack of time to find a suitable donor, physician's recommendation due to multiple rejections of recipient's transplantation) did not have symptoms. Psychologists believe that donors get mental disorders after organ donation due to lack of monitoring and sudden abandonment.

DISCUSSION

The present study aimed to investigate living donors' experiences and views about the implications of organ donation. One of the positive implications of organ donation from the participant's perspective was «donor's peace of mind». In this regard, Rasmussen et al. Stated that donors experienced a sense of tranquility and reduced anxiety after donation. The donation has strengthened their relationship, caused a positive change, dynamism, and fortified the whole family [17]. These donors believe that the pleasure of seeing the recipient's everyday life compensates for the donor's adverse experiences, besides the appreciation by the recipient's family and constant respect from others makes the donors feel proud and privileged [18–20]. In contrast, some donors express dissatisfaction that their recipient does not appreciate them [21].

In the present study, many related donors described the donation as an honor and believed that they would not be regretful in the future. Donors consider the increased attention and care of other family members to improve relationships and their satisfaction. From the spiritual perspective, recent studies consistent with the present study have shown that this decision has philosophical or spiritual nature and strengthens spiritual beliefs [17, 19, 22]. From an economic point of view, although some studies report financial problems after organ donation [23–25], others suggest the improvement of the economic state. In this regard, a qualitative study showed

the recipient's back to work and a decrease in donor's responsibility [17].

However, related donors had difficulties in making a living. They had financial problems due to the prolonged recovery period after donation, the cost of surgery and tests, and even job loss. After recovery, they became motivated to return to life; thus, their economic state improved (with more intensity in the related liver and kidney donors). On the other hand, the improvement of economic state was evident in the non-related donors in the first days of donation, after receiving financial assistance from the recipient's family. In this category, we saw donors' acceptance and adaptations. They accepted the possibility of danger in the future and did so by trusting in God. In another study, donors decided that they would live with the implications, no matter what happens to them, and that the donor's risk and implications would be acceptable to them with the prospect of improving the recipient's life. The donor was adapted to it mentally and physically [18].

The second category for positive outcomes was donor's «fundamental strengthening» and was more experienced in related donors. Previous studies, consistent with the present study, have shown that donation caused a change in donor's viewpoints to life [26], increased self-esteem [19], personal growth [27], feelings of success and pride [28, 29]. They felt no physical difference [26, 28, 30]. According to a qualitative study, donors believed that donation led donors to pay greater attention to their physical condition, independence, improved social life, and return to normal by related donors [17]. In contrast, in our study, most related donors noted that donation was a turning point in their lives. Most donors returned to life at an even higher level than the pre-donation period. The opposite was true for some non-related donors.

The last category was the positive implications of organ donation, the «achievements of the recipient», and was more intense in recipients who received organs from a related donor than those who received it from a non-related donor. However, some studies have negatively described the overall experience of donating. They showed that some recipients experienced stress, symptoms of depression, or anxiety, reported to occur despite the desired medical outcome [21, 29]. It can result from stress, adaptation and effects of steroids, so it affects their relationships. These recipients said that despite the successful transplantation, they did not feel stronger or better due to comorbidities such as diabetes and thought that they wasted the donor's effort and kidneys so that the donor and other family members blamed him [21]. Another study reported the significant effect of transplantation on health for both the recipient and his family [30]. Rasmussen's qualitative study addressed the ending up of limitations (dialysis, diet, and reduced impact on the family), returning recipient to full-time

work, handling more tasks and responsibilities, and then reducing the care and financial burden of the donor as well as the recipient's potential to participate in activities such as hanging out with friends, eating out, and gaining independence. The present study stated that the donor's and recipient's lives had excelled to a higher level than before the operation (routine) [17]. Organ recipients had great success in various areas of life after the transplantation. Most of them agreed on compensating for the wasted time resulting from their diseases and all efforts of their family and donor.

Negative Implications: The first category of negative implications of organ donation is «physical suffering», which was equally evident in all donors. Other studies have shown that common concerns of liver donors include bloating, shrinking of the Muscle tone [11], fatigue [11, 20], abdominal pain, back pain, or interfering pain [20]. In contrast, kidney donors showed an increased risk of gestational hypertension or preeclampsia after donation compared to non-donors [31–33]. Another study showed that body image-related concerns were low in kidney donors [34] but evident in liver donors [11].

The second emerging category of negative implications is «damaged interactions». The items mentioned in the present study were primarily experienced in non-related donors and men. This category was manifested in sexual and emotional disorders and even chaos in living donors' normal relationships. However, previous studies have shown that even some related donors experienced increased family relationships and tensions, even years after donation [18, 29, 35]. It was not evident in related donors due to family intimacy and informed pre-donation decisions. Some studies suggested that the relationship between donor and recipient has remained constant or even sometimes improved [19, 28, 30]. Halpern et al. confirmed that sexual dysfunction is common among living kidney donors [21, 36]. Other studies have shown that related donors who donate their organs to spouses describe an improvement in their marital relationship resulting from the donation. Participants were closer to their partners and reported that kidney donation strengthened their relationships and family [17, 21]. Di Martini et al. showed a positive change in relationships even after donating a living liver. In this study, marital, family, and recipient relationships were improved after donation, respectively [20]. This study's results are inconsistent with those of the present study due to the kinship relationship between the donor and recipient.

The last category of the negative implications was «Donor abandonment.» A qualitative study showed that donors trusted physicians' master to monitor their health and medical risks and appreciated medical follow-up. Donors believed that they felt safe and valued when the hospital followed up on their condition regularly [18]. Regarding follow-up, another study reported that most

donors expressed satisfaction with the care received after medical follow-up, but some donors expressed frustration with unfulfilled expectations from health professionals [28]. Although the present study showed that participants trusted in physicians before donation, they mentioned that patients were left alone after donation. It leads to a physical defect, psychological disorders, fear of the future, and feelings of regret for the donation that affected other aspects of life, such as economic, social, and educational collapse. Other studies have shown that donors feel positive about the experience of organ donation and show little regret for donating [10, 11].

Furthermore, donors unanimously agreed on making such a decision again [19, 30]. In the study of Meyer et al., none of the participants regretted their decision [18]. Perhaps this difference results from non-related donors' presence in the present study, which was mentioned as a study limitation in Meyer's study. Some studies showed that many living donors experienced psychosocial problems after donation [10, 37, 38]. The present study suggested that these problems were more common in women than in men, and so did Erim et al. in their studies [39].

In general, recent studies have emphasized the importance of pre-and post-donation evaluation. The transplantation team should pay attention to donors' emotional state and quality of life, especially those with chronic diseases or poor perception [40].

Limitations: The present study had several limitations based on which the implications should be interpreted. First, this study was conducted in southeastern Iran, so cultural beliefs, economic, and even educational problems in this region may cause difficulty in generalizing the results to the other areas. However, it was attempted to include participants with maximum diversity of socio-cultural, work experience, and different educational levels, which has made the results of the study applicable widely in similar units. Second, the analysis was performed during the pandemic; only those whose recovery had long been passed and reached a stable condition were included in the study due to their high-risk conditions. Therefore, it is recommended to perform future studies on living donors, especially in the early days after transplantation and due to corona's impact on their decision and other concerns.

CONCLUSION

Based on the present study results, understanding the implications of organ donation is like a double-edged sword that can be interpreted positively or negatively from the donor's perspective. In this study, the negative implications were primarily observed in non-related donors and those who decided under emergency conditions, while the positive implications were observed in related donors who were close to the recipient and knew his problems. However, there were fewer negative and

positive implications in related and non-related donors, respectively. Commenting on this issue requires further studies on both groups of donors.

We appreciate Kerman University of Medical Sciences for supporting this study and participants.

The study is funded by the Kerman University of Medical Sciences. The funding institution did not play part in designing, conducting the study, managing, collecting and analyzing data and making decision to submit the report of publication.

The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

1. James SL, Abate D, Abate KH. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *The Lancet*. 2018; 392 (10159): 1789–1858.
2. Kilpi F, Webber L, Musaigner A et al. Alarming predictions for obesity and non-communicable diseases in the Middle East. *Public health nutrition*. 2014; 17 (5): 1078–1086.
3. Lai Q, Vitale A, Jesari S et al. The Intention-to-Treat Effect of Bridging Treatments in the Setting of Milan Criteria – In Patients Waiting for Liver Transplantation. *Liver Transplantation*. 2019; 25 (7): 1023–1033.
4. Beard TR, Kaserman DL, Osterkamp R. The global organ shortage: Economic causes, human consequences, policy responses: Stanford University Press; 2013.
5. Wise J. Organ donation: opt-out system should be in place by 2020 in England. *BMJ: British Medical Journal (Online)*. 2018; 362.
6. Popoola AA, Olanrewaju TO, Bolaji BO et al. Expanding renal transplantation organ donor pool in Nigeria. *Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation*. 2018; 29 (5): 1181.
7. Smith SW, Nazione S, LaPlante C et al. Living kidney donor decision making and communication. *Journal of health communication*. 2011; 16 (8): 870–888.
8. Berkman B. Organ Donor Card Effectiveness. *AMA Journal of Ethics*. 2002; 4 (8).
9. Dong Y, Zha Q, Zhang H et al. Consensus reaching in social network group decision making: Research paradigms and challenges. *Knowledge-Based Systems*. 2018; 162: 3–13.
10. Dew MA, Zuckoff A, DiMartini AF et al. Prevention of poor psychosocial outcomes in living organ donors: from description to theory-driven intervention development and initial feasibility testing. *Progress in Transplantation*. 2012; 22 (3): 280–292.
11. Parikh ND, Ladner D, Abecassis M et al. Quality of life for donors after living donor liver transplantation: a review of the literature. *Liver Transplantation*. 2010; 16 (12): 1352–1358.
12. Van Pilsum Rasmussen S, Henderson ML, Kahn J et al. Considering tangible benefit for interdependent donors: Extending a risk – benefit framework in donor selection. *American Journal of Transplantation*. 2017; 17 (10): 2567–2571.
13. Allen M, Abt P, Reese P. What are the harms of refusing to allow living kidney donation? An expanded view of risks and benefits. *American Journal of Transplantation*. 2014; 14 (3): 531–537.
14. McCormick KM. A concept analysis of uncertainty in illness. *Journal of Nursing Scholarship*. 2002; 34 (2): 127–131.
15. Graneheim UH, Lundman B. Qualitative content analysis in nursing research: concepts, procedures and measures to achieve trustworthiness. *Nurse education today*. 2004; 24 (2): 105–112.
16. Anney VN. Ensuring the quality of the findings of qualitative research: Looking at trustworthiness criteria. 2014.
17. Rasmussen SEVP, Robin M, Saha A et al. The Tangible Benefits of Living Donation: Results of a Qualitative Study of Living Kidney Donors. *Transplantation Direct*. 2020; 6 (12).
18. Meyer KB, Bjørk IT, Wahl AK et al. Long-term experiences of Norwegian live kidney donors: qualitative in-depth interviews. *BMJ open*. 2017; 7 (2): e014072.
19. Brown JB, Karley ML, Boudville N et al. The experience of living kidney donors. *Health & social work*. 2008; 33 (2): 93–100.
20. Butt Z, DiMartini AF, Liu Q et al. Fatigue, Pain, and Other Physical Symptoms of Living Liver Donors in the Adult-to-Adult Living Donor Liver Transplantation Cohort Study. *Liver Transplantation*. 2018; 24 (9): 1221–1232.
21. Ralph AF, Butow P, Craig JC et al. Living kidney donor and recipient perspectives on their relationship: longitudinal semi-structured interviews. *BMJ open*. 2019; 9 (4): e026629.
22. Walsh A. Living kidney donor experiences: implications for counselling. *EDTNA-ERCA Journal*. 2004; 30 (4): 196–200.
23. Rodrigue JR, Schutzer ME, Paek M et al. Altruistic kidney donation to a stranger: psychosocial and functional outcomes at two US transplant centers. *Transplantation*. 2011; 91 (7): 772–778.
24. Mjøen G, Stavem K, Westlie L et al. Quality of life in kidney donors. *American Journal of Transplantation*. 2011; 11 (6): 1315–1319.
25. Li S, Thiessen C, Gannon J et al., editors. Financial Burdens and Coping Mechanisms of Living Kidney Donors. *American journal of transplantation*; 2016: Wiley-Blackwell 111 River St, Hoboken 07030-5774, NJ USA.
26. Williams AM, Colefax L, O'Driscoll CT et al. An exploration of experiences of living renal donors following donation. *Nephrology Nursing Journal*. 2009; 36 (4).
27. Andersen MH, Mathisen L, Øyen O et al. Living donors' experiences 1 wk after donating a kidney. *Clinical transplantation*. 2005; 19 (1): 90–96.

