# ВЕСТНИК ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ

# VESTNIK TRANSPLANTOLOGII I ISKUSSTVENNYKH ORGANOV

# RUSSIAN JOURNAL OF TRANSPLANTOLOGY AND ARTIFICIAL ORGANS

**УЧРЕДИТЕЛИ: ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ТРАНСПЛАНТОЛОГОВ «РОССИЙСКОЕ ТРАНСПЛАНТОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО»**

**ФГБУ «НМИЦ ТИО ИМЕНИ АКАДЕМИКА В.И. ШУМАКОВА» МИНЗДРАВА РОССИИ**

**ФГАОУ ВО ПЕРВЫЙ МГМУ ИМЕНИ И.М. СЕЧЕНОВА МИНЗДРАВА РОССИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)**

**THE OFFICIAL JOURNAL OF ALL-RUSSIAN PUBLIC ORGANIZATION OF TRANSPLANTOLOGISTS «RUSSIAN TRANSPLANT SOCIETY»**

**SHUMAKOV NATIONAL MEDICAL RESEARCH CENTER OF TRANSPLANTOLOGY AND ARTIFICIAL ORGANS**

**I.M. SECHENOV FIRST MOSCOW STATE MEDICAL UNIVERSITY (SECHENOV UNIVERSITY)**

**2023. Том XXV. № 2**

**2023. Vol. XXV. № 2**

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

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



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

**Заведующая редакцией – Н.Ш. Бегмуродова**
(Москва, Россия).
E-mail: edr.begmurodova@gmail.com

**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

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

**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, член-корреспондент РАН

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

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

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

**EDITORIAL COUNCIL**

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

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

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

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

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

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

**E.V. Shlyakhto** (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. Борзенок** (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.
**П. Каличинский** (Варшава, Польша) – профессор
**Н.Ф. Климушева** (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., профессор РАН *(редактор раздела «Донорство органов»)*
**Б.Л. Миронков** (Москва, Россия) – д. м. н., профессор *(редактор раздела «Смежные дисциплины»)*
**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., профессор
**О.О. Руммо** (Минск, Республика Беларусь) – академик НАНБ, д. м. н., профессор
**Р.Ш. Саитгареев** (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»)*

**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
**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, professor of Russian Academy of Sciences *(editor of the section «Organ donation»)*
**B.L. Mironkov** (Moscow, Russia), MD, PhD, professor *(editor of the section «Related disciplines»)*
**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, professor
**O.O. Rummo** (Minsk, Belarus) – MD, PhD, professor, 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. Tsirulnikova** (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»)*

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

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

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

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

**ISSN 1995-1191**

**Адрес для корреспонденции:**

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

**Address for correspondence:**

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

**Подписной индекс в каталоге почты России – ПН380**

# СОДЕРЖАНИЕ


## СТРАНИЦА ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Инновационные разработки ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России отмечены среди важнейших достижений российской науки в 2022 году
*С.В. Готье*

## КЛИНИЧЕСКАЯ ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ

Комплексный подход к профилактике развития отсроченной функции почечного трансплантата
*А.В. Шабунин, О.Б. Лоран, Д.Ю. Пушкарь, Е.И. Велиев, М.Г. Минина, П.А. Дроздов, И.В. Нестеренко, Д.А. Макеев, В.М. Севостьянов, О.С. Журавель, С.А. Астапович, Л.Р. Карапетян*

Выбор метода лечения симптоматической инфравезикальной обструкции у пациентов с доброкачественной гиперплазией предстательной железы, перенесших трансплантацию почки
*С.В. Попов, Р.Г. Гусейнов, Д.А. Сайдулаев, С.В. Садовников, Ю.В. Кисиль, К.В. Сивак, Н.С. Буненков, В.В. Перепелица, А.С. Улитина, Т.А. Лелявина*

Влияние элиминации вторичной тепловой ишемии на функцию почечного трансплантата: эксперимент и клиническое исследование
*А.В. Шабунин, П.А. Дроздов, Д.А. Макеев, И.В. Нестеренко, О.С. Журавель, С.А. Астапович, Э.А. Лиджиева*

## ТРАНСПЛАНТАЦИЯ СЕРДЦА И ВСПОМОГАТЕЛЬНОЕ КРОВООБРАЩЕНИЕ

Чрескожный обход левого желудочка как метод краткосрочной механической поддержки кровообращения перед трансплантацией сердца у пациентов с высокой предтрансплантационной легочной гипертензией (серия клинических наблюдений)
*В.Н. Попцов, В.В. Слободяник, Е.А. Спирина, Н.В. Петухов, А.К. Солодовникова, В.Ю. Воронков, А.А. Догонашева, А.А. Скокова*

Бивентрикулярная механическая поддержка сердца. История и современное состояние проблемы
*М.О. Жульков, Д.А. Сирота, Д.С. Хван, А.Г. Макаев, Х.А. Агаева, И.С. Зыков, А.В. Фомичев, О.В. Повещенко, М.А. Суровцева, А.М. Чернявский*


# CONTENTS


## EDITORIAL

6 Innovations at Shumakov center counted among the most important achievements in Russian science in 2022
*S.V. Gautier*

## CLINICAL TRANSPLANTOLOGY

8 Integrated strategy for preventing delayed renal graft function
*A.V. Shabunin, O.B. Loran, D.Yu. Pushkar, E.I. Veliev, M.G. Minina, P.A. Drozdov, I.V. Nesterenko, D.A. Makeev, V.M. Sevostiyanov, O.S. Zhuravel, S.A. Astapovich, L.R. Karapetyan*

15 Choice of treatment method for symptomatic bladder outlet obstruction in patients with benign prostatic hyperplasia after kidney transplantation
*S.V. Popov, R.G. Huseynov, D.A. Saydulaev, S.V. Sadovnikov, Yu.V. Kisil, K.V. Sivak, N.S. Bunenkov, V.V. Perepelitsa, A.S. Ulitina, T.A. Lelyavina*

26 Effect of second warm ischemia elimination on kidney graft function: an experiment and clinical study
*A.V. Shabunin, P.A. Drozdov, D.A. Makeev, I.V. Nesterenko, O.S. Zhuravel, S.A. Astapovich, E.A. Lidjieva*

## HEART TRANSPLANTATION AND ASSISTED CIRCULATION

38 Percutaneous left ventricular assist device as a short-term mechanical circulatory support before heart transplantation in patients with high pre-transplant pulmonary hypertension (series of clinical cases)
*V.N. Poptsov, V.V. Slobodyanik, E.A. Spirina, N.V. Petukhov, A.K. Solodovnikova, V.Yu. Voronkov, A.A. Dogonasheva, A.A. Skokova*

49 Biventricular mechanical circulatory support. History and current state of the problem
*M.O. Zhulkov, D.A. Sirota, D.S. Khvan, A.G. Makaev, H.A. Agaeva, I.S. Zykov, A.V. Fomichev, O.V. Poveschenko, M.A. Surovtseva, A.M. Chernyavsky*

Плевро-перикардиальное окно как метод хирургической профилактики значимого перикардиального выпота у пациентов после трансплантации сердца
*К.С. Кирьяков, А.Р. Закирьянов, Т.А. Халилулин, Н.Ю. Захаревич, О.А. Поздняков, А.М. Гольц, Д.С. Иванов, А.А. Сухачев, В.М. Захаревич*
57

Pericardial window as a surgical method for preventing significant postoperative pericardial effusion
*K.S. Kiryakov, A.R. Zakiryanov, T.A. Khalilulin, N.Y. Zakharevich, O.A. Pozdnyakov, A.M. Goltz, D.S. Ivanov, A.A. Sukhachev, V.M. Zakharevich*

**РЕГЕНЕРАТИВНАЯ МЕДИЦИНА И КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ**

**REGENERATIVE MEDICINE AND CELL TECHNOLOGIES**

Перспективы создания искусственных тканей и органов человека на основе метода трехмерной биопечати
*Д.В. Булгин, А.Л. Ковтун, И.В. Решетов, Е.Ю. Радомская*
63

Prospects for fabrication of artificial human tissues and organs based on 3D bioprinting
*D.V. Bulgin, A.L. Kovtun, I.V. Reshetov, E.Yu. Radomskaya*

Децеллюляризованная строма пуповины в тканевой инженерии и регенеративной медицине: систематический обзор
*Ю.Б. Басок, А.А. Кондратенко, Л.И. Калюжная, Е.А. Волкова, К.А. Воробьев, В.И. Севастьянов*
82

Decellularized umbilical cord stroma in tissue engineering and regenerative medicine: a systematic review
*Yu.B. Basok, A.A. Kondratenko, L.I. Kalyuzhnaya, E.A. Volkova, K.A. Vorobyov, V.I. Sevastianov*

Искусственный нервный проводник для направленного роста периферических нервов (кадаверное исследование)
*А.Г. Федяков, Е.А. Немец, О.Н. Древаль, А.В. Горожанин, Л.А. Сиднева, З.Х. Плиева, М.А. Разин, Н.В. Перова, В.И. Севастьянов*
99

Artificial nerve conduit for guiding peripheral nerve growth (cadaveric study)
*A.G. Fedyakov, E.A. Nemets, O.N. Dreval, A.V. Gorozhanin, L.A. Sidneva, Z.H. Plieva, M.A. Razin, N.V. Perova, V.I. Sevastianov*

Внутрибрюшинное введение клеточно-инженерной конструкции поджелудочной железы крысам с экспериментальным сахарным диабетом (предварительные результаты)
*А.С. Пономарева, Н.В. Баранова, А.О. Никольская, Л.А. Кирсанова, Н.А. Онищенко, З.З. Гоникова, Г.Н. Бубенцова, Е.А. Волкова, Ю.Б. Басок, В.И. Севастьянов*
107

Intraperitoneal injection of cell-engineered pancreas in rats with experimental type I diabetes (preliminary results)
*A.S. Ponomareva, N.V. Baranova, A.O. Nikolskaya, L.A. Kirsanova, N.A. Onishchenko, Z.Z. Gonikova, G.N. Bubentsova, E.A. Volkova, Yu.B. Basok, V.I. Sevastianov*