28. Andersen MH, Bruserud F, Mathisen L et al. Follow-up interviews of 12 living kidney donors one yr after open donor nephrectomy. *Clinical transplantation*. 2007; 21 (6): 702–709.
29. Heck G, Schweitzer J, Seidel-Wiesel M. Psychological effects of living related kidney transplantation – risks and chances. *Clinical transplantation*. 2004; 18 (6): 716–721.
30. Gill P, Lowes L. Gift exchange and organ donation: donor and recipient experiences of live related kidney transplantation. *International journal of nursing studies*. 2008; 45 (11): 1607–1617.
31. Garg AX, Nevis IF, McArthur E et al. Gestational hypertension and preeclampsia in living kidney donors. *New England Journal of Medicine*. 2015; 372 (2): 124–133.
32. Okoli J, Watt J. Crisis decision-making: the overlap between intuitive and analytical strategies. *Management Decision*. 2018.
33. Mjøen G, Hallan S, Hartmann A et al. Long-term risks for kidney donors. *Kidney international*. 2014; 86 (1): 162–167.
34. Rodrigue J, Schold J, Morrissey P et al. Mood, body image, fear of kidney failure, life satisfaction, and decisional stability following living kidney donation: findings from the KDOC study. *American Journal of Transplantation*. 2018; 18 (6): 1397–1407.
35. Lennerling A, Qureshi AR, Fehrman-Ekholm I. Spouses who donate seem to be the winners – a questionnaire study of kidney donors long-term. *Open J Nephrol*. 2012; 2 (3): 44–48.
36. Halpern S, Thomas A, Holscher C et al., editors. *Sexual Dysfunction Among Living Kidney Donors*. American journal of transplantation; 2017: Wiley 111 River St, Hoboken 07030-5774, NJ USA.
37. Zheng X-Y, Han S, Wang L-M et al., editors. *Quality of life and psychology after living-related kidney transplantation from donors and recipients in China*. Transplantation proceedings; 2014: Elsevier.
38. Chen G, Wang C, Ko DSC et al. Comparison of outcomes of kidney transplantation from donation after brain death, donation after circulatory death, and donation after brain death followed by circulatory death donors. *Clinical Transplantation*. 2017; 31 (11): e13110.
39. Erim Y, Kahraman Y, Vitinius F et al. Resilience and quality of life in 161 living kidney donors before nephrectomy and in the aftermath of donation: a naturalistic single center study. *BMC nephrology*. 2015; 16 (1): 164.
40. Hsieh C-Y, Chien C-H, Liu K-L, editors. *Positive and negative affects in living kidney donors*. Transplantation proceedings; 2017: Elsevier.

The article was submitted to the journal on 24.09.2021

DOI: 10.15825/1995-1191-2022-1-137-142

ОТНОШЕНИЕ МОЛОДЕЖИ В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН К ОРГАННОМУ ДОНОРСТВУ

А.А. Анисимов¹⁻³, Э.С. Гильметдинова^{2, 3}, М.А. Мулендеева^{2, 3}, А.Ю. Анисимов¹

¹ Институт фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань, Российская Федерация

² ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Казань, Российская Федерация

³ АНО «Клиника медицинского права», Казань, Российская Федерация

Цель исследования. Изучить позицию молодых граждан Республики Татарстан относительно органного донорства и трансплантации, проанализировать их информированность и представления о донорских пересадках и потенциальную готовность стать донорами органов. **Материалы и методы.** За период с 1 января по 1 июля 2021 года проведен анонимный социологический опрос 880 респондентов Республики Татарстан в возрасте от 18 до 35 лет. Анкета из 11 вопросов разработана при использовании онлайн-сервиса Google Forms. Участие в опросе носило добровольный характер. **Результаты.** Среди респондентов представителей женского пола было 79,0%, мужского – 21,0%. Имеют или получают медицинское образование 34,2% анкетированных. Среди респондентов четкое понимание термина «органное донорство» имеют 71,5%, не уверены в четкости понимания 27,4%, не имеют четкого понимания 1,1%. Проблему органного донорства для трансплантации в Республике Татарстан считают актуальной 56,8%, не считают актуальной 3,5%, затруднились ответить 39,7%. После своей смерти согласны стать донором 35,9%, скорее согласны – 39,5%, скорее не согласны – 9,3%, категорически не согласны – 5,6%, затруднились ответить 9,7%. Самые частые ассоциации, связанные с донорством органов, носят положительный характер. У 34,5% – это «жизнь», у 25,1% – «помощь», у 22,0% – «спасение». **Заключение.** Молодежь Республики Татарстан готова к конструктивному обсуждению проблемы органного донорства и в большинстве своем ассоциирует его с благородными категориями. Учитывая интерес к проблеме и недостаточную информированность целевой аудитории, целесообразно включение в образовательные программы медицинских вузов страны самостоятельных учебных дисциплин по трансплантологии и органному донорству. Необходимо привлечение современных информационно-образовательных ресурсов междисциплинарного характера для популяризации органного донорства среди населения Российской Федерации.

Ключевые слова: органное донорство, трансплантация, общественное мнение, социология, отношение населения.

ATTITUDE OF THE YOUTH IN THE REPUBLIC OF TATARSTAN TOWARDS ORGAN DONATION

A.A. Anisimov¹⁻³, E.S. Gilmetdinova^{2, 3}, M.A. Mulendeeva^{2, 3}, A.Yu. Anisimov¹

¹ Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russian Federation

² Kazan State Medical University, Kazan, Russian Federation

³ Medical Law Clinic, Kazan, Russian Federation

Objective: to study the views of the youth in the Republic of Tatarstan on organ donation and transplantation, to analyze their awareness and ideas about donor transplants and potential their willingness to become organ donors. **Materials and methods.** An anonymous sociological survey of 880 respondents aged 18 to 35 from the Republic of Tatarstan was conducted in the period from January 1 to July 1, 2021. An 11-question questionnaire was developed using online service Google Forms. Participation in the survey was voluntary. **Results.** Female and

Для корреспонденции: Анисимов Андрей Юрьевич. Адрес: 420012, Казань, ул. Карла Маркса, д. 74. Тел. (987) 297-16-54. E-mail: aanisimovbsmp@yandex.ru

For correspondence: Andrey Anisimov. Address: 74, Karla Marksa str., Kazan, 420012, Russian Federation. Phone: (987) 297-16-54. E-mail: aanisimovbsmp@yandex.ru

male respondents accounted for 79.0% and 21.0%, respectively; 34.2% of the respondents have or are receiving medical education. Among the respondents, 71.5% have a clear understanding of the term «organ donation», 27.4% are not sure of their understanding, 1.1% do not have a clear understanding. 56.8% consider the issue of organ donation for transplantation in the Republic of Tatarstan as a pressing matter, 3.5% do not see it so, while 39.7% found it difficult to answer. After death, 35.9% would agree to become donors, 39.5% probably would agree, 9.3% probably would disagree, 5.6% strongly disagrees, 9.7% found it difficult to answer. The most common associations with organ donation were positive: 34.5% associate it with «life», 25.1% with «help», and 22.0% with «lifeline». **Conclusion.** Young people in the Republic of Tatarstan are ready for a healthy debate of the problem of organ donation and most of them see it as a noble course. Given the interest in the problem and lack of awareness by the target audience, it is advisable to include independent academic disciplines on transplantology and organ donation in the curriculums of medical universities in the country. It is necessary to attract modern interdisciplinary information and educational resources to promote organ donation among the Russian public.

Keywords: organ donation, transplantation, public opinion, sociology, public attitude.

ВВЕДЕНИЕ

На рубеже XXI века, в условиях небывалого роста научно-технического прогресса, трансплантация органов, аккумулировав новейшие достижения хирургии, реаниматологии, иммунологии, фармакологии и других медико-биологических наук, прочно вошла в арсенал многих лечебных учреждений, открыв новую эпоху в развитии современной медицины. Это связано с тем, что трансплантация, с одной стороны, является единственным радикальным методом лечения целого ряда конечных заболеваний жизненно важных органов (почек, печени, сердца, легких, поджелудочной железы), позволяя вернуть к полноценной деятельности большинство пациентов. С другой стороны, трансплантологию в медицине, как мультидисциплинарную науку, поднимающую на качественно новый уровень практическое здравоохранение, без преувеличения можно сравнить с космонавтикой в технике. Уровень развития трансплантологии отражает уровень развития медицины в стране или регионе и является важным государственным показателем их экономического благополучия. В Российской Федерации, несмотря на ежегодную положительную динамику увеличения числа операций по пересадке органов, потребность в донорских органах существенно превышает объемы оказываемой трансплантологической помощи [1]. В 2019 году в России число посмертных доноров составило 5,14 на миллион населения. Это 48-е место среди всех стран, официально осуществляющих пересадку органов [2].

В Республике Татарстан с числом населения 3 млн 900 тыс. человек ежегодно нуждаются в трансплантации почки – 206, печени – 76, сердца – 40 пациентов. Сегодня в республике функционируют два центра трансплантации органов, из которых в одном (ГАУЗ «Республиканская клиническая больница» МЗ РТ) выполняют трансплантации почки и печени, а в другом (ГАУЗ «Межрегиональный клинко-диагностический центр») – трансплантации сердца. В 2018 году в Татарстане были выполнены 32 транс-

плантации органов, или 8,2 на 1 млн населения. В 2019 году – 57 трансплантаций органов, или 14,6 на 1 млн населения. В 2020 году – 64 трансплантации органов, или 16,4 на 1 млн населения. Для сравнения: в Российской Федерации с числом населения 146,8 млн человек в 2019 году всего было выполнено 2427 трансплантаций органов, или 16,5 на 1 млн населения [1]. Донорская активность в расчете на численность населения в 2018 году составила 5,7 (23), в 2019 году – 6,2 (24), в 2020 году – 6,9 (27). В Российской Федерации в 2019 году – 7,2 на 1 млн населения (1062) [1]. В 2018 году было выполнено 27 пересадок почек (6,9 на 1 млн), в 2019-м – 39 (10,0 на 1 млн), в 2020 году – 40 (10,3 на 1 млн). В Российской Федерации в 2019 году – 1473 (10,0 на 1 млн населения) [1]. Число трансплантаций трупной почки в 2018 году составило 8, от живого родственного донора – 19. В 2019 году – 30 и 9, а в 2020 году – 34 и 6 соответственно. В 2018 году было выполнено 4 пересадки печени (1,0 на 1 млн), в 2019 году – 14 (3,6 на 1 млн), в 2020 году – 20 (5,1 на 1 млн). В Российской Федерации в 2019 году – 584 (4,0 на 1 млн населения) [1]. В 2018 году была выполнена 1 пересадка сердца (0,3 на 1 млн), в 2019 году – 4 (1,0 на 1 млн), в 2020 году – 4 (1,0 на 1 млн). В Российской Федерации в 2019 году – 335 (2,3 на 1 млн населения) [1]. Таким образом, итоги последних трех лет демонстрируют положительную динамику числа трансплантаций органов в Республике Татарстан, даже несмотря на сложившуюся в 2020 году тяжелую эпидемиологическую ситуацию в связи с новой коронавирусной инфекцией (COVID-19). Однако потребность в трансплантации органов по-прежнему превышает объемы трансплантологической помощи. Число пациентов в листах ожидания трансплантации органов в связи с дефицитом донорских органов продолжает расти.

Дефицит донорских органов в стране носит искусственный характер. Низкая информированность населения о принципах функционирования службы пересадки органов, отсутствие организованной про-

светительской работы и тиражирование средствами массовой информации негативного образа трансплантолога приводят к тому, что потенциальные донорские резервы используются крайне неэффективно [3, 4]. Несмотря на то что в стране провозглашена «презумпция согласия», 78% россиян не готовы стать донорами после смерти [5]. Анализируя результаты, полученные от разных возрастных групп, авторы отмечают более «благосклонную» готовность стать донорами среди молодого поколения в отличие от респондентов старшего возраста. В этом контексте молодое поколение граждан, выросшее в условиях широкого распространения информационных технологий и воспитанное на принципах добровольческой (волонтерской) деятельности, может стать потенциальной целевой аудиторией для популяризации органного донорства как социогуманитарного феномена.

Исходя из вышесказанного, целью настоящего сообщения явилось изучение позиции молодых граждан Республики Татарстан относительно органного донорства и трансплантации, анализ их информированности и представления о донорских пересадках и потенциальной готовности стать донорами органов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

За период с 1 января по 1 июля 2021 года проведен анонимный социологический опрос 880 респондентов Республики Татарстан в возрасте от 18 до 35 лет. Анкета из 11 вопросов разработана при использовании онлайн-сервиса Google Forms. Опрос носил добровольный характер и касался вопросов понимания терминологии, информированности и представления о донорских пересадках и потенциальной готовности стать донорами органов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Среди респондентов представителей женского пола было 79,0%, мужского – 21,0%. Конфессио-

нальная принадлежность анкетируемых: исповедуют ислам – 33,5%, христианство – 31,4%, сторонники буддизма, иудаизма и других религий – 4,8%, атеисты – 25,1%, агностики, не отрицающие существование бога, но и не принимающие сторону какой-либо религии – 5,2%. Теоретически наличие медицинского образования должно положительно сказываться на позиции гражданина в отношении трансплантации. В связи с этим мы решили узнать характер образования респондентов. Оказалось, что не связаны с медициной 65,8%, имеют высшее медицинское образование 8,5%, обучаются в медицинском вузе или колледже 25,7%.

Среди респондентов четкое понимание термина «органное донорство» имеют 71,5%, не уверены в четкости понимания 27,4%, не имеют четкого понимания 1,1%. Проблему органного донорства для трансплантации в Республике Татарстан считают актуальной 56,8%, не считают актуальной 3,5%, затруднились ответить 39,7%.

С нашей точки зрения, особенно интересен факт, что подавляющее большинство респондентов поддерживают посмертное органное донорство. После своей смерти согласны стать донором 35,9%, скорее согласны – 39,5%, скорее не согласны – 9,3%, категорически не согласны – 5,6%, затруднились ответить 9,7% (рис. 1).

При этом аргументируют свою позицию нежеланием, «чтобы органы были пересажены другому человеку», 9,9%, религиозными убеждениями – 6,9%, затруднились с ответом – 3,0%. Среди других причин указали низкую информированность в данном вопросе – 0,7%, опасение криминального ухода из жизни – 0,7%. Не задумывались о смерти и ее последствиях 0,45%, беспокоятся за своих родственников 0,34% опрошенных молодых татарстанцев.

На первый взгляд, медики в силу специфики своего образования должны ориентироваться в проблеме более уверенно. Однако проведенный анализ сви-

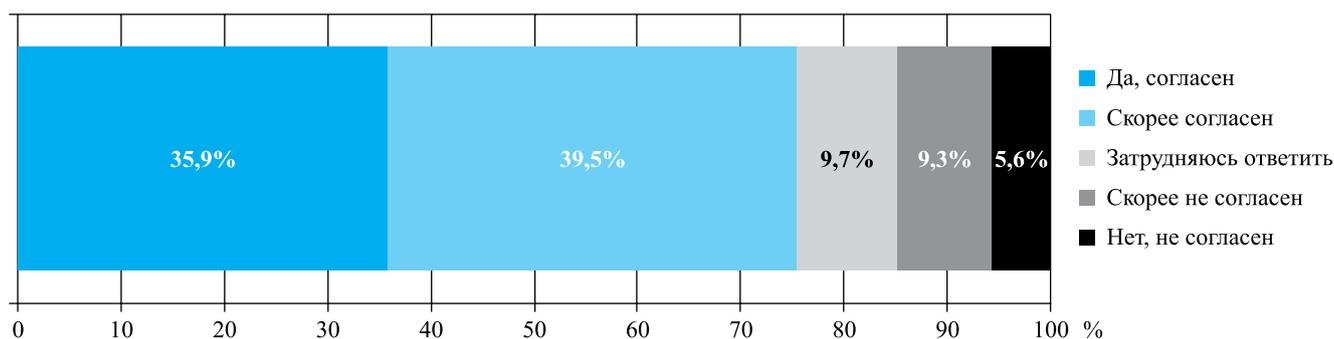


Рис. 1. Распределение ответов на вопрос: «Согласны ли Вы стать посмертным донором (пожертвовать свои органы нуждающимся пациентам в случае смерти)?» (в %, n = 880 чел.)

Fig. 1. Distribution of responses to the question: «Do you agree to become a posthumous organ donor (donate your organs to patients in need when you die)?» (in %, n = 880 people)

детельствует об отсутствии значимой качественной разницы между ответами респондентов, имеющих и не имеющих медицинское образование.

Тема органного донорства в силу тесной связи со смертью вызывает пристальный интерес со стороны средств массовой информации, журналистов, режиссеров фильмов и телевизионных шоу-передач. Исходя из этого один из вопросов анкеты был сформулирован следующим образом: «Говоря о донорстве органов, какого рода информацию чаще всего Вам приходится получать?». Нейтральную информацию получали 49,7%, положительную – 30,3%, отрицательную – 15,5%, не получали информации на эту тему – 4,5% респондентов. Среди примечаний наше внимание привлек комментарий: «Как раз по России я не получаю никакой информации, лишь из других стран».

При составлении анкеты мы предусмотрели возможность для респондентов предложить несколько своих вариантов повышения информированности населения в вопросах органного донорства. В результате отметили необходимость публикации случаев успешных пересадок в России 69,5%, знакомства с реальными пациентами, нуждающимися в пересадке органа – 68,4%, привлечения врачей-специалистов в области трансплантологии к открытому обсужде-

нию проблемы – 51,1%, привлечения популярных блогеров и лидеров мнений – 45,1%, разработки и публикации обучающих видеороликов и материалов – 45,1%, участия в обсуждении проблемы представителей религиозных конфессий и религиозных объединений – 32,0%.

В заключение анкеты мы попросили респондентов привести от 1 до 3 первых приходящих на ум ассоциаций о донорстве органов. Анализ полученных результатов показал, что у молодежи в большинстве случаев ассоциации, связанные с донорством органов, носят положительный характер. У 34,5% – это «жизнь», у 25,1% – «помощь», у 22,0% – «спасение» (рис. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

Несмотря на то что большинство респондентов причисляют себя к той или иной религиозной конфессии, у современной молодежи религия практически не влияет на формирование позиции в отношении органного донорства. В то же время 32,0% опрошиваемых поддержали идею привлечения религиозных объединений к обсуждению проблемы. Это свидетельствует о целесообразности потенциального сотрудничества с конфессиональными объединениями в вопросе популяризации органного донорства.