Влияние белково-пептидного биорегулятора склеры, включенного в альбуминовый криогель, на состояние склеральной оболочки при модельном культивировании заднего отдела глаза
*О.В. Ямскова, М.С. Краснов, Е.В. Сидорский, В.И. Лозинский*
118

Influence of protein-peptide bioregulator isolated from bovine sclera and incorporated into an albumin-based cryogel on the sclera in a model cultivation of a posterior eye segment
*O.V. Yamskova, M.S. Krasnov, E.V. Sidorsky, V.I. Lozinsky*

**ТРАНСПЛАНТОМИКА**

**TRANSPLANTOMICS**

Галектин-3 у реципиентов солидных органов: роль в развитии патологии трансплантата и перспективы применения
*Д.А. Великий, М.А. Особливая, О.П. Шевченко*
129

Galectin-3 in solid organ recipients: role in graft pathology and prospects for use
*D.A. Velikiy, M.A. Osoblivaya, O.P. Shevchenko*

Прогностическая значимость гормона роста при трансплантации печени детям раннего возраста
*Р.М. Курабекова, О.В. Силина, О.М. Цирульникова, И.Е. Пашкова, О.Е. Гичкун, Г.А. Олефиренко, С.Ю. Олешкевич, А.Р. Монахов, О.П. Шевченко*
140

Prognostic significance of growth hormone in pediatric liver transplantation
*R.M. Kurabekova, O.V. Silina, O.M. Tsirulnikova, I.E. Pashkova, O.E. Gichkun, G.A. Olefirenko, S.Yu. Oleshkevich, A.R. Monakhov, O.P. Shevchenko*

Диагностический и терапевтический потенциал трансформирующего фактора роста β1 при трансплантации солидных органов: результаты последних исследований
*С.О. Шарапченко, А.А. Мамедова, О.П. Шевченко*
148 Diagnostic and therapeutic potential of transforming growth factor beta 1 in solid organ transplantation: recent research findings
*S.O. Sharapchenko, A.A. Mamedova, O.P. Shevchenko*

**ДОНОРСТВО ОРГАНОВ**

**ORGAN DONATION**

*Ex vivo* перфузия донорских легких с использованием разработанного раствора с последующей ортотопической левосторонней трансплантацией легкого (экспериментальное исследование)
*С.В. Готье, И.В. Пашков, В.К. Богданов, Д.О. Олешкевич, Д.М. Бондаренко, Н.П. Можейко, Н.С. Буненков, Н.В. Грудинин*
158 Normothermic ex *vivo* lung perfusion using a developed solution followed by orthotopic left lung transplantation (experimental study)
*S.V. Gautier, I.V. Pashkov, V.K. Bogdanov, D.O. Oleshkevich, D.M. Bondarenko, N.P. Mozheiko, N.S. Bunenkov, N.V. Grudinin*

Случай успешной трансплантации печени от посмертного донора, находившегося на лечении программным гемодиализом на протяжении 10 лет
*Д.А. Альтман, О.М. Цирульникова, А.Е. Полторак, В.В. Пчельников, Б.Х. Сарсенбаев, А.С. Рыжих, И.Я. Бондаревский, Е.Г. Муравьева*
167 Successful liver transplantation from a deceased donor who was on hemodialysis for 10 years
*D.A. Altman, O.M. Tsirulnikova, A.E. Poltorak, V.V. Pchelnikov, B.Kh. Sarsenbayev, A.S. Ryzhykh, I.Ya. Bondarevsky, E.G. Muravyeva*

**СМЕЖНЫЕ ДИСЦИПЛИНЫ**

**RELATED DISCIPLINES**

Сравнительный анализ фармакокинетических параметров трансдермальной и инъекционной форм никотинамида
*В.А. Рыжикова, Е.Г. Кузнецова, О.М. Курылева, Л.А. Саломатина, С.В. Курсаков, А.О. Никольская, В.И. Севастьянов*
170 Comparative analysis of the pharmacokinetic parameters of transdermal and injectable forms of nicotinamide
*V.A. Ryzhikova, E.G. Kuznetsova, O.M. Kuryleva, L.A. Salomatina, S.V. Kursakov, A.O. Nikolskaya, V.I. Sevastianov*

**ИНФОРМАЦИЯ**

**INFORMATION**

Требования к публикациям
178 Instructions to authors

О подготовке научных медицинских кадров в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России
183 On scientific and medical personnel training at Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs

# ИННОВАЦИОННЫЕ РАЗРАБОТКИ ФГБУ «НМИЦ ТИО ИМ. АК. В.И. ШУМАКОВА» МИНЗДРАВА РОССИИ ОТМЕЧЕНЫ СРЕДИ ВАЖНЕЙШИХ ДОСТИЖЕНИЙ РОССИЙСКОЙ НАУКИ В 2022 ГОДУ

# INNOVATIONS AT SHUMAKOV CENTER COUNTED AMONG THE MOST IMPORTANT ACHIEVEMENTS IN RUSSIAN SCIENCE IN 2022

***Глубокоуважаемые коллеги!***

*23 мая 2023 года в Москве в докладе президента Российской академии наук Г.Я. Красникова Общему собранию академии были представлены наиболее значимые научные достижения российских ученых как важнейший стратегический и интеллектуальный ресурс для решения приоритетных государственных задач. Речь идет об инновационных разработках, базирующихся на достижениях фундаментальной науки и направленных на обеспечение технологического суверенитета России.*

*Среди достижений в области медицины были отмечены разработанные в ФГБУ «НМИЦ трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России методы и технологии для трансплантации жизненно важных органов у детей и взрослых, в частности технология изолированной перфузии донорских легких, позволяющая не только сохранять, но и реабилитировать донорский орган для трансплантации.*

*Созданы отечественные системы вспомогательного кровообращения для двухэтапной трансплантации сердца. Разработки*

***Dear esteemed colleagues,***

*On May 23, 2023, the President of the Russian Academy of Sciences, Prof. Gennady Krasnikov, presented a report before the General Assembly, the Academy's supreme organ. Important strategic and intellectual resource for solving Russia's priority challenges were recognized as the most significant scientific achievements by Russian scientists. These are innovative developments based on breakthroughs in fundamental science and aimed at ensuring Russia's technological sovereignty.*

*Among the achievements recognized in the field of medicine were inventions developed at Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs. These were techniques and technologies for transplantation of vital organs in children and adults. Prominent among them is isolated lung perfusion, which has shown to be highly effective in preserving and rehabilitating donor organs for transplantation.*

*Included in the list of achievements are Russian-made circulatory support systems designed to facilitate two-stage heart transplant surgeries. The inventions are currently being mass*

*доведены до стадии серийного производства, имеется успешный опыт их клинического применения. Оригинальные конструкции отечественных систем вспомогательного кровообращения зарегистрированы в форме двух международных заявок на патенты. Завершены доклинические исследования первого в мире искусственного желудочка сердца для педиатрических пациентов.*

*Разработанные технологии обеспечивают увеличение доступности и числа трансплантаций сердца, легких для детей и взрослых, улучшение клинических результатов трансплантации, позволяют отказаться от зарубежных аналогов.*

*Представленные научные достижения НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова в области трансплантологии и искусственных органов убедительно демонстрируют возможность успешного развития научных разработок российских ученых от идеи и фундаментальных исследований до серийного производства продукта и его клинического применения. Именно такой подход отвечает вызовам сегодняшнего дня.*

*С уважением,*
*главный редактор*
*академик РАН С.В. Готье*

*produced and have been successfully applied in clinical practice. Two international patents have been filed to protect the original designs of these circulatory assist systems. Preclinical studies of the world's first artificial heart ventricle for pediatric patients have been completed.*

*All these inventions have increased the availability and number of heart-lung transplants for children and adults, improved clinical transplant outcomes, and eliminated the need for foreign systems.*

*The presented scientific achievements by Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs demonstrate convincingly that scientific inventions of Russian scientists can be successfully developed from the idea and fundamental research to mass production of the product and clinical application. It is this approach that meets today's challenges.*

*Sincerely,*

*Sergey Gautier,*
*Editor-in-chief, Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs.*
*Member, Russian Academy of Sciences*

DOI: 10.15825/1995-1191-2023-2-8-14

# КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД К ПРОФИЛАКТИКЕ РАЗВИТИЯ ОТСРОЧЕННОЙ ФУНКЦИИ ПОЧЕЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА

*А.В. Шабунин[1, 2], О.Б. Лоран[1, 2], Д.Ю. Пушкарь[1], Е.И. Велиев[1], М.Г. Минина[1], П.А. Дроздов[1, 2], И.В. Нестеренко[1], Д.А. Макеев[1], В.М. Севостьянов[1], О.С. Журавель[1], С.А. Астапович[1], Л.Р. Карапетян[1]*

[1] ГБУЗ «Городская клиническая больница имени С.П. Боткина» Департамента здравоохранения Москвы, Москва, Российская Федерация

[2] ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

**Цель:** определить эффективность и безопасность применения комплексного подхода к профилактике развития отсроченной функции почечного трансплантата. **Материалы и методы.** С июня 2018-го по декабрь 2022 года в Городской клинической больнице имени С.П. Боткина выполнено 478 трансплантаций почки от посмертного донора. В зависимости от применения комплексного подхода больные были разделены на две группы: I группу составили 128 больных, кому не применялся комплексный подход; во II группу наблюдения были включены 67 больных, кому на периоперационном этапе применялся комплексный подход к профилактике развития отсроченной функции почечного трансплантата. Комплексный подход заключался в применении машинной оксигенированной холодовой перфузии при использовании доноров с расширенными критериями, применении устройства для элиминации вторичной тепловой ишемии, персонализированном подходе к назначению стартовой дозы ингибитора кальциневрина, применении алпростадила при высоком сосудистом сопротивлении в артериях почечного трансплантата. **Результаты.** Отсроченная функция почечного трансплантата при использовании комплексного подхода к ее профилактике развилась в 5 из 44 наблюдений (11,4%), в контрольной группе – у 13 из 44 пациентов (29,5%). Различия были статистически значимыми (p = 0,034), и между признаками была отмечена связь средней силы (V = 0,225). Использование комплексного профилактического подхода уменьшало шансы развития ОФПТ в 0,3 раза (95% ДИ: 0,1–0,95). Риск ОФПТ при использовании комплексного подхода составил 61,3% от риска развития отсроченной функции при отсутствии ее профилактики, таким образом, ОР = 1,63 (95% ДИ: 1,1–2,4). Медиана длительности нормализации функции трансплантата была статистически значимо ниже во II группе: 5 (IQR: 3–9) против 15 (IQR: 7–19) суток (p = 0,012). Средняя длительность госпитализации в I группе составила 19,1 ± 4,2 (95% ДИ: 14,5–26,1) койко-дня, во II – 13,9 ± 3,4 (95% ДИ: 9,3–17,2) койко-дня. Различия по данному показателю были также статистически значимыми (p = 0,043). **Заключение.** Разработанный в Боткинской больнице научно-обоснованный и внедренный в клиническую практику комплекс профилактических мер отсроченной функции почечного трансплантата позволяет существенно снизить бремя модифицируемых факторов риска данного осложнения и тем самым значимо улучшить результаты лечения реципиентов почечного трансплантата.