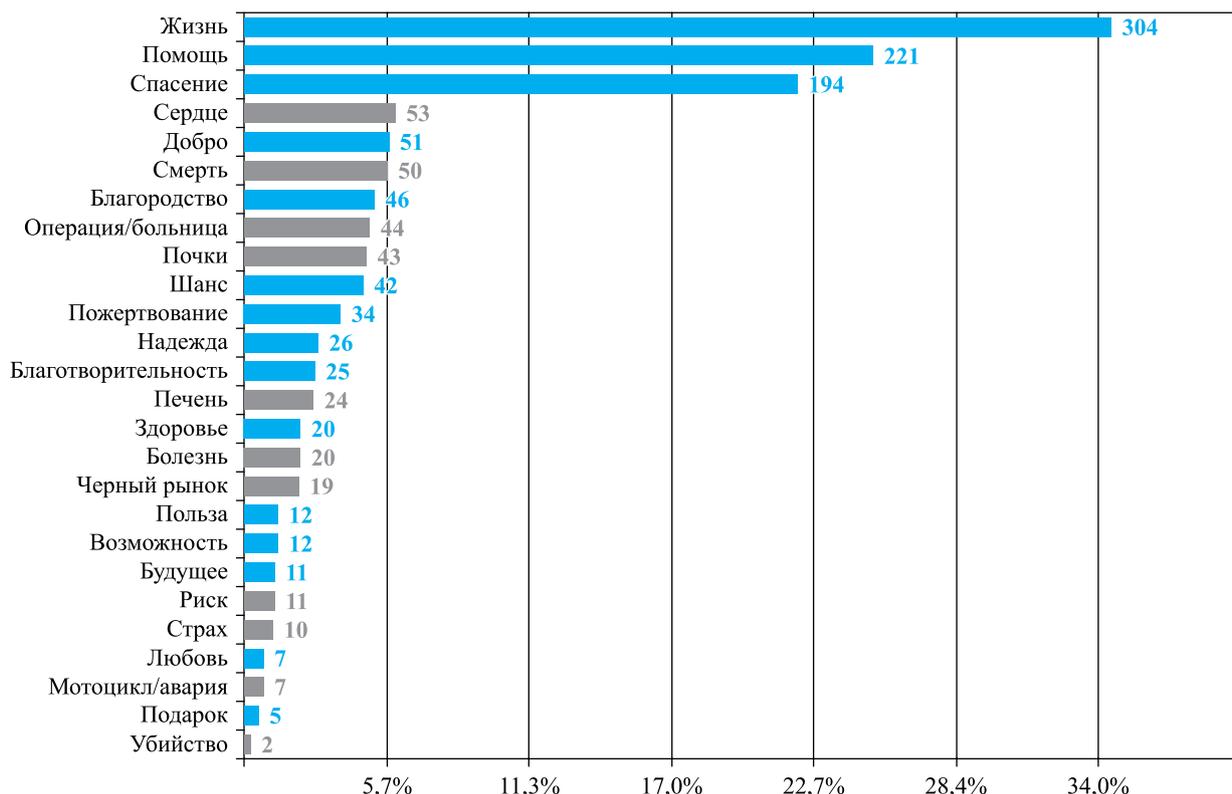


Рис. 2. Распределение ответов на вопрос: «Напишите от 1 до 3 первых ассоциаций с донорством органов, приходящих на ум» (до 3 вариантов ответа, n = 880 чел.)

Fig. 2. Distribution of responses to the question: «Write 1 to 3 first associations that come to mind when you hear about organ donation» (up to 3 answer options, n = 880 people)

Неоднозначным, по нашему мнению, является отсутствие повышенной вовлеченности в проблему донорства лиц с медицинским образованием. Несмотря на доминирующее положительное отношение к проблеме, среди «медиков», как и среди «не медиков», к сожалению, распространены мифы о криминальном характере органного донорства. Это, на наш взгляд, требует модернизации системы медицинского образования с обязательным включением в образовательные программы медицинских вузов дисциплины «Основы трансплантологии и органного донорства» [6]. Это, с одной стороны, повысит уровень профессиональной компетенции выпускников, а с другой стороны, даст толчок к развитию трансплантологии не только в мегаполисах, но и в регионах Российской Федерации. В связи с вышесказанным на кафедре неотложной медицинской помощи и симуляционной медицины Института фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» в 2021 учебном году в образовательную программу введен факультативный курс «Основы клинической трансплантологии и органного донорства», организован студенческий научно-практический кружок трансплантологии, органного донорства и экспериментальной хирургии.

Проведенный анализ анкет свидетельствует об общей положительной позиции респондентов в отношении органного донорства. С одной стороны, этот факт можно связать с молодым возрастом, максималистским и в некотором роде легкомысленным подходом к своей жизни и здоровью. Однако аргументированность позиции, запрос на конкретные информационные инициативы и позитивный характер ассоциативного ряда, с другой стороны, позволяют говорить о личностных особенностях современного молодого человека, укладывающихся в теорию поколений [7–9]. В связи с этим считаем целесообразным разработку доступного междисциплинарного формата взаимодействия с молодежью для вовлечения ее в обсуждение проблемы и стратегического стимулирования ее донорского потенциала по примеру зарубежных стран [10].

Исходя из вышесказанного при участии сотрудников кафедры неотложной медицинской помощи и симуляционной медицины Института фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» на базе АНО «Клиника медицинского права» в 2020 году организован Центр развития органного донорства «Donate Life Russia». Это первый в Республике Татарстан социальный проект по популяризации органного донорства. В 2020 году проект получил грантовую поддержку Федерального агентства по делам молодежи (Росмолодежь) [11]. В рамках проекта через современный и понятный контент повы-

шается информированность молодежи республики. В лекториях и дискуссиях участвуют специалисты в области организации здравоохранения, трансплантологии, благотворительности, добровольчества, а также юристы и лидеры мнений.

Итак, в целом молодежь Республики Татарстан готова к открытому обсуждению проблемы органного донорства. Большая часть респондентов поддерживает донорство, ассоциируя его с благородными категориями. Тем не менее существует потребность в разработке понятных и располагающих к себе ресурсов для повышения информированности молодых людей в вопросах органного донорства.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Молодежь Республики Татарстан готова к конструктивному обсуждению проблемы органного донорства и в большинстве своем ассоциирует его с благородными категориями.
2. Учитывая интерес к проблеме и недостаточную информированность целевой аудитории, целесообразно включение в образовательные программы медицинских вузов страны самостоятельных учебных дисциплин по трансплантологии и органному донорству.
3. Необходимо привлечение современных информационно-образовательных ресурсов междисциплинарного характера для популяризации органного донорства среди населения Российской Федерации.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Доля участия в исследовании у авторов равная и составляет 25%.

The authors declare no conflict of interest. Each author contributed 25% to the study.

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. Organ donation and transplantation in the Russian Federation in 2019. 12th report from the Registry of the Russian Transplant Society. Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2020; 22 (2): 8–34. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2020-2-8-34.
2. Newsletter. Final Numbers 2019. International Registry in Organ Donation and Transplantation, December 2020. (Data obrashhenija: 02.07.2021). URL: <https://www.irodat.org/img/database/pdf/Newsletter%20Dec%202020%20.pdf>.
3. Дело врачей-трансплантологов: трижды обвиненные / Под ред. Т. Батенева [Электронный ресурс].

- (Дата обращения: 02.07.2021). Delo vrachej-transplantologov: trizhdy obvinennye / Pod red. T. Batenjova [Elektronnyj resurs]. (Data obrashhenija: 02.07.2021). URL: <https://iz.ru/news/312449>.
4. Багненко СФ, Щербук ЮА, Полушин ЮС и др. Причины дефицита донорских органов и пути его преодоления. *Медицинский академический журнал*. 2011; 11 (4): 13–24. Bagnenko SF, Shherbuk JuA, Polushin JuS i dr. Prichiny deficita donorskih organov i puti ego preodolenija. *Medicinskij akademicheskij zhurnal*. 2011; 11 (4): 13–24. [In Russ].
 5. Донорство органов: проблемы и перспективы развития в России. 21.10.2013. Левада-центр [сайт]. (Дата обращения: 04.07.2021). Donorstvo organov: problemy i perspektivy razvitiya v Rossii. 21.10.2013. Levada-centr [sajt]. (Data obrashhenija: 04.07.2021). URL: https://www.levada.ru/sites/default/files/otchet_donorstvo_organov_v_rossii_levada-centr.pdf.
 6. Багненко СФ, Резник ОН. Ключевые проблемы развития трансплантологии и задачи высшего медицинского образования. *Трансплантология*. 2017; 9 (3): 192–210. Bagnenko SF, Reznik ON. Key problems of transplantation development and the objectives of higher medical education. *Transplantologiya. The Russian Journal of Transplantation*. 2017; 9 (3): 192–210. [In Russ, English abstract]. doi: 10.23873/2074-0506-2017-9-3-192-210.
 7. Howe N, Strauss W. Millennials Rising: The Next Great Generation. New York: Vintage Books, 2000.
 8. Асташова ЮВ. Теория поколений в маркетинге. *Вестник Южно-Уральского государственного университета*. 2014; 8 (1): 108–114. Astashova JuV. Teorija pokolenij v marketinge. *Vestnik Juzhno-Ural'skogo gosudarstvennogo universiteta*. 2014; 8 (1): 108–114. [In Russ].
 9. Понов НП. Российские и американские поколения XX века: откуда пришли миллениалы? *Мониторинг общественного мнения: Экономические и социальные перемены*. 2018; 4: 309–323. Popov NP. Russian and American generations of the 20th century: where have Millennials come from? *Monitoring of Public Opinion: Economic and Social Changes*. 2018; 4: 309–323. [In Russ, English abstract]. doi: 10.14515/monitoring.2018.4.15.
 10. Тищенко ПД. Проблема социогуманитарного обеспечения нового законодательства по органному донорству. *Клин. и эксперимент. хир. Журн. им. акад. Б.В. Петровского*. 2019; 7 (3): 8–14. Tishchenko PD. The problem of the social-humanitarian assessment for the new legislation on organ donor-ship. *Clin. Experiment. Surg. Petrovsky J*. 2019; 7 (3): 8–14. [In Russ, English abstract]. doi: 10.24411/2308-1198-2019-13001.
 11. Приказ Федерального агентства по делам молодежи (Росмолодежь) от 22 сентября 2020 г. № 298 «Об утверждении списка победителей Всероссийского конкурса молодежных проектов среди физических лиц в рамках молодежных образовательных форумов в 2020 году». Prikaz Federal'nogo agentstva po delam molodezhi (Rosmolodjzh') ot 22 sentjabrja 2020 g. № 298 «Ob utverzhdanii spiska pobeditelej Vserossijskogo konkursa molodezhnyh proektov sredi fizicheskikh lic v ramkah molodezhnyh obrazovatel'nyh forumov v 2020 godu» [In Russ].
- Статья поступила в редакцию 19.07.2021 г.
The article was submitted to the journal on 19.07.2021*

DOI: 10.15825/1995-1191-2022-1-143-150

ПЕРВЫЙ ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ МАШИННОЙ ХОЛОДОВОЙ ОКСИГЕНИРОВАННОЙ ПЕРФУЗИИ ПОЧЕЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА ОТ ДОНОРОВ С РАСШИРЕННЫМИ КРИТЕРИЯМИ

А.В. Шабунин^{1, 2}, М.Г. Минина¹, П.В. Дроздов¹, И.В. Нестеренко¹, Д.А. Макеев¹,
О.С. Журавель², Л.Р. Карапетян¹, С.А. Астанович³

¹ ГБУЗ «Городская клиническая больница имени С.П. Боткина» Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Российская Федерация

² ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

³ ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация

Цель: оценить безопасность и эффективность машинной холодной оксигенированной перфузии почечных трансплантатов от доноров с расширенными критериями. **Материалы и методы.** С июня 2018 года по июнь 2021 года в хирургической клинике Боткинской больницы выполнено 200 трансплантаций почки от посмертного донора. Из них 123 – мужчинам (61,5%) и 77 – женщинам (38,5%). Средний возраст составил $47,62 \pm 11,69$ (20–73) года. В 102 случаях почечный трансплантат был изъят у донора с расширенными критериями. У 92 реципиентов (90,2%) почечного трансплантата от донора с расширенными критериями для сохранения органа использовалась статическая холододовая консервация по стандартной методике, эти пациенты составили I группу наблюдения. У 10 реципиентов (9,8%) выполнялась постхолодовая машинная оксигенированная перфузия, эти пациенты составили II группу наблюдения. **Результаты.** В обеих группах наблюдения не зафиксировано 30-дневной летальности. Среднее время статической холододовой консервации у пациентов первой группы составило $612,33 \pm 178,88$ (133–1180) минуты. Общая частота отсроченной функции почечного трансплантата составила 26,5% (53/200). При использовании органа от стандартного донора с применением статической холододовой консервации частота развития отсроченной функции трансплантата составила 19,3% (19/98), от донора с расширенными критериями – 35,8% (33/92). Послеоперационные осложнения зафиксированы у 25 пациентов (12,5%). Послеоперационные осложнения при развитии отсроченной функции трансплантата диагностированы у 12 больных, что составило 22,6% (12/53), с немедленной функцией – у 13 больных, что составило 8,8% (13/147). Среднее время холододовой консервации у пациентов II группы составило $319,11 \pm 110,24$ (311–525) минуты. Среднее время машинной холодной оксигенированной перфузии – $202,34 \pm 21,48$ (150–210) минуты. У 1 пациента (10%) II группы наблюдения зафиксирована отсроченная функция трансплантата. Осложнений, в том числе связанных с перфузией, в этой группе больных не зафиксировано. **Заключение.** Оригинальная методика Боткинской больницы по машинной холодной оксигенированной перфузии почечного трансплантата безопасна. Ее проведение ассоциируется с низким риском развития отсроченной функции почечного трансплантата от доноров с расширенными критериями.

Ключевые слова: пересадка почки, доноры с расширенными критериями, машинная оксигенированная холододовая перфузия.

Для корреспонденции: Дроздов Павел Алексеевич. Адрес: 117148, Москва, ул. Брусилова, дом 15, кв. 8. Тел. (962) 985-04-41. E-mail: dc.drozdov@gmail.com

Corresponding author: Pavel Drozdov. Address: 15/8, Brusilova str., Moscow, 117148, Russian Federation. Phone: (962) 985-04-41. E-mail: dc.drozdov@gmail.com

EARLY EXPERIMENTS WITH HYPOTHERMIC OXYGENATED MACHINE PERFUSION OF KIDNEY GRAFTS FROM EXTENDED CRITERIA DONORS

A.V. Shabunin^{1, 2}, M.G. Minina¹, P.V. Drozdov¹, I.V. Nesterenko¹, D.A. Makeev¹,
O.S. Zhuravel², L.R. Karapetyan¹, S.A. Astapovich³

¹ Botkin City Clinical Hospital, Moscow, Russian Federation

² Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow, Russian Federation

³ Sechenov University, Moscow, Russian Federation

Objective: to evaluate the safety and efficacy of hypothermic oxygenated machine perfusion (HOPE) for kidney grafts obtained from expanded criteria donors (ECD). **Materials and methods.** From June 2018 to June 2021, 200 surgeries involving kidney transplants from deceased donors were performed at Botkin City Clinical Hospital. Of these, 123 were men (61.5%) and 77 were women (38.5%). The mean age was 47.62 ± 11.69 (20–73) years. In 102 cases, kidney grafts were procured from ECD. In 92 recipients (90.2%) of kidney transplants from an expanded criteria donor, static cold storage done according to the standard technique was used to preserve the organ; these patients constituted observation group 1. In 10 recipients (9.8%), hypothermic oxygenated perfusion was used in addition to static cold preservation; these patients formed observation group 2. **Results.** No 30-day mortality was recorded in both observation groups. The mean static cold storage time in group 1 patients was 612.33 ± 178.88 (133–1180) minutes. Overall incidence of delayed graft function was 26.5% (53/200). Incidence of delayed graft function was 19.3% (19/98) for organs from standard donors using static cold storage and 35.8% (33/92) for ECD organs. Twenty-five patients (12.5%) had postoperative complications. Postoperative complications with delayed graft function were diagnosed in 12 patients, which was 22.6% (12/53), with immediate function in 13 patients, which was 8.8% (13/147). Mean cold storage time in group 2 patients was 319.11 ± 110.24 (311–525) minutes. Mean HOPE time was 202.34 ± 21.48 (150–210) minutes. Delayed graft function was recorded in 1 group 2 patient (10%). No complications, including perfusion-related one, were recorded in this group. **Conclusion.** The unique technique used at Botkin City Clinical Hospital for HOPE in kidney transplant is safe. It provides a low risk of delayed graft function for ECD kidneys.

Keywords: kidney transplant, expanded criteria donors, hypothermic oxygenated machine perfusion.

ВВЕДЕНИЕ

Отдаленные результаты трансплантации почки постоянно улучшаются – в настоящее время 10-летняя выживаемость трансплантатов почки составляет более 80% [1]. Эффективность трансплантации как метода лечения терминальных форм хронической органной недостаточности способствовала прогрессивному росту численности «листов ожидания» как во всем мире, так и в РФ [2, 3]. Нарастание дефицита донорских органов побуждает к поиску новых путей решения данной проблемы. Наибольшее распространение во всем мире получила практика расширения критериев донорства того или иного органа [4]. Необходимо отметить, что отдаленные результаты трансплантации солидных органов от стандартного донора и донора с расширенными критериями несколько отличаются. Так, 1- и 5-летняя выживаемость почечного трансплантата от стандартного донора составляют 92 и 70% соответственно, а от донора с расширенными критериями – 80 и 44% соответственно [5]. Это различие объясняется худшей переносимостью холодовой ишемии органов от доноров с расширенными критериями. Потребление кислорода

в тканях значительно снижается при температуре 4–10 °С, однако соответствующий метаболизм все еще наблюдается. Дополнительный кислород может поддерживать митохондриальный синтез АТФ и, в свою очередь, сдерживать процесс повреждения [6].

В доклинических испытаниях было установлено, что машинная холодовая оксигенированная перфузия снижает частоту повреждения клеток и активацию макрофагов [7, 8]. Полученные экспериментальные данные позволяют предположить, что данная технология в клинических условиях должна улучшить результаты трансплантации почки. В настоящее время проводится несколько клинических исследований по оценке эффективности данной технологии при трансплантации печени и почки в мире.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С июня 2018 года по июнь 2021 года в хирургической клинике Боткинской больницы выполнено 200 трансплантаций почки от посмертного донора. Из них 123 – мужчинам (61,5%) и 77 – женщинам (38,5%). Средний возраст составил $47,62 \pm 11,69$ (20–73) года. В 102 случаях почечный трансплантат был изъят у донора с расширенными критериями.

У 92 реципиентов (90,2%) почечного трансплантата от донора с расширенными критериями для сохранения органа использовалась статическая холододовая консервация по стандартной методике, эти пациенты составили I группу наблюдения. У 10 реципиентов (9,8%) в дополнение к статической холододовой консервации использовалась оксигенированная холододовая перфузия, эти пациенты составили II группу наблюдения.

Доноров с расширенными критериями определяли в соответствии с дефиницией UNOS 2003 г. [Metzger R.A., Delmonico F.L., Fenf S. et al. Expanded criteria donors for kidney transplantation. Am J of Transplantation. 2003; 3 (suppl. 4): 114–125], когда у донора 50–59 лет отмечались все или любые два фактора из представленных – причина смерти цереброваскулярная болезнь (ЦВБ), гипертоническая болезнь (ГБ), креатинин более 133 мкмоль/л, или у донора ≥60 лет отмечались все, любые два фактора, любой один фактор или ни один из представленных выше факторов.

Протокол применения машинной оксигенированной холододовой перфузии почечного трансплантата: перфузия почечного трансплантата выполнялась в условиях операционной при строгом соблюдении правил асептики. При помощи бесконтактного термометра Testo 805 фиксировалась температура консервирующего раствора, целевой уровень составляет 4–8 °С. Извлекали упакованный почечный трансплантат из транспортного контейнера. Выполнялась пункционная биопсия почки. Проводился осмотр трансплантата с оценкой внешнего вида, сосудис-

той анатомии. В устье почечной артерии вводилась мягкая силиконовая канюля, прикрепленная ранее к артериальной магистрали, и фиксировалась к аортальной площадке при помощи 2–3 узловых швов (рис. 1).

Если почечных артерий две или более – канюлировали каждую при помощи Y-образного переходника.