*Ключевые слова: трансплантация почки, отсроченная функция почечного трансплантата, факторы риска.*

**Для корреспонденции:** Дроздов Павел Алексеевич. Адрес: 117148, Москва, ул. Брусилова, д. 15, кв. 8. Тел. (962) 985-04-41. E-mail: dc.drozdov@gmail.com

**Corresponding author:** Pavel Drozdov. Address: 15/8, Brusilov str., Moscow, 117148, Russian Federation. Phone: (962) 985-04-41. E-mail: dc.drozdov@gmail.com

# INTEGRATED STRATEGY FOR PREVENTING DELAYED RENAL GRAFT FUNCTION

*A.V. Shabunin[1, 2], O.B. Loran[1, 2], D.Yu. Pushkar[1], E.I. Veliev[1], M.G. Minina[1], P.A. Drozdov[1, 2], I.V. Nesterenko[1], D.A. Makeev[1], V.M. Sevostiyanov[1], O.S. Zhuravel[1], S.A. Astapovich[1], L.R. Karapetyan[1]*

[1] Botkin Hospital, Moscow, Russian Federation
[2] Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russian Federation

**Objective:** to determine the efficacy and safety of an integrated strategy aimed at preventing delayed renal graft function (DGF). **Materials and methods.** From June 2018 to December 2022, 478 deceased-donor kidney transplants were performed at Botkin Hospital, Moscow. The patients were divided into two groups: Group I consisted of 128 patients who did not use the integrated strategy; Group II included 67 patients in whom the DGF prevention strategy was used at the perioperative stage. The integrated strategy involved the use of hypothermic oxygenated machine perfusion (HOPE) using expanded criteria donors, the use of a second warm ischemia (SWI) elimination device, personalized initial calcineurin inhibitor (CI) dosing, and use of alprostadil for high vascular resistance in renal graft arteries. **Results.** DGF occurred in 5 of 44 patients (11.4%) that used the integrated strategy, and in 13 of 44 patients (29.5%) in the control group. The differences were statistically significant (p = 0.034), there was a medium strength relationship between the traits (V = 0.225). The use of the integrated DGF prevention approach reduced the chances of developing DGF by a factor of 0.3 (95% CI: 0.1–0.95). The risk of DGF in the integrated strategy group was 61.3% of the risk of DGF in the non-strategy group, thus the relative risk (RR) is 1.63 (95% CI: 1.1–2.4). Median duration of graft function normalization was statistically significantly lower in group II: 5 (IQR: 3–9) versus 15 (IQR: 7–19) days (p = 0.012). Mean length of hospital stay was 19.1 ± 4.2 (95% CI: 14.5–26.1) bed-days in group I and 13.9 ± 3.4 (95% CI: 9.3–17.2) bed-days in group II. Differences in this indicator were also statistically significant (p = 0.043). **Conclusion.** The set of DGF prevention measures, developed at Botkin Hospital, evidence-based and implemented in clinical practice, can reduce the burden of modifiable risk factors of this complication significantly, thereby improving treatment outcomes for kidney transplant recipients considerably.

*Keywords: kidney transplantation, delayed renal graft function, risk factors.*

## ВВЕДЕНИЕ

По данным USRDS на 2021 год, пятилетняя выживаемость реципиентов почечного трансплантата, полученного от посмертного донора, составила 77,6% по сравнению с 46,5 и 41,7% у пациентов на перитонеальном диализе и на гемодиализе соответственно. Совершенствование хирургической техники, достижения трансплантационной иммунобиологии, повышение доступности ТП за счет развития координации органного донорства [1–4] на сегодняшний день сделали трансплантацию почки «золотым стандартом» лечения пациентов с терминальной стадией ХБП без абсолютных противопоказаний [5, 6].

Дефицит донорских органов является общемировой проблемой клинической трансплантологии. Одним из оправданных шагов по снижению его бремени является расширение донорского пула за счет субоптимальных доноров (доноров с расширенными критериями) [7]. Стратегия расширения критериев к донорству, с одной стороны, позволяет повысить доступность трансплантологической помощи, а с другой – использование трансплантатов, полученных от субоптимальных доноров, ассоциировано с повышенной частотой развития послеоперационных осложнений и меньшим сроком функционирования трансплантата, что отмечается многими авторами. Одним из подобных осложнений является и отсроченная функция почечного трансплантата, которая ассоциируется как с увеличением количества ранних послеоперационных осложнений, так и с худшими отдаленными результатами выживаемости почечных трансплантатов [8].

Ранее нами были определены потенциально модифицируемые факторы риска развития отсроченной функции почечного трансплантата [8] и для каждого из них разработаны профилактические мероприятия, снижающие их воздействие на почечный трансплантат [9–13].

Следующим этапом нашей работы стала оценка эффективности применения комплексного подхода, который заключался в совместном применении машинной оксигенированной холодовой перфузии, устройства для элиминации вторичной тепловой ишемии, персонализированного подхода к назначению стартовой дозы ингибитора кальциневрина, назначе-

нии алпростадила при высоком индексе сосудистого сопротивления.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С июня 2018-го по декабрь 2022 года в Городской клинической больнице имени С.П. Боткина выполнено 478 трансплантаций почки от посмертного донора.

В зависимости от применения комплексного подхода больные были разделены на две группы. Первую группу составили 128 больных, кому не применялся комплексный подход. Средний возраст пациентов составил 46,91 ± 9,9 (20–70) года. Женщин было 49, средний возраст 46,26 ± 9,4 (20–71) года, мужчин – 79, средний возраст 47,14 ± 10,1 (20–71) года. У всех больных диагностирована 5-я стадия хронической почечной недостаточности (ХПН). У 72 больных (56,3%) ХПН развилась на фоне хронического гломерулонефрита, у 9 (7%) – в исходе аутосомно-доминантного поликистоза почек, у 8 (6,3%) – на фоне диабетической нефропатии, у 7 (5,5%) – в исходе хронического пиелонефрита, у 7 (5,5%) – на фоне ХТИН, у 6 (4,7%) – на фоне аномалии развития мочеполовой системы, у 5 (3,9%) – в исходе нефроангиосклероза, у 5 (3,9%) – на фоне мочекаменной болезни, у 5 (3,9%) – на фоне геморрагического васкулита, у 4 (3,0%) – на фоне ФСГС. На гемодиализе находились 99 пациентов (77,3%), на перитонеальном – 23 пациента (17,9%), додиализные больные – 6 (4,8%). Диурез до операции был у 81 больного (63,2%), отсутствовал у 47 (36,8%). Первая трансплантация почки выполнена у 107 больных (83,6%), вторая – у 20 (15,6%), третья – у 1 (0,8%). Медиана ИМТ у реципиентов составила 25,08 (IQR: 21–33) кг/м$^2$. Повышение уровня предсуществующих антител I класса наблюдалось у 6 больных (4,7%), II класса – у 8 больных (6,3%).

Во всех случаях ТП была выполнена от посмертного донора. В 86 случаях (67,2%) донор почки был признан стандартным, в 40 случаях – с расширенными критериями (31,3%), донор с остановкой сердечной деятельности – 2 случая (1,5%). Медианы возраста доноров составили 47 (IQR: 41–55) лет, ИМТ – 26,2 (IQR: 24,0–31,1) кг/м$^2$. Медианы уровня креатинина и времени нахождения в реанимации – 87,37 (IQR: 70–93) мкмоль/л и 43 (IQR: 32,3–78,1) часа. Вазопрессорная поддержка имела место у 101 донора (78,9%), среди которых у 4 (3,9%) доза норадреналина превышала 1000 нг/кг/мин, либо подключался второй вазопрессор.

Медиана времени холодовой консервации составила 10,1 (IQR: 8,2–12,5) часа. Медиана времени вторичной тепловой ишемии (формирования сосудистых анастомозов) составила 41 (IQR: 31–51) мин. Среднее время операции и интраоперационная кровопотеря составили 221,3 ± 44,5 (95% ДИ: 226,5–244,2) мин и 115,3 ± 75,2 (95% ДИ: 113,4–134,2) мл. Во всех случаях интраоперационно выполняли УЗ-доплерографию почечного трансплантата с определением индекса резистентности (ИР) артериального кровотока, медиана которого составила 0,7 (IQR: 0,63–0,85). Применялась стандартная техника снижения влияния вторичной тепловой ишемии. В качестве иммуносупрессивной терапии в раннем послеоперационном периоде во всех случаях использовалась тройная схема, состоящая из пролонгированной формы такролимуса, производных микофеноловой кислоты и метилпреднизолона. Для индукции во всех случаях использовался базиликсимаб интраоперационно и на 4-е сутки. Также интраоперационно на 3-и, 5-е сутки внутривенно вводилось 500 мг метилпреднизолона. Целевой концентрацией такролимуса в раннем послеоперационном периоде считали 10–12 нг/мл.