Канюлю подключали к контуру из роликового насоса аппарата АИК стационарного типа, оксигенатора, встроенного в АИК датчика давления (рис. 2). Необходимая объемная скорость циркуляции консерванта зависит от гидростатического давления в артериальной магистрали. Скорость подачи консерванта постепенно увеличивалась регулятором, пока не достигалось целевое давление – 40 мм рт. ст. Процедура проводилась под постоянным контролем врача-хирурга. Постоянно контролировалась герметичность соединения артериальной канюли и почечной артерии, температура почечного трансплантата определялась каждые 15 минут, КЩС перфузата для оценки насыщения кислородом – каждые 30 минут. По мере необходимости производили замену подтаявших хладагентов. При снижении давления в системе, что косвенно указывает на уменьшение сопротивления в микроциркуляторном русле почки, проводилась коррекция скорости подачи консерванта для поддержания целевого уровня давления – 40 мм рт. ст. Индекс сосудистого сопротивления рассчитывали как отношение давления в системе к скорости объемного кровотока.

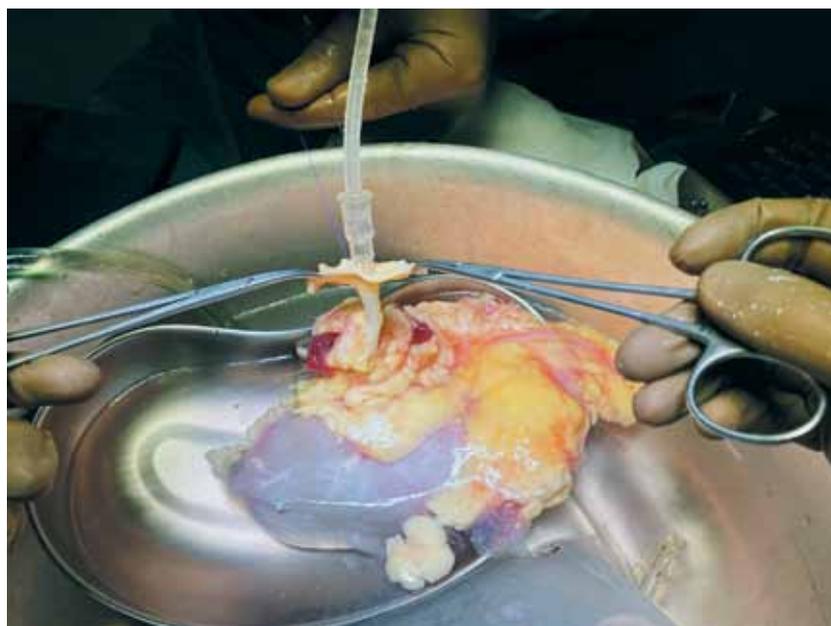


Рис. 1. Канюляция артерии почечного трансплантата для проведения оксигенированной холододовой перфузии

Fig. 1. Cannulation of kidney graft artery for oxygenated cold perfusion

Перфузия завершалась в момент подачи реципиента в операционную. Перед включением почки в кровоток реципиента выполнялась повторная биопсия почки из места первичной пункционной биопсии. Перед ушиванием операционной раны выполнялось интраоперационное ультразвуковое исследование с определением индекса резистентности. В первую неделю послеоперационного периода проводилась ежедневная оценка следующих показателей: объем суточного диуреза, мочевины, креатинина, K^+ , концентрации ингибиторов кальциневрина крови, оценивался индекс резистентности при УЗ-исследовании, на основании чего принималось решение о необходимости проведения заместительной почечной терапии, оценивалось развитие послеоперационных осложнений.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В обеих группах наблюдения не зафиксировано 30-дневной летальности. Среднее время статической холодной консервации у пациентов первой группы составило $612,33 \pm 178,88$ (133–1180) минуты. Общая частота отсроченной функции почечного трансплантата составила 26,5% (53/200). При использовании органа от стандартного донора с применением статической холодной консервации частота развития отсроченной функции трансплантата составила

19,3% (19/98), от донора с расширенными критериями – 35,8% (33/92). Послеоперационные осложнения зафиксированы у 25 пациентов (12,5%). Послеоперационные осложнения при развитии отсроченной функции трансплантата диагностированы у 12 больных, что составило 22,6% (12/53), с немедленной функцией у 13 больных, что составило 8,8% (13/147).

Среднее время холодной консервации у пациентов II группы составило $319,11 \pm 110,24$ (311–525) минуты. Среднее время холодной оксигенированной перфузии – $202,34 \pm 21,48$ (150–210) минуты. Средняя температура почечного трансплантата во время перфузии варьировала от 4,7 до 6,8 °C (рис. 3).

Среднее парциальное давление кислорода в перфузате варьировало от 323 до 574 мм рт. ст. (рис. 4).

В одном случае индекс сосудистого сопротивления в процессе перфузии вырос на 0,02 (табл. 1).

У одного пациента (10%) II группы наблюдения зафиксирована отсроченная функция трансплантата. Осложнений, в том числе связанных с перфузией в этой группе больных, не зафиксировано.

При электронной микроскопии нефробиоптатов пациентов I группы наблюдалась выраженная отрицательная динамика, выражающаяся в деструкции митохондрий (рис. 5).

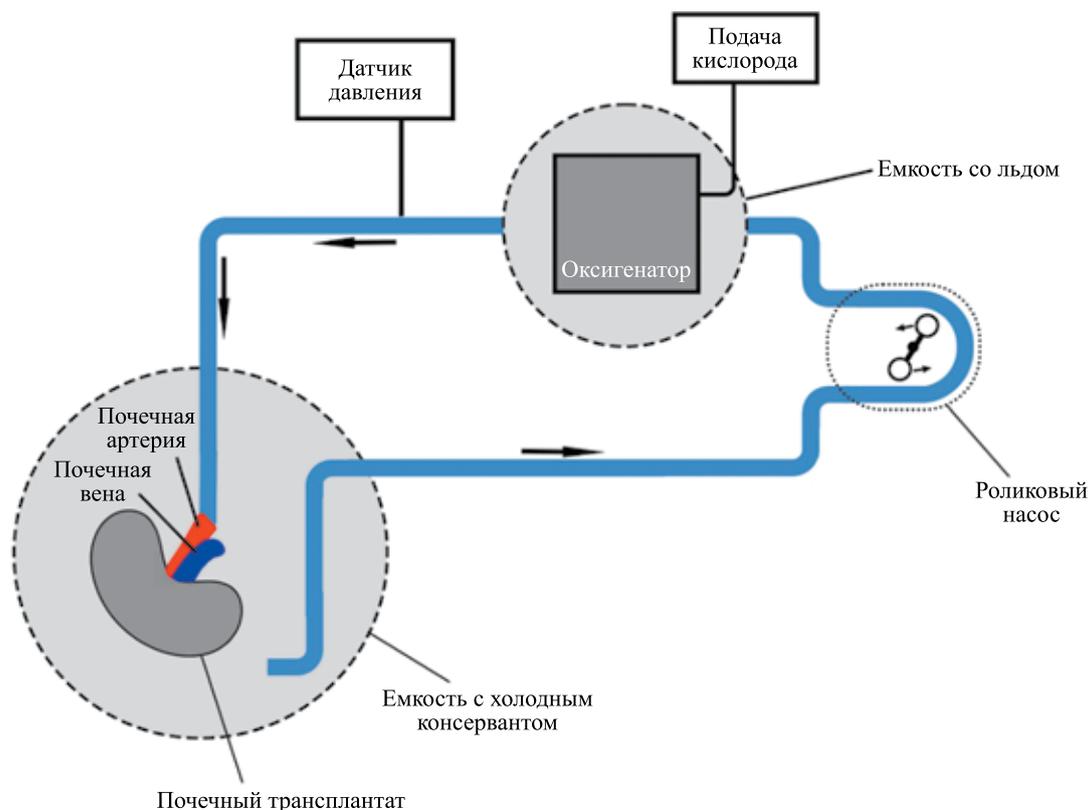


Рис. 2. Схема проведения оксигенированной холодной перфузии почечного трансплантата

Fig. 2. Schematic layout of oxygenated cold perfusion of a kidney graft

При электронной микроскопии нефробиоптатов пациентов II группы зафиксировано сохранение митохондрий после проведения перфузии (рис. 6).

ОБСУЖДЕНИЕ

Дефицит донорских органов – проблема, ограничивающая число выполняемых трансплантаций реципиентам. Одним из путей решения является расширение показаний к донорству, что приводит к увеличению использования почечных трансплантатов от доноров с расширенными критериями. По нашим

данным, использование почечных трансплантатов от доноров с расширенными критериями достоверно повышает вероятность развития отсроченной функции (35,8 vs 19,3%, $p = 0,021$). Развитие отсроченной функции, в свою очередь, ассоциируется с достоверно более высокой частотой послеоперационных осложнений (22,6 vs 8,8%, $p = 0,015$), что приводит к увеличению средней длительности нахождения больного в стационаре и увеличивает расходы на лечение. При оценке нашего опыта применения органов от доноров с расширенными критериями по-

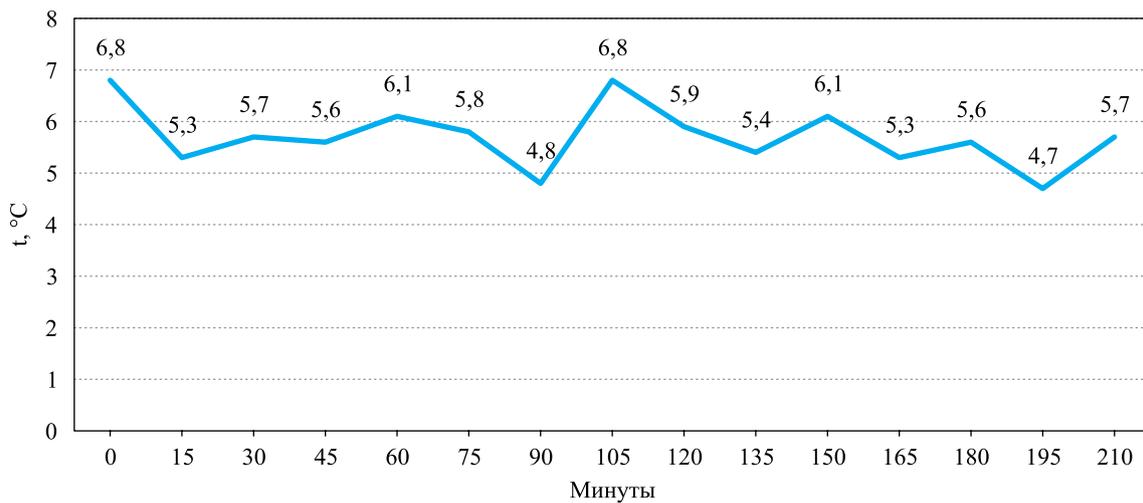


Рис. 3. Динамика средней температуры почечного трансплантата в процессе оксигенированной холодной перфузии