Во II группу наблюдения были включены 67 больных, кому на периоперационном этапе применялся комплексный подход к профилактике развития отсроченной функции почечного трансплантата. Средний возраст пациентов составил 45,53 ± 10,7 (20–71) года. Женщин было 22, средний возраст 45,43 ± 10,6 (21–72) года, мужчин – 45, средний возраст 45,67 ± 10,1 (20–72) года. У всех больных диагностирована 5-я стадия хронической почечной недостаточности (ХПН). У 35 больных (52,3%) ХПН развилась на фоне хронического гломерулонефрита, у 8 (11,9%) – в исходе аутосомно-доминантного поликистоза почек, у 8 (11,9%) – на фоне диабетической нефропатии, у 6 (9%) – в исходе хронического пиелонефрита, у 6 (9%) – на фоне ХТИН, у 4 (5,9%) – на фоне аномалии развития мочеполовой системы. На гемодиализе находились 59 пациентов (88%), на перитонеальном – 6 пациентов (9%), додиализные больные – 2 (3%). Диурез до операции был у 52 больных (77,6%), отсутствовал у 15 (22,4%). Первая трансплантация почки выполнена у 64 больных (95,5%), вторая – у 3 (4,5%). Медиана ИМТ у реципиентов составила 25,66 (IQR: 21–32) кг/м$^2$. Повышение уровня предсуществующих антител I класса наблюдалось у 4 больных (5,9%), II класса – у 7 больных (10,4%).

Во всех случаях ТП была выполнена от посмертного донора. В 35 случаях (52,2%) донор почки был признан стандартным, в 26 случаях – с расширенными критериями (38,8%), донор с остановкой сердечной деятельности – 6 случаев (9%). Медианы возраста доноров составили 49,6 (IQR: 45–56) года,

ИМТ – 26,9 (IQR: 24,6–31,3) кг/м$^2$. Медианы уровня креатинина и времени нахождения в реанимации – 89,9 (IQR: 74–98) мкмоль/л и 45 (IQR: 32,3–78,1) часов. Вазопрессорная поддержка имела место у 56 доноров (83,5%), среди которых у 4 (7,1%) доза норадреналина превышала 1000 нг/кг/мин, либо подключался второй прессор.

Среднее время проведения перфузии составило 211,35 ± 42,67 (180–320) мин. При выполнении перфузии среднее время статической холодовой консервации составило 278,35 ± 94,26 (250–450) мин. Медиана времени вторичной тепловой ишемии (формирования сосудистых анастомозов) составила 40 (IQR: 31–52) мин. Для снижения влияния вторичной тепловой ишемии применялось разработанное в клинике устройство. Среднее время операции и интраоперационная кровопотеря составили 219,3 ± 45,3 (95% ДИ: 214,7–249,5) мин и 117,9 ± 74,1 (95% ДИ: 115,3–140,9) мл. Во всех случаях интраоперационно выполняли УЗ-доплерографию почечного трансплантата с определением индекса резистентности (ИР) артериального кровотока, медиана которого составила 0,76 (IQR: 0,6–1). Для коррекции ИР больным данной группы проводилась постоянная инфузия алпростадила в дозе 120 мкг в сутки. В качестве иммуносупрессивной терапии в раннем послеоперационном периоде во всех случаях использовалась тройная схема, состоящая из пролонгированной формы такролимуса, производных микофеноловой кислоты и метилпреднизолона. Для индукции во всех случаях использовался базиликсимаб интраоперационно и на 4-е сутки. Также интраоперационно на 3-и, 5-е сутки внутривенно вводилось 500 мг метилпреднизолона. Стартовая доза такролимуса, которую пациент принимал перед операцией, определялась индивидуально, исходя из возраста и веса пациента. Целевой концентрацией такролимуса в раннем послеоперационном периоде считали 10–12 нг/мл.

### Методы и статистический анализ

Критериями исключения из обеих групп были следующие: развитие первичного нефункционирования трансплантата, послеоперационные осложнения, потребовавшие неотложной трансплантатэктомии в первую неделю после трансплантации, а также смерть реципиента в первые 7 суток. Группы были сравнимы по основным характеристикам реципиента, периоперационным показателям и ряду характеристик донора, за исключением возраста ($p = 0,042$) и доли асистолических доноров ($p = 0,007$). Подробная сравнительная характеристика представлена в табл. 1.

В связи с наличием достоверных отличий по двум весомым факторам риска развития отсроченной функции почечного трансплантата – возрасту донора и частоте использования доноров с необратимой остановкой эффективного кровообращения ($p = 0,047$ и $p < 0,001$ соответственно) – мы выполнили псевдорандомизацию сравниваемых групп методом PSM (допуск соответствия 0,1). Полученные в результате псевдорандомизации группы имели по 44 пациента в каждой и были сравнимы по возрасту донора ($p = 0,732$) и доле асистолических доноров ($p = 0,612$).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

При анализе непосредственных результатов в двух исследуемых группах после псевдорандомизации показано, что отсроченная функция почечного трансплантата при использовании комплексного подхода к ее профилактике развилась в 5 из 44 наблюдений (11,4%), в контрольной группе – у 13 из 44 пациентов (29,5%). Различия были статистически значимыми ($p = 0,034$), и между признаками была отмечена связь средней силы ($V = 0,225$). Использование комплексного профилактического подхода уменьшало шансы развития ОФПТ в 0,3 раза (95% ДИ: 0,1–0,95). Риск ОФПТ при использовании комплексного подхода составил 61,3% от риска развития отсроченной функции при отсутствии ее профилактики, таким образом, ОР = 1,63 (95% ДИ: 1,1–2,4). Медиана длительности нормализации функции трансплантата была статистически значимо ниже во II группе: 5 (IQR: 3–9) против 15 (IQR: 7–19) суток ($p = 0,012$). Средняя длительность госпитализации в I группе составила 19,1 ± 4,2 (95% ДИ: 14,5–26,1) койко-дня, во II группе – 13,9 ± 3,4 (95% ДИ: 9,3–17,2) койко-дня. Различия по данному показателю были также статистически значимыми ($p = 0,043$).

Клинические результаты лечения реципиентов почечного трансплантата, составивших I и II группы, до и после псевдорандомизации представлены в табл. 2.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Отсроченная функция почечного трансплантата – многофакторная проблема, которая оказывает значительное негативное влияние как на непосредственные, так и на отдаленные результаты трансплантации почки. Значительный вклад в развитие данного осложнения вносят донорские характеристики, которые врачи-трансплантологи не могут скорректировать, но в то же время имеется ряд факторов, которые способны оказать дополнительное повреждающее действие на почечный трансплантат на этапе консервации (время статической холодовой

консервации), операции (время вторичной тепловой ишемии) и в раннем послеоперационном периоде (нефротоксичность ингибиторов кальциневрина, повышенный индекс сосудистого сопротивления).

Таблица 1

**Сравнительная характеристика периоперационных факторов I и II групп**

**Comparative characteristics of perioperative factors in groups I and II**

| Показатель | Группа I (n = 128) | Группа II (n = 67) | p |
|---|---|---|---|
| Пол: | | | |
| *мужской* | 80 | 44 | 0,871 |
| *женский* | 48 | 22 | |
| Средний возраст, лет | 44,34 ± 13,47 | 45,53 ± 10,7 | 0,981 |
| Диагноз: | | | |
| *хронический гломерулонефрит* | 75 | 35 | |
| *поликистоз* | 12 | 8 | |
| *диабетическая нефропатия* | 11 | 8 | |
| *хронический пиелонефрит* | 8 | 6 | |
| *ХТИН* | 7 | 6 | 0,645 |
| *мочекаменная болезнь* | 3 | 0 | |
| *аномалия развития* | 7 | 4 | |
| *геморрагический васкулит* | 2 | 0 | |
| *гипертонический нефроангиосклероз* | 2 | 0 | |
| | 1 | 0 | |
| Диурез: | | | |
| *сохранный* | 83 | 52 | 0,798 |
| *олигоанурия* | 45 | 15 | |
| Диализ: | | | |
| *гемодиализ* | 98 | 59 | 0,674 |
| *перитонеальный диализ* | 22 | 8 | |
| *додиализный больной* | 8 | 2 | |
| Трансплантация в анамнезе: | | | |
| *I трансплантация* | 109 | 64 | 0,791 |
| *II трансплантация* | 19 | 3 | |
| *III трансплантация* | 0 | 0 | |
| Повышение предсуществующих антител: | | | |
| *I класса* | 8 | 4 | 0,77 |
| *II класса* | 9 | 7 | |
| Медиана индекса массы тела реципиентов, кг/м$^2$ | 24,26 | 25,66 | 0,453 |
| Тип донора: | | | |
| *DBD стандартный* | 83 | 35 | 0,56 |
| *DBD с расширенными критериями* | 44 | 26 | |
| *DCD* | 1 | 6 | ***0,007** |
| Медиана возраста доноров, лет | 42,3 | 49,6 | ***0,042** |
| Медиана индекса массы тела доноров, кг/м$^2$ | 24,7 | 26,9 | 0,85 |
| Медиана уровня креатинина доноров, мкмоль/л | 88,2 | 89,9 | 0,873 |
| Медиана времени нахождения донора в стационаре, ч | 47 | 45 | 0,76 |
| Вазопрессорная поддержка доноров: | | | |
| *отсутствовала* | 19 | 11 | 0,59 |
| *присутствовала* | 109 | 56 | |
| Среднее общее время холодовой консервации (статическая + оксигенированная перфузия), мин | 661,45 ± 159,4 | 649 ± 123,8 | 0,341 |
| Среднее время машинной холодовой гипотермической перфузии, мин | 0 | 214,7 ± 49,1 | ***<0,001** |
| Медиана времени вторичной тепловой ишемии, мин | 43 | 40 | 0,74 |
| Среднее время операции, мин | 239,2 ± 51,4 | 219,3 ± 45,3 | 0,125 |
| Средний объем кровопотери, мл | 134,3 ± 82,9 | 117,9 ± 74,1 | 0,229 |
| Медиана интраоперационного индекса резистентности | 0,72 | 0,73 | 0,94 |

Чем больше донор-ассоциированных факторов риска развития ОФПТ, тем большее внимание необходимо уделять коррекции периоперационных факторов риска.