Fig. 3. Dynamics of average renal graft temperature during oxygenated cold perfusion

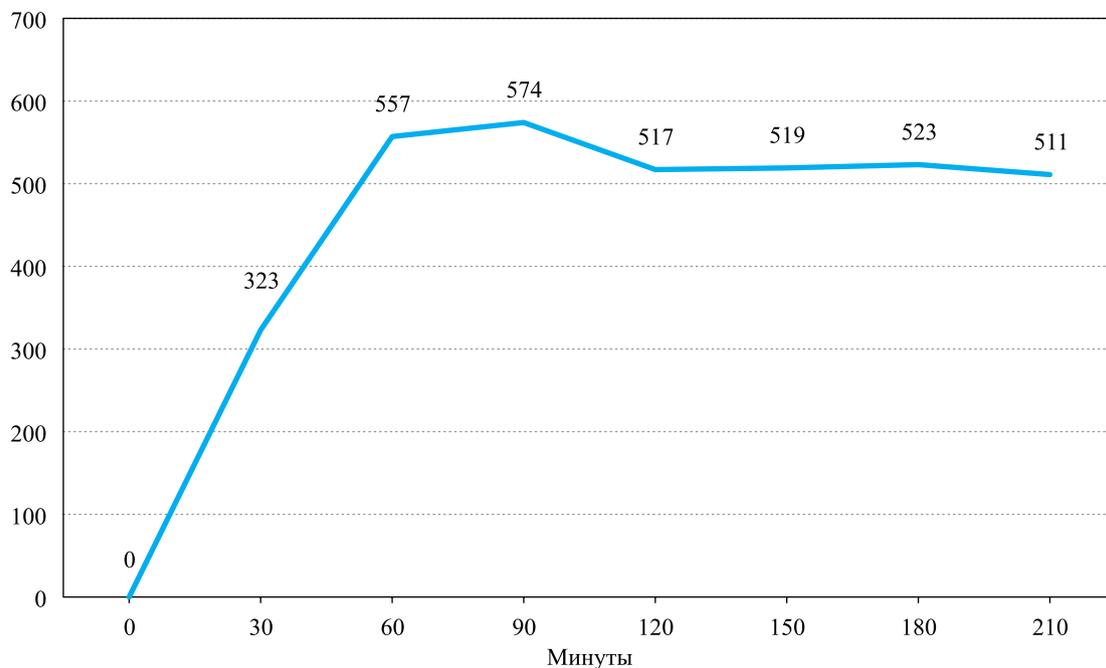


Рис. 4. Динамика среднего парциального давления кислорода в перфузате в процессе оксигенированной холодной перфузии.

Fig. 4. Dynamics of mean partial pressure of oxygen in perfusate during oxygenated cold perfusion

лучены данные о влиянии высокого индекса массы тела (ИМТ) донора и времени холодовой ишемии донорской почки на частоту развития отсроченной функции (табл. 2).

В большинстве случаев сокращение времени статической холодовой консервации представляется трудно выполнимой задачей. Пациенту необходимо явиться в трансплантационный центр, пройти предоперационное обследование, в ряде случаев необходимо проведение диализа – все это приводит к тому, что среднее время холодовой консервации в Боткинской больнице составляет более 10 часов. Органы от

стандартных доноров удовлетворительно переносят длительный период холодовой ишемии, органы от доноров с расширенными критериями – достоверно хуже. Решением данной проблемы, по нашему мнению, является замещение статической холодовой консервации машинной холодовой оксигенированной перфузией. Теоретическим преимуществом данной технологии является доставка кислорода, растворенного в консервирующем растворе, к клеткам при сохранной низкой температуре. Кислород поддерживает аэробный метаболизм в клетках, который резко замедляется, но полностью не прекращается в

Таблица 1

Показатели оксигенированной холодовой перфузии почечного трансплантата
Indicators of oxygenated cold perfusion of the renal graft

№ п/п	Давление в начале перфузии	Объемная скорость кровотока в начале перфузии	Индекс сосудистого сопротивления в начале перфузии	Давление в конце перфузии	Объемная скорость кровотока в конце перфузии	Индекс сосудистого сопротивления в конце перфузии
1	41	70	0,58	42	90	0,46
2	40	120	0,33	40	150	0,26
3	42	110	0,38	40	120	0,30
4	39	90	0,43	41	90	0,45
5	42	60	0,70	40	70	0,57
6	40	120	0,33	42	140	0,3
7	41	100	0,41	41	120	0,34
8	42	90	0,46	40	90	0,44
9	40	80	0,50	39	100	0,39
10	40	90	0,44	41	100	0,41

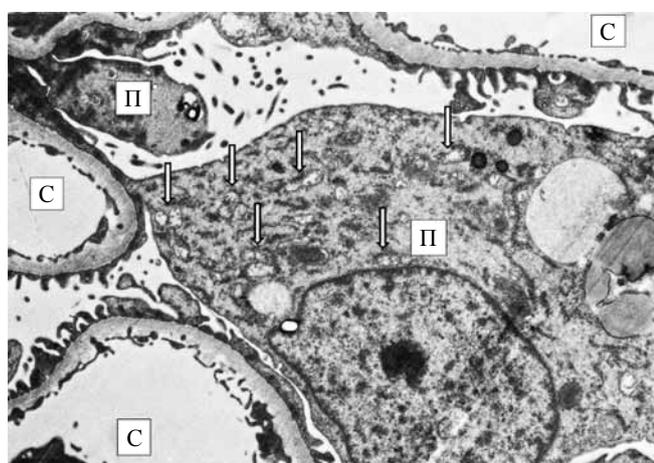


Рис. 5. Фрагмент почечного клубочка до начала машинной холодовой оксигенированной перфузии. В цитоплазме подоцита (П): мелкие митохондрии с частично сохраненными кристами (стрелки); короткие профили гранулярной цитоплазматической сети. С – капилляры. ×9000

Fig. 5. Renal glomerulus fragment before HOPE. The podocyte (П) cytoplasm contains: small mitochondria with partially preserved cristae (arrows); short profiles of granular endoplasmic reticulum. С – capillaries. ×9000

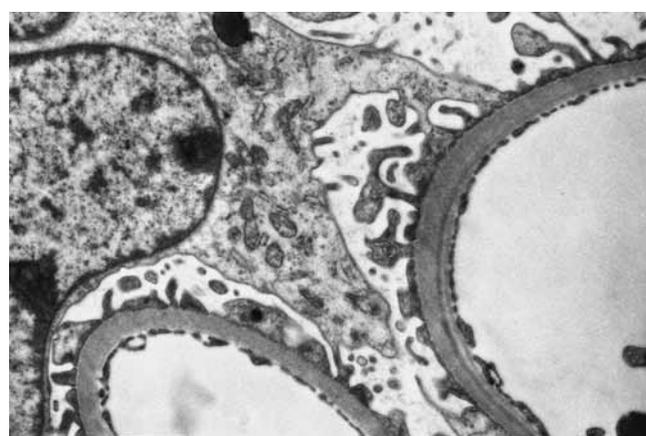


Рис. 6. Фрагмент почечного клубочка. В цитоплазме подоцита находятся: мелкие митохондрии с частично сохраненными кристами, короткие профили гранулярной цитоплазматической сети. ×12 000

Fig. 6. Renal glomerulus fragment. The podocyte cytoplasm contains: small mitochondria with partially preserved cristae, short profiles of granular endoplasmic reticulum. ×12 000

Таблица 2

Влияние факторов риска донора с расширенными критериями на развитие отсроченной функции почечного трансплантата

Impact of expanded criteria donor risk factors on delayed renal graft function

Фактор риска	Немедленная функция (n = 59)	Отсроченная функция (n = 33)	p
Возраст донора:			
55–65 лет	42	23	0,65
>65 лет	17	10	
Пол донора:			
Мужской	27	16	0,73
Женский	32	17	
ИМТ донора:			
<25	26	12	0,04
>25	33	21	
ИМТ реципиента:			
<25	29	15	0,63
>25	30	18	
Время нахождения донора в стационаре:			
<72 часов	44	22	0,29
>72 часов	15	11	
Время холодовой ишемии:			
<10 часов	26	12	0,03
>10 часов	33	21	

холодной среде. Аэробный метаболизм исключает разобщение дыхательной цепи митохондрий с образованием активных форм кислорода, предотвращает развитие внутриклеточного ацидоза, а также поддерживает на нормальном уровне активность Na/K АТФ-азы, что, в свою очередь, снижает риск апоптоза клеток.

Предлагаемый нами аппарат искусственного кровообращения для проведения оксигенированной холодовой перфузии обладает всеми качествами, необходимыми для машинной перфузии трансплантатов: возможность контроля давления и объемной скорости кровотока и возможность оксигенации консервирующего раствора. Важной проблемой, с которой мы столкнулись при разработке протокола перфузии, стало обеспечение и поддержание необходимой температуры раствора. Дело в том, что в процессе перфузии идет нагревание раствора в контуре, поэтому, с одной стороны, необходим тщательный контроль температуры почечного трансплантата, а с другой – эффективное постоянное охлаждение раствора. Для динамического измерения температуры почечного трансплантата мы используем дистанционный термометр. Для постоянного охлаждения Кустодиола мы применяем специальные стерильные

хладагенты, которые располагаются рядом с почечным трансплантатом, не касаясь его и не смешиваясь с консервантом, и обкладываем льдом оксигенатор, как элемент контура с наибольшей площадью соприкосновения с раствором. Эти мероприятия позволяют на протяжении всего времени перфузии поддерживать температуру трансплантата в диапазоне 4–8 °С.

Добавление кислорода в перфузирующий раствор – самая важная часть протокола. Кислород хорошо растворяется в Кустодиоле – нам удалось добиться среднего парциального давления кислорода в перфузате на уровне 500 мм рт. ст. при скорости подачи 4 литра в минуту.