По нашему мнению, коррекцию потенциально-модифицируемых факторов риска необходимо проводить на всех вышеперечисленных этапах – консервации, операции и в раннем послеоперационном периоде, так как можно профилактировать разрушение митохондрий клеток почечного трансплантата при помощи использования машинной оксигенированной холодовой перфузии, но вызвать выраженное ишемически-реперфузионное повреждение за счет пролонгации вторичной тепловой ишемии с развитием высокого сосудистого сопротивления с ухудшением перфузии коры почечного трансплантата. С другой стороны, небольшое время вторичной тепловой ишемии, идеально подобранная стартовая доза ингибиторов кальциневрина не в состоянии профилактировать развитие тяжелого ишемически-реперфузионного повреждения во время длительной статической холодовой консервации с гибелью клеточных органелл.

Наши клинические данные демонстрируют преимущества комплексного подхода к профилактике развития отсроченной функции почечного трансплантата, который заключается в применении машинной оксигенированной холодовой перфузии при использовании доноров с расширенными критериями, применении устройства для элиминации вторичной тепловой ишемии, персонализированном подходе к назначению стартовой дозы ингибитора кальциневрина, применении алпростадила при высоком сосудистом сопротивлении в артериях почечного трансплантата. Отмечено достоверное снижение частоты развития отсроченной функции почечного трансплантата (p = 0,034) и медианы длительности ОФПТ (p = 0,012) по сравнению с контрольной группой, это привело к снижению средней длительности госпитализации (p = 0,043).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанный в Боткинской больнице научно-обоснованный и внедренный в клиническую практику комплекс профилактических мер отсроченной функции почечного трансплантата позволяет существенно снизить бремя модифицируемых факторов риска данного осложнения и тем самым значимо улучшить результаты лечения реципиентов почечного трансплантата.

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Johansen KL, Chertow GM, Foley RN, Gilbertson DT, Herzog CA, Ishani A.* US Renal Data System 2020 Annual Data Report: Epidemiology of Kidney Disease in the United States. Am J Kidney Dis. 2021; 77 (4): A7–A8. PMID: 33752804. https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2021.01.002.

Таблица 2

**Сравнительный анализ результатов лечения пациентов I и II групп до и после псевдорандомизации**

**Comparative analysis of treatment outcomes in groups I and II before and after pseudorandomization**

| Показатель | До псевдорандомизации | | | После псевдорандомизации | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Группа I (n = 128) | Группа II (n = 67) | p | Группа I (n = 44) | Группа II (n = 44) | p |
| Медиана возраста доноров, лет | 42,3 | 49,6 | ***0,042** | 46,7 | 47,1 | 0,732 |
| Доля асистолических доноров | 1/128 (0,8%) | 6/67 (9%) | ***<0,001** | 1/44 (2%) | 3/44 (7%) | 0,612 |
| Частота отсроченной функции | 37/128 (28,9%) | 15/67 (22,4%) | 0,609 | 13/44 (29,5%) | 5/44 (11,4%) | ***0,034** |
| Медиана длительности отсроченной функции, сут | 13 | 6 | ***0,029** | 15 | 5 | ***0,012** |
| Средняя длительность госпитализации, к/д | 16,21 ± 8,4 | 15,37 ± 4,2 | 0,312 | 19,1 ± 4,2 | 13,9 ± 3,4 | ***0,043** |
| Частота развития всех осложнений | 22/128 (22%) | 6/67 (8,9%) | 0,134 | 12/44 (27,3%) | 3/44 (6,8%) | 0,27 |
| Частота развития острого отторжения трансплантата | 0 | 1/67 (1,4%) | 0,89 | 0 | 0 | 1 |
| Госпитальная летальность | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |

2. *Минина МГ, Игнатов НА, Трухманов РБ.* Математический анализ потребности и доступности донорских почек для трансплантации. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2018; 19 (4): 27–33. *Minina MG, Ignatov NA, Trukhmanov RB*. Mathematical analysis of the need and availability of donor kidneys for transplantation. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2018; 19 (4): 27–33.
3. *Пинчук АВ, Виноградов ВЛ, Минина МГ*. Этические аспекты концепции смерти мозга. *Трансплантология.* 2013; 2: 28–33. *Pinchuk AV, Vinogradov VL, Minina MG*. Ethical aspects of the concept of brain death. *Transplantologiya. The Russian Journal of Transplantation*. 2013; 2: 28–33.
4. *Минина МГ*. Причины неэффективного развития органного донорства. *Трансплантология*. 2011; 1: 71–75. *Minina MG.* Reasons for the ineffective development of organ donation. *Transplantologiya. The Russian Journal of Transplantation*. 2011; 1: 71–75. https://doi.org/10.23873/2074-0506-2011-0-1-71-74.
5. *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. https://doi.org/10.15825/1995-1191-2020-2-8-34.
6. *Андрусев АМ, Томилина НА, Перегудова НГ*. Заместительная почечная терапия хронической болезни почек 5-й стадии в Российской Федерации 2015–2109 гг. Отчет по данным Общероссийского регистра заместительной почечной терапии Российского диализного общества. *Нефрология и диализ*. 2021; 23 (3): 255–329. *Andrusev AM, Tomilina NA, Peregudova NG*. Kidney replacement therapy for end stage kidney disease in russian federation, 2015–2019. Russian national kidney replacement therapy registry report of russian public organization of nephrologists Russian Dialysis Society. *Nephrology and dialysis.* 2021; 23 (3): 255–329.
7. *Нестеренко ИВ, Ватазин АВ, Филипцев ПЯ и др.* Морфологическая оценка почечных трансплантатов, полученных от маргинальных доноров. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2008; 1: 65–68. *Nesterenko IM, Vatazin AV, Filiptsev PYa et al*. Morphological evaluation of renal transplants obtained from marginal donors. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2008; 1: 65–68.
8. *Шабунин АВ, Дроздов ПА, Нестеренко ИВ, Макеев ДА, Журавель ОС, Астапович СА*. Факторы риска отсроченной функции почечного трансплантата от посмертного донора. *Трансплантология.* 2022; 14 (3): 265–277. *Shabunin AV, Drozdov PA, Nesterenko IV, Makeev DA, Zhuravel OS, Astapovich SA*. Risk factors for delayed kidney graft function from a deseased donor. *Transplantologiya. The Russian Journal of Transplantation.* 2022; 14 (3): 265–277. https://doi.org/10.23873/2074-0506-2022-14-3-265-277.
9. *Шабунин АВ, Минина МГ, Дроздов ПА, Нестеренко ИВ, Макеев ДА, Журавель ОС и др*. Первый опыт применения машинной холодовой оксигенированной перфузии почечного трансплантата от доноров с расширенными критериями. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2022; 24 (1): 143–150. *Shabunin AV, Minina MG, Drozdov PV, Nesterenko IV, Makeev DA, Zhuravel OS et al*. Early experiments with hypothermic oxygenated machine perfusion of kidney grafts from extended criteria donors. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2022; 24 (1): 143–150. https://doi.org/10.15825/1995-1191-2022-1-143-150.
10. *Дроздов ПА, Шабунин АВ*. Способ гипотермической оксигенированной перфузии в трансплантации печени и почки. Патент на изобретение № 2773291. *Drozdov PA, Shabunin AV.* Sposob gipotermicheskoy oksigenirovannoy perfuzii v transplantatsii pecheni i pochki. Patent na izobretenie № 2773291.
11. *Шабунин АВ, Дроздов ПА, Нестеренко ИВ, Макеев ДА, Астапович СА*. Устройство для элиминации вторичной тепловой ишемии при трансплантации почки. Патент на изобретение № 2783671. *Shabunin AV, Drozdov PA, Nesterenko IV, Makeev DA, Astapovich SA.* Ustroystvo dlya eliminatsii vtorichnoy teplovoy ishemii pri transplantatsii pochki. Patent na izobretenie № 2783671.
12. *Дроздов ПА, Нестеренко ИВ, Макеев ДА, Журавель ОС, Астапович СА, Соломатин ДА, Лиджиева ЭА*. Влияние алпростадила на динамику индекса резистентности кровотока и функцию почечного трансплантата в раннем послеоперационном периоде. *Трансплантология*. 2022; 14 (4): 452–461. *Drozdov PA, Nesterenko IV, Makeev DA, Zhuravel OS, Astapovich SA, Solomatin DA, Lidzhieva EA*. Influence of alprostadil on the dynamics of blood flow resistance index and renal graft function in the early postoperative period. *Transplantologiya. The Russian Journal of Transplantation*. 2022; 14 (4): 452–461. https://doi.org/10.23873/2074-0506-2022-14-4-452-461.
13. *Шабунин АВ, Дроздов ПА, Макеев ДА, Нестеренко ИВ, Журавель ОС, Карапетян ЛР и др*. Персонализированный протокол назначения пролонгированной формы такролимуса реципиентам почечного трансплантата в раннем послеоперационном периоде. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2023; 25 (1): 52–61. *Shabunin AV, Drozdov PA, Makeev DA, Nesterenko IV, Zhuravel OS, Karapetyan LR et al*. Personalized dosing protocol for extended-release tacrolimus in kidney transplant recipients in the early postoperative period. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2023; 25 (1): 52–61. (In Russ.). https://doi.org/10.15825/1995-1191-2023-1-52-61.

*Статья поступила в редакцию 13.04.2023 г.*
*The article was submitted to the journal on 13.04.2023*

DOI: 10.15825/1995-1191-2023-2-15-25

# ВЫБОР МЕТОДА ЛЕЧЕНИЯ СИМПТОМАТИЧЕСКОЙ ИНФРАВЕЗИКАЛЬНОЙ ОБСТРУКЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С ДОБРОКАЧЕСТВЕННОЙ ГИПЕРПЛАЗИЕЙ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, ПЕРЕНЕСШИХ ТРАНСПЛАНТАЦИЮ ПОЧКИ

*С.В. Попов[1], Р.Г. Гусейнов[1, 3], Д.А. Сайдулаев[2], С.В. Садовников[2], Ю.В. Кисиль[1], К.В. Сивак[1], Н.С. Буненков[1, 4, 5], В.В. Перепелица[1], А.С. Улитина[1, 4], Т.А. Лелявина[5]*

[1] СПб ГБУЗ «Клиническая больница Святителя Луки», Санкт-Петербург, Российская Федерация
[2] ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация
[3] Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Российская Федерация
[4] ФБГОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Российская Федерация
[5] ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Статья посвящена сравнительной оценке различных методов лечения симптоматической инфравезикальной обструкции (ИВО) у пациентов с доброкачественной гиперплазией предстательной железы (ДГПЖ), перенесших трансплантацию почки (ТП).

*Ключевые слова: инфравезикальная обструкция, доброкачественная гиперплазия предстательной железы, трансплантация почки.*

# CHOICE OF TREATMENT METHOD FOR SYMPTOMATIC BLADDER OUTLET OBSTRUCTION IN PATIENTS WITH BENIGN PROSTATIC HYPERPLASIA AFTER KIDNEY TRANSPLANTATION

*S.V. Popov[1], R.G. Huseynov[1, 3], D.A. Saydulaev[2], S.V. Sadovnikov[2], Yu.V. Kisil[1], K.V. Sivak[1], N.S. Bunenkov[1, 4, 5], V.V. Perepelitsa[1], A.S. Ulitina[1, 4], T.A. Lelyavina[5]*

[1] St. Luke's Clinical Hospital, St. Petersburg, Russian Federation
[2] Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation
[3] St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation
[4] Pavlov University, St. Petersburg, Russian Federation
[5] Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russian Federation

The paper presents a comparative assessment of different methods of treating symptomatic bladder outlet obstruction (BOO) in patients with benign prostatic hyperplasia (BPH) who underwent kidney transplantation (KT).

*Keywords: bladder outlet obstruction, benign prostatic hyperplasia, kidney transplantation.*

## ВВЕДЕНИЕ

91 год назад, 3 апреля 1932 года отечественным хирургом Юрием Юрьевичем Вороным была выполнена первая в мире операция по пересадке почки. За прошедший с этого дня период в области трансплантации почек в нашей стране и во всем мире произошел существенный прорыв [1–3]. Трансплантация почки является «золотым стандартом» в лечении больных хронической почечной недостаточностью (ХПН) [3].

**Для корреспонденции:** Лелявина Татьяна Александровна. Адрес: 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2. Тел. (981) 908-90-18. E-mail: tatianalelyavina@mail.ru

**Corresponding author:** Tatiana Lelyavina. Address: 2, Akkuratova str., St. Petersburg, 197341, Russian Federation. Phone: (981) 908-90-18. E-mail: tatianalelyavina@mail.ru

В 2018 году во всем мире было выполнено более 95 000 ТП [1]. В Российской Федерации количество операций по пересадке почки увеличивается с каждым годом [2].

В раннем и позднем периодах после трансплантации почек велика вероятность возникновения различных осложнений [4–8]. Урологические осложнения у реципиентов пересаженной почки, частота которых составляет 3–14%, обусловливают увеличение продолжительности госпитализации, нарушение функции трансплантата и рост летальности [5–10]. К одним из осложнений относится инфравезикальная обструкция на фоне ДГПЖ [5, 6, 8, 11].

В то же время распространенность инфравезикальной обструкции, возникшая на фоне ДГПЖ в послеоперационном периоде, с каждым годом растет, т. к. увеличивается возраст реципиентов [4–8, 11, 12]. Урологические проблемы у реципиентов пересаженной почки ассоциированы со снижением выживаемости трансплантата и являются причиной увеличения заболеваемости и смертности [13–17].

Возраст реципиентов почечного трансплантата увеличивается с каждым годом и в среднем превышает 55 лет [14]; при этом необходимо учитывать, что 50–70% мужчин старше 50 лет отмечают симптомы нижних мочевых путей (СНМП), связанные с ДГПЖ, к 80 годам встречаемость СНМП у мужчин достигает 80% [17].

В дотрансплантационном периоде на фоне олигурии, сопровождающей хроническую болезнь почек (ХБП), симптомы хронической задержки мочи отходят на второй план и не беспокоят пациента. Больной может не предъявлять характерных жалоб. Тогда как после успешно выполненной операции по пересадке почки проявления инфравезикальной обструкции на фоне ДГПЖ нарастают и значительно ухудшают качество жизни (КЖ) пациентов.

В последние годы были достигнуты значительные успехи в лечении урологических осложнений, существенно благодаря достижениям в терапии [6–16, 18–21]. Сравнительный анализ доступности и эффективности различных методов лечения инфравезикальной обструкции на фоне ДГПЖ у реципиентов почечного трансплантата представлен в настоящем обзоре.

## МЕТОДЫ ЛЕЧЕНИЯ СИМПТОМАТИЧЕСКОЙ ИНФРАВЕЗИКАЛЬНОЙ ОБСТРУКЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С ДОБРОКАЧЕСТВЕННОЙ ГИПЕРПЛАЗИЕЙ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, ПЕРЕНЕСШИХ ТРАНСПЛАНТАЦИЮ ПОЧКИ

Лечение инфравезикальной обструкции у реципиентов пересаженной почки может быть терапевтическим, хирургическим и комбинированным [18, 19].

Необходимо, чтобы вышеперечисленные подходы осуществлялись персонализированно после анализа сопутствующей патологии, возраста больного, размера предстательной железы (ПЖ) и т. д. [20–27]. После тщательного обследования определяют тактику ведения больного: динамическое наблюдение, медикаментозная терапия или хирургическое лечение [20–26]. При неэффективности консервативных подходов к терапии ИВО показано оперативное лечение [20–27].

### Медикаментозная терапия симптоматической инфравезикальной обструкции у пациентов с доброкачественной гиперплазией предстательной железы, перенесших трансплантацию почки

Учитывая прогрессирующий характер заболевания, медикаментозную терапию ДГПЖ проводят длительно, у некоторых больных – в течение всей жизни. При лечении ДГПЖ у всех больных используется несколько видов лекарственных средств, однако базовую терапию составляют три группы препаратов: альфа1-адреноблокаторы (α1-АБ), ингибиторы 5-альфаредуктазы (и5-αР), ингибиторы фосфодиэстеразы 5-го типа (иФДЭ5) [20–26, 28–31].

В общей популяции медикаментозное лечение СНМП, связанных с гиперплазией предстательной железы у реципиентов пересаженной почки, в большинстве случаев исходно включает альфа-блокаторы и финастерид [31]. Медикаментозная терапия α1-адреноблокаторами может быть использована в качестве первого этапа лечения. Антагонисты альфа1-адренорецепторов являются препаратами первой линии и применяются при умеренных и выраженных синдромах нижних мочевыводящих путей. Действие этих лекарств начинается через 48 часов после приема [28, 30].

В настоящее время в клинической практике используются пять препаратов данной группы: альфузозин, доксазозин, силодозин, тамсулозин, теразозин [28, 30, 32–34]. Отличия между перечисленными препаратами заключаются в их переносимости, которая обусловлена фармакодинамикой и фармакокинетикой. Альфа1-адреноблокаторы эффективны в коррекции симптомов СНМП, однако не снижают размер предстательной железы и не предохраняют от развития острой задержки мочи в долгосрочной перспективе. Самым часто принимаемым альфа1-адреноблокатором в мире является тамсулозин [28, 33].

Несколько рандомизированных клинических плацебо-контролируемых исследований (РКИ) – три РКИ 3-й фазы и два РКИ 4-й фазы – были выполнены с целью изучения эффективности альфа1-адренобло-

каторов в подгруппе пациентов с тяжелой ИВО [28, 30, 32, 33].

Для оценки тяжести заболевания учитывали наличие двух или более из следующих критериев: степень заболевания предстательной железы в баллах (IPSS), уровень качества жизни (QoL), максимальная скорость мочеиспускания (Qmax) – <5 мл/с или остаточный объем мочевого пузыря – ≥100 мл, объем простаты – ≥50 мл [30]. Основной конечной точкой в исследовании была динамика показателя IPSS относительно исходного уровня.

Сравнение силодозина и плацебо среди пациентов с тяжелой формой СНМП выявило статистически значимые различия в пользу группы активного лечения по сравнению с группой плацебо с точки зрения улучшения показателей QoL, IPSS, баллов и $Q_{max}$. 53% больных с выраженными СНМП и исходным общим баллом IPSS ≥20, включенных в фазу 3 плацебо-контролируемых РКИ, показали улучшение IPSS после лечения на 8–19 баллов, 10,2% улучшили балл IPSS на 0–7 баллов, 36,8% не показали значительного улучшения по сравнению с исходным уровнем. Соответствующие показатели для пациентов, получавших плацебо, составили 36,6; 4,8 и 58,6%. Доля больных, получавших силодозин, которые сообщили об улучшении (от 5–6 до 0–4), отсутствии эффекта и ухудшении (от 0–4 до 5–6) показателей QoL составила 44,2; 54,7 и 1,1% соответственно, а те же показатели среди пациентов, получавших плацебо, составили 26,4; 70,6 и 3,0% (p = 0,0009) [30].

Таким образом, монотерапия силодозином обеспечивает статистически значимые клинические улучшения в группе пациентов с тяжелой формой ИВО. Эти результаты соотносятся с данными, полученными при исследовании пациентов, получавших тамсулозин или альфузозин, и подтверждают благоприятный фармакодинамический эффект препаратов данного класса [30, 32]. При этом отмечено, что показатели IPSS у больных с выраженными СНМП на фоне терапии тамсулозином в дозировке 0,4 мг/сут в среднем улучшились на 5,8–14,3 балла [30].

α1-АБ более эффективны при тяжелых, чем при незначительных проявлениях СНМП [31]. Debruyne et al. [30] выявили средние улучшения показателей IPSS, оценивающих наполнение и степень опорожнения мочевого пузыря, на 1,9 и 3,9 балла соответственно среди пациентов с тяжелой формой ИВО, получавших тамсулозин в дозе 0,4 мг/сут. Данные результаты подтверждают предположение, что действие α1-АБ в основном направлено на уменьшение обструкции. Также Debruyne et al. [30] показали улучшение QoL после 12 мес. лечения тамсулозином 0,4 мг/сут. Улучшение $Q_{max}$ было клинически не значимым. Этот вывод согласуется с опубликованными ранее данными, демонстрирующими недостоверные корреляции улучшения показателей IPSS и изменения результатов $Q_{max}$ на фоне терапии α1-АБ [32].

Ограничением вышеуказанных РКИ [28, 30, 32, 33] является неполнота представленных данных по объему простаты, остаточному объему мочи, нежелательных явлениях (НЯ) и отделенных последствиях и исходах. Вследствие этого полученные результаты необходимо интерпретировать с осторожностью, так как выраженные симптомы ИВО могут быть связаны с поздними стадиями ремоделирования стенки мочевого пузыря [34].

Тем не менее можно сделать вывод, что ежедневный прием α1-АБ обеспечивает значительное улучшение качества жизни на фоне уменьшения выраженности ИВО, в особенности у больных с тяжелыми СНМП [23, 33]. Препараты данной группы обеспечивают снижение балла IPSS на 30–40%, сохраняют эффективность на протяжении нескольких лет [35, 36]. Нежелательные явления, связанные с применением альфа1-адреноблокаторов, включают аномальную эякуляцию из-за снижения или отсутствия семенной жидкости, головокружение и постуральную гипотензию [35, 36].

При умеренных и выраженных СНМП, объеме простаты, превышающем 40 $см^3$, назначают ингибиторы 5-альфа-редуктазы – дутастерид и финастерид, применение которых связано со снижением риска прогрессирования ДГПЖ на фоне уменьшения частоты эпизодов острой задержки мочи [36–39].

Ингибиторы 5-альфа-редуктазы способствуют уменьшению IPSS на 15–30%, снижению объема предстательной железы втрое от исходного, повышению $Q_{max}$ на 1,5–2 мл/с, снижению риска развития острой задержки мочи и уменьшению частоты выполнения оперативных вмешательств в отдаленной (более 1 года) перспективе. Эффект от препаратов данной группы наступает медленнее, чем от α1-АБ, и более заметен при больших объемах предстательной железы. Нежелательные явления, наблюдающиеся на фоне приема ингибиторов 5альфа-редуктазы, включают: эректильную дисфункцию, снижение либидо и реже недостаточность эякуляции, ретроградную эякуляцию и гинекомастию [23].

На фоне умеренных и выраженных СНМП могут применяться антагонисты мускариновых рецепторов, хотя назначение препаратов данной группы связаны с увеличением частоты эпизодов острой задержки мочи [20, 22–24].

При прогрессировании ДГПЖ, большом объеме ПЖ, большом объеме остаточной мочи, низком показателе $Q_{max}$ и возрасте более 62 лет необходимо рассмотреть возможность оперативного лечения [40].

## Немедикаментозные методы лечения симптоматической инфравезикальной обструкции у пациентов с доброкачественной гиперплазией предстательной железы, перенесших трансплантацию почки

До 1970-х годов единственным доступным вариантом терапии и облегчения СНМП была открытая аденомэктомия (при очень больших размерах предстательной железы) или эндоскопическая хирургия в форме трансуретральной резекции с целью удаления или резекции ткани предстательной железы [41].

В общей популяции хирургическим операциям, выполняемым при инфравезикальной обструкции у пациентов с ДГПЖ, перенесших трансплантацию почки, относятся: минимально инвазивные хирургические методы лечения – лазерные технологии, методы вапоризации, моно- и биполярная резекции, открытая, лапароскопическая и роботическая аденомэктомия и т. д. [18, 19, 21, 42, 43].

Трансуретральная резекция простаты (ТУР) является одним из методов хирургического лечения ИВО на фоне ДГПЖ у реципиентов пересаженной почки [44–47]. На фоне высокой эффективности ТУР в купировании СНМП отмечены отдаленные неблагоприятные последствия или нежелательные явления, такие как эректильная и эякуляторная дисфункция, риск развития недержания мочи и другие осложнения [44–48].

В качестве альтернативы ТУР появились минимально инвазивные хирургические методы лечения, успешно снижающие симптомы ИВО при минимизации побочных эффектов и осложнений, уменьшающие длительность пребывания в стационаре [43]. К ним относятся: трансуретральная электровапоризация (методика Rezūm), трансуретральная энуклеация, лазерная энуклеация, уролифтинг, временное имплантируемое нитиноловое устройство [43].

При *электровапоризации* осуществляется выпаривание ткани ПЖ с помощью токов высокой частоты и мощности с коагуляцией подлежащих слоев, при этом отсутствует капиллярное кровотечение и не происходит коагуляции крупных сосудов и венозных синусов [49, 50]. Принцип действия *биполярной вапорезекции* заключается в одновременной биполярной резекции и вапоризации [49, 50].

Термальная терапия водяным паром Rezūm (Rezūm System, Boston Scientific, Marlborough, Massachusetts) – это инновационный минимально инвазивный хирургический метод лечения, одобренный Управлением по контролю за продуктами и лекарствами США (FDA) в 2015 году для уменьшения объема тканей предстательной железы, связанных с ДГПЖ, включая гиперплазию центральной зоны и/или средней доли [49–50]. При этом накопленная тепловая энергия (540 калорий/мл $H_2O$) передается в виде пара к ткани предстательной железы. Тепловые эффекты не возникают за пределами целевой зоны обработки [49, 50], таким образом, устраняются ограничения проводящей теплопередачи, наблюдающиеся при трансуретральной игольчатой абляции простаты (ТИАП) и трансуретральной микроволновой термотерапии (ТМТ) [51–54].

Наиболее уникальной особенностью данной методики является возможность воздействия на боковые и центральные зоны ПЖ. Сложные анатомические варианты, такие как внутрипузырная протрузия предстательной железы, можно лечить без воздействия на половую функцию [53]. В течение 5 лет после одобрения FDA данная методика применяется по всей территории США и Европы [49–58]. По данным многоцентрового, проспективного, слепого, контролируемого исследования тепловой терапии водяным паром (Rezūm II Study, NCT01912339), широкое применение данной методики объясняется устойчивым облегчением СНМП, улучшением качества жизни и долгосрочностью ответа на лечение [49–58]. Результаты РКИ (Rezūm II Study, NCT01912339) показали, что тепловая терапия ДГПЖ имеет клинически значимые результаты и доказанный долгосрочный эффект [49, 51–53]. Через 5 лет после выполнения процедуры выявлено улучшение IPSS на 30% и отсутствие рецидивов [49–57]. Несмотря на то что большинство пациентов имели выраженные проявления СНМП при включении в исследование (72,5% с IPSS 19–35), данные показатели улучшились по сравнению с исходными через 3 месяца после процедуры однократного лечения тепловой терапией водяным паром, без негативного влияния на эректильную функцию [49–58].

Другие методы минимального хирургического воздействия, такие как простатическая уретральная подтяжка или другие имплантируемые устройства, обеспечивают облегчение симптомов без удаления ткани [59–61]. Тем не менее для достижения стойкого снижения выраженности СНМП с помощью операции подтяжки уретры требуются повторные вмешательства [60, 61].

Пациенты общей популяции, которые могут быть кандидатами на тепловую терапию водяным паром, часто направляются на более инвазивные хирургические методы, такие как ТУР, гольмиевая лазерная энуклеация простаты или другие методы лечения, при которых существует высокий риск кровотечения, более длительное время восстановления, снижение показателей эректильной функции и другие нежелательные побочные эффекты [62–65].

В 2018 году было выполнено исследование долгосрочных результатов лечения симптомов нижних мочевыводящих путей, вызванных доброкачественной гиперплазией предстательной железы, с помощью

однократной процедуры термотерапии водяным паром Rezūm® System с ежедневной медикаментозной терапией: доксазозин и/или финастерид [63]. Тепловая терапия привела к улучшению баллов IPSS на 50% в течение 36 месяцев ($p < 0,0001$). Улучшение симптомов было более выраженным, чем при применении одного из препаратов, но сходным с таковым при применении комбинированных препаратов ($p \leq 0,02$ и 0,73 соответственно). $Q_{max}$ улучшилась на 4–5 мл в секунду после термальной терапии и доксазозина, в то время как термальная терапия превосходила финастерид и комбинированные препараты в течение 24 и 12 месяцев.

Таким образом, однократная процедура теплотерапии водяным паром обеспечила эффективное и стойкое улучшение оценки симптомов с более низкой наблюдаемой скоростью клинического прогрессирования по сравнению с ежедневным длительным использованием фармацевтических препаратов [63].

На сегодняшний день широко применяются такие высокотехнологичные методы коррекции СНМП, как трансуретральная энуклеация ПЖ с помощью гольмиевого или тулиевого лазера [66–69].

При *лазернаой энуклеации* иссекают доли предстательной железы вплоть до ее хирургической капсулы, после этого энуклеированные ткани смещают в мочевой пузырь и удаляют [66–69]. *Гольмиевую лазерную энуклеацию (ГЛЭ)* применяют при умеренных и выраженных СНМП на фоне объема простаты, превышающего 80 см$^3$ [67, 68], при этом снижается риск развития кровотечений на фоне антикоагулянтной терапии.

В 2020 году были опубликованы данные многоцентрового ретроспективного пилотного сравнительного исследования эффективности, безопасности и осложнений, зарегистрированных в течение 1 года, после следующих вмешательств: энуклеации простаты гольмиевым лазером, фотоселективной вапоризации простаты зеленым светом (ФВЗС) и трансуретральной резекции предстательной железы после трансплантации почки [70].

С января 2013-го по апрель 2018 года было выполнено 60 эндоскопических хирургических вмешательств по поводу аденомы простаты у реципиентов ТП: 17 больных в группе ГЛЭ, 9 – в группе ФВЗС и 34 – в группе ТУР. Возраст, индекс массы тела, исходное содержание креатинина в сыворотке крови, исходный показатель IPSS, предоперационные значения $Q_{max}$ и простатспецифического антигена, история эпизодов острой задержки мочи, инфекции мочевыводящих путей и наличия постоянного уретрального катетера были сопоставимы во всех группах исследования. Исходный объем предстательной железы в среднем был выше в группе ГЛЭ. Частота общих послеоперационных осложнений была статистически выше в группе ГЛЭ – 11/17 [64,7%] против 1/9 [11,1%] в группе ФВЗС и 12/34 [35,3%] в группе ТУР, $p = 0,02$. Показатели $Q_{max}$ после вмешательств сопоставимо улучшились у больных обеих групп [70].

Учитывая вышеизложенные данные, можно сделать вывод, что частота послеоперационных осложнений выше при проведении процедуры ГЛЭ по сравнению с ФВЗС в группе больных, перенесших ТП. Годичная эффективность данных воздействий была сопоставима [70].

Через год были опубликованы данные исследования, целью которого было выполнить сравнительный анализ эффективности и безопасности термической терапии водяным паром с использованием системы Rezūm™ и подтяжки уретры предстательной железы (ПУП) с использованием системы Urolift™ у мужчин с симптомами нижних мочевыводящих путей вследствие ДГПЖ [71].

С декабря 2017-го по ноябрь 2019 года были ретроспективно оценены данные пациентов общей популяции, перенесших процедуры Rezūm™ и Urolift™ в двух урологических центрах. В исследование включали больных с размером предстательной железы менее 80 мл.

В общей сложности 61 (52,1%) и 56 (47,9%) пациентам были проведены процедуры Rezum™ и Urolift™ соответственно. Через 12 месяцев в группе Rezum™ наблюдалось более выраженное улучшение IPSS, медиана 4 [IQR 3–5], чем в группе Urolift™, медиана 8 [IQR 7–12], $p = 0,08$. Улучшение качества жизни через 12 мес. было сопоставимым в двух группах, $p = 0,43$. Частота повторных вмешательств составила 25% в группе Urolift™ и 8,3% в группе Rezum™, $p = 0,24$. Показатели эрекции и эякуляторной функции существенно не изменились ни в одной из групп лечения.

Результаты показали, что как Rezum™, так и Urolift™ обеспечивают клинически значимое улучшение симптомов и качества жизни, хотя процедура Rezum™ показала большую эффективность в ближайшем и отдаленном послеоперационном периоде [71].

*Трансуретральная резекция предстательной железы* является «золотым стандартом» лечения ДГПЖ при объеме простаты 30–80 см$^3$ с умеренными или выраженными СНМП [18–21]. *Трансуретральная резекция простаты с использованием монополярного электрохирургического блока* (МТУР) является хорошо зарекомендовавшим себя вариантом хирургического лечения обструкции выхода из мочевого пузыря вследствие доброкачественного увеличения простаты, но данное вмешательство продолжает ассоциироваться со значительным риском послеоперационных осложнений [72]. В свете этого были разработаны новые технологии с целью снижения риска осложнений. В отличие от монополярной *биполярная трансуретральная резекция простаты* (БТУР) использует

энергию, заключенную между активным электродом (резекционной петлей) и возвратным электродом, расположенным на наконечнике резектоскопа или оболочке, и более низкое напряжение, теоретически устраняя риск синдрома ТУР и уменьшая тепловое повреждение окружающих тканей [72].

Несмотря на уже существующие исследования эффективности и безопасности МТУР и БТУР за последнее десятилетие, остается неопределенность в отношении различий между этими двумя хирургическими методами. Систематические обзоры, опубликованные до 2020 года, которые сравнивали эти хирургические методы [73–78], не включали значительное число недавно опубликованных рандомизированных контролируемых испытаний и не всегда придерживались строгих методологических стандартов.

С целью сравнения эффектов биполярной и монополярной ТУР зарубежными исследователями [70] был выполнен комплексный систематический поиск литературных данных через электронные базы: CENTRAL, MEDLINE, Embase, ClinicalTrials.gov, PubMed и ICTRP ВОЗ. Для выявления других потенциально приемлемых исследований был проведен ручной поиск тезисов докладов крупных урологических конференций и списков литературы по клиническим испытаниям, систематическим обзорам и отчетам об оценке медицинских технологий. Были выбраны рандомизированные контролируемые исследования, в которых сравнивались монополярная и биполярная ТУРП у мужчин (>18 лет) для лечения СНМП, вторичных по отношению к ДГПЖ.

Всего было включено 59 РКИ с 8924 участниками. Средний возраст включенных в исследование участников составил 67 лет, объем предстательной железы в среднем составил 39–83 см$^3$.

По результатам данного обзора было показано, что выполнение БТУР и МТУР в одинаковой степени купирует СНМП. БТУР в большей степени способствует уменьшению выраженности клинических проявлений синдрома ТУР и снижает потребность в послеоперационном переливании крови по сравнению с МТУР. Влияние обеих процедур на эректильную функцию было сопоставимо. Достоверность имеющихся доказательств для первичных результатов этого обзора предполагает, что нет необходимости в дальнейших РКИ, сравнивающих БТУР и МТУР [70]. Наиболее грозным осложнением после ТУР ПЖ, с частотой >7%, является кровотечение, требующее переливания крови [70].

У больных общей популяции с объемом ПЖ <30 см$^3$ показано выполнение *трансуретральной инцизии* предстательной железы (ТУИП) [79], в процессе которой осуществляется электрохирургическое рассечение ткани ПЖ с применением петли резектоскопа [79].

По данным небольшого исследования [80] ранних и отдаленных результатов трансуретральной резекции предстательной железы и трансуретральной инцизии предстательной железы, выполненных в первый месяц после ТП, в среднем через 19 дней (диапазон 8–30 дней), у пациентов с ИВО на фоне ДГПЖ, НЯ не выявлено.

В раннем послеоперационном периоде у 5 пациентов (13,1%) развилась инфекция мочевыводящих путей. Средние значения $Q_{max}$ (22,4 ± 11,1 мл/с) значительно увеличились ($p < 0,001$). По истечении срока наблюдения группы не различались по показателям $Q_{max}$ и баллам IPSS ($P = 0,89$, $P = 0,27$, $P = 0,08$ и $P = 0,27$). Среди послеоперационных осложнений частота инфекций мочевыводящих путей и ретроградной эякуляции была выше в группе ТУР, чем в группе ТУИП (12,7% против 6,2% и 68,1% против 25% соответственно), тогда как стриктуры уретры были более распространены в группе ТУИП (12,5% против 6,3%).

Таким образом, было показано, что методики ТУР и ТУИП при хирургическом лечении задержки мочи, вызванной ИВО на фоне ДГПЖ у реципиентов пересаженной почки с объемом предстательной железы менее 30 см$^3$, одинаково безопасны и эффективны [80, 81].

Как показано выше, объем предстательной железы – основной критерий выбора метода хирургического лечения ДГПЖ [49–82].

*Открытая аденомэктомия* – самый эффективный и, к сожалению, наиболее инвазивный хирургический метод коррекции ДГПЖ у пациентов с объемом ПЖ >80 см$^3$. После выполнения данного вмешательства эффект сохраняется наиболее длительно [19–21].

*Лапароскопическая аденомэктомия* – малоинвазивное хирургическое вмешательство, представляющее собой альтернативу открытой аденомэктомии у больных с объемом ПЖ, составляющим 90–100 см$^3$ и более [19–21].

*Трансуретральная игольчатая абляция предстательной железы (ТИАП)* является менее эффективной, чем трансуретральная резекция, среди больных общей популяции, ее назначают пациентам с тяжелой сопутствующей патологией, т. к. данная процедура не требует госпитализации пациента и общего обезболивания [84].

При *эмболизации простатических артерий* осуществляется окклюзия кровеносных артерий ПЖ с помощью ввода эмболов [85, 86], при этом вмешательстве более часто регистрируются эпизоды острой задержки мочи в послеоперационном периоде [87].

*Установка простатического стента* применяется у больных с противопоказаниями к оперативному вмешательству, данная процедура сопровождается временным снижением СНМП и частыми НЯ, поэтому ее применение ограничено.

*Роботическая хирургия* показала высокую эффективность на фоне значительной коррекции СНМП, исключения послеоперационных осложнений и быстрого восстановления после оперативного вмешательства [83].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Почка – самый пересаживаемый орган в мире. В ранний период после пересадки почки задержка мочи, вызванная обструкцией выходного отверстия мочевого пузыря, может непосредственно повлиять на успех трансплантации. Точная оценка и оптимальное лечение СНМП у кандидатов и реципиентов почечной трансплантации имеют решающее значение для улучшения качества жизни и сохранения функции аллотрансплантата [88–98].

СНМП следует тщательно оценить перед трансплантацией почки. Послеоперационные симптомы СНМП средней и тяжелой степени должны быть тщательно исследованы, чтобы раннее вмешательство могло предотвратить компрометацию трансплантата и связанные с этим осложнения. При наличии показаний операция по коррекции ИВО может быть выполнена на ранней стадии после трансплантации почки [99–101].

Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что многие из предложенных методов коррекции ИВО, развившейся на фоне ДГПЖ после ТП, могут предложить эффективное облегчение СНМП. Тем не менее ряд факторов может повлиять на персонализированный выбор того или иного вмешательства каждому пациенту. Данное