Для оценки эффективности проводимой перфузии в сохранении митохондрий клеток мы проводили электронную микроскопию нефробиоптатов до начала и после окончания машинной холодовой оксигенированной перфузии. Во всех случаях после завершения машинной холодовой перфузии в митохондриях клеток почечного клубочка, дистального и проксимального фрагментов нефрона определялись сохранные митохондрии с кристами.

Таким образом, разработанная методика позволяет поддерживать энергетический баланс клеток на протяжении длительного времени и профилактировать разрушение митохондрий, что неминуемо происходит в процессе статической холодовой консервации.

Выявленные морфологические преимущества машинной холодовой оксигенированной перфузии коррелируют и с клиническими проявлениями. Из 10 пациентов, кому выполнена пересадка почки от посмертного донора с расширенными критериями с применением используемой перфузии, отсроченная функция трансплантата наблюдалась у 1 пациента (10%), что достоверно ниже по сравнению с группой I (p = 0,035). Именно в этом случае в процессе перфузии наблюдался рост индекса сосудистого сопротивления с 0,43 до 0,45, в остальных случаях индекс снижался в среднем на $0,07 \pm 0,04$ (0,02–0,13). Это говорит о том, что данный параметр может рассматриваться как предиктор развития отсроченной функции почечного трансплантата.

Первый опыт применения собственного протокола машинной холодовой оксигенированной перфузии почечного трансплантата от донора с расширенными критериями показал его безопасность и эффективность. Дальнейшие исследования позволят уточнить оптимальные параметры перфузии, выявить предикторы отсроченной функции органа и первично нефункционирующих трансплантатов. Дальнейшее снижение частоты отсроченной функции возможно за счет внедрения транспортных систем для оксигенированной холодовой перфузии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оригинальная методика Боткинской больницы по оксигенированной холодной перфузии почечного трансплантата безопасна. Ее проведение ассоциируется с низким риском развития отсроченной функции почечного трансплантата от доноров с расширенными критериями. Дальнейшие исследования позволят расширить показания к применению данной методики.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Lee HS, Kang M, Kim B, Park Y. Outcomes of kidney transplantation over a 16-year period in Korea: An analysis of the National Health Information Database. *Plos one*. 2021; 16 (2): e0247449.
2. Готье СВ, Хомяков СМ. Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2016 году. IX сообщение регистра Российского трансплантологического общества. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2017; 19 (2): 6–26. Gauthier SV, Khomyakov SM. Donorstvo i transplantatsiya organov v Rossiyskoy Federatsii v 2016 godu. IX soobshchenie registra Rossiyskogo transplantologicheskogo obshchestva. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2017; 19 (2): 6–26.
3. 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. Gauthier 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.
4. Wang Z, Durai P, Tiong HY. Expanded criteria donors in deceased donor kidney transplantation – An Asian perspective. *Indian journal of urology: IJU: journal of the Urological Society of India*. 2020; 36 (2): 89.
5. Gondos A, Döhler B, Brenner H, Opelz G. Kidney graft survival in Europe and the United States: strikingly different long-term outcomes. *Transplantation*. 2013; 95 (2): 267–274.
6. Saat TC, van den Akker EK, IJzermans JN, Dor FJ, de Bruin RW. Improving the outcome of kidney transplantation by ameliorating renal ischemia reperfusion injury: lost in translation? *Journal of translational medicine*. 2016; 14 (1): 1–9.
7. Kaminski J, Delpech PO, Kaaki-Hosni S, Promeyrat X, Hauet T, Hannaert P. Oxygen consumption by warm ischemia-injured porcine kidneys in hypothermic static and machine preservation. *Journal of Surgical Research*. 2019; 242: 78–86.
8. Cannon RM, Franklin GA. Machine perfusion for improving outcomes following renal transplant: current perspectives. *Transplant Research and Risk Management*. 2016; 8: 1–7.

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

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, Филиппцев 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

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Articles should contain original information that has not been previously published and is not considered for publication in other editions. Fee for publication of manuscripts will not be charged.

The manuscript should be presented in Microsoft Word format A4, 1.5 spacing, and Times New Roman font size 12. Submit your article to the online submission system in accordance with the instructions on the journal's website <https://journal.transpl.ru>.

Structure of the article

The Title page should include:

- Initials (first name and patronymic) of the authors of the article should be specified before their respective last names.

- Full official name of the institution, city and country.
- If authors from different institutions participated in writing of the manuscript, it is necessary to correlate those with the names of the authors by adding a digital index uppercase after last name, and right before the name of the institution.

Information about the authors

For each author fully specify the last and the first name, patronymic and position in the relevant department/institution.

For correspondence

Fully specify the last and the first name, patronymic of the author, who will be holding correspondence, address (including postal code), telephone, fax number, e-mail.

Abstract

Each article must be accompanied by an abstract. The amount of text for the abstract of the original article should be of no more than 300 words, for a literature review, clinical observation – no more than 200 words. The abstract must fully comply with the content of the work. The abstract should not use abbreviations without prior expansion.

Abstract of *the original article* should contain the following sections: **Objective, Materials and methods, Results, Conclusion**. The abstract should present the most important results of the research.

Do not write: «*A comparative analysis of the sensitivity and specificity was conducted ...*»

Should write: «*The sensitivity was ... % and ...%, p = , specificity, respectively ...% and ...%, p =*».

Keywords

At the end of the abstract keywords must be given. To select the keywords a thesaurus of U.S. National Library of Medicine should be used – Medical Subject Headings (MeSH) at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh>.

Conflict of interest

The author should inform the editor about the factual or potential conflict of interest have included the information about such conflict into the respective section of an article.

If there is no conflict of interest, the author should say so in the form like the following: «Author declares unawareness of the conflict of interest».

This information is supposed to be placed before the article text.

Text of article

Original article should include the following sections:

- Introduction
- Materials and methods
- Results
- Discussion
- Conclusion
- References

Review article should include an analysis of the literature with the presentation of modern sources (mainly in the last 5 years).

Clinical observation should be well illustrated (to reflect the essence of the problem) and include discussion with the use of literature data.

References in the text are indicated by number in square brackets: [1], [2, 5], [14–18] and **in the references section are presented in order of their appearance in the text**. All values given in the article should be expressed or duplicated in **SI** units.

References

The author is solely responsible for the accuracy of the data included in the references section of the article. References to unpublished papers or papers in print works are not allowed.

References are presented on a separate page.

The names of journals can be contracted in accordance with an embodiment of reduction adopted by the specific journal.

If the article quoted has DOI (a digital object identifier) or/and PMID (Pub Med identifier) they must be specified after the description of the article. To compile descriptions in References section NLM bibliographic reference citation standard is used – U.S. National Library of Medicine (http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html). If the number of authors does not exceed 6, the bibliographic description includes all the authors. If the number of authors is more, only the first six authors should be indicated and then add et al.

Requirements for tables and figures

Tables should be placed into the text; they should have numbered heading and clearly labeled graphs, convenient and simple to read. Table's data must comply with the numbers in the text, but should not duplicate the information therein. Table references in the text are required.

Illustrations and drawings should be submitted in electronic format (JPEG or TIFF format with a resolution of at least 300 dpi and no smaller than 6 × 9 cm), in a volume of close to 1 MB. Drawings must include all copyright symbols – arrows, numbers, signs, etc. Figure captions should be submitted in a separate file with the extension *.doc. First, the name is given, then all arithmetic and alphabetical symbols (lettering) are explained.

Articles should be addressed to the Editor at:

Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs
V.I. Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs
1, Shchukinskaya ul., Moscow 123182, Russian Federation
E-mail: vestniktranspl@gmail.com



**ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ
ТРАНСПЛАНТОЛОГОВ
«РОССИЙСКОЕ ТРАНСПЛАНТОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО»**

Глубокоуважаемые коллеги!

Приглашаем Вас принять участие в работе *XI Всероссийского съезда трансплантологов*, который состоится **21–23 сентября 2022 года в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России** по адресу: г. Москва, ул. Щукинская, д. 1.

В работе съезда примут участие руководители органов здравоохранения, представители высших органов государственной власти, партий, общественных организаций, российские и зарубежные лидеры клинической медицины и биомедицинской науки.

Проведение съезда отмечено памятными датами в истории трансплантологии: 55-летием первой в мире трансплантации сердца, 35-летием первой успешной трансплантации сердца в России и 25-летием начала программы родственной трансплантации печени детям.

В программе съезда Шумаковские чтения, Всероссийская конференция «Донорство органов – ключевая проблема трансплантологии», Всероссийская конференция «Научные школы и новые имена», конференции «Биоискусственные системы и регенеративная медицина» и «Системы вспомогательного кровообращения» и др.

Научная программа съезда

1. Биологические и клинические аспекты трансплантации органов.
2. Биомаркеры и регуляторные механизмы в трансплантологии.
3. Системы вспомогательного кровообращения и искусственное сердце.
4. Трансплантация органов детям.
5. Актуальные вопросы организации и функционирования сети трансплантологических программ в стране.
6. Аспекты органного донорства (эффективность использования донорского ресурса, расширение критериев, прижизненное донорство органов).
7. Актуальные вопросы сердечно-сосудистой и эндоваскулярной хирургии в аспекте трансплантации органов.
8. Биоискусственные системы, клеточные технологии и регенеративная медицина.
9. Актуальные вопросы донорства и трансплантации тканей человека в Российской Федерации.

В программу съезда включены учебные мероприятия Национальной школы трансплантологии. Участники получают свидетельство государственного образца в рамках непрерывного медицинского образования.

Срок подачи тезисов до 15 мая 2022 года.

Тезисы будут опубликованы в отдельном выпуске журнала «Вестник трансплантологии и искусственных органов».

Тезисы должны быть представлены текстом в объеме 1 страницы формата А4 с полями 3 см с каждой стороны, через 1 интервал шрифтом Times New Roman, размер 12. Название тезисов – заглавными буквами жирным шрифтом; авторы (инициалы после фамилий) – строчными буквами жирным шрифтом; название учреждения, город – строчными буквами обычным шрифтом; между названием учреждения и текстом тезисов – 2 интервала.

Тезисы необходимо выслать по электронной почте на transplantology@mail.ru.

Контакты оргкомитета

По вопросам, связанным с научной программой: +7 (499) 193-87-62, transplantology@mail.ru.

По вопросам, связанным с общей координацией мероприятия и организацией пребывания региональных участников: Дарья Кобяцкая, +7 (499) 196-18-03, fnctio.event@gmail.com

Председатель Российского трансплантологического общества,
главный специалист трансплантолог Минздрава России, академик РАН

Готье С.В.

**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 4.04.22.

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>

Заказ 1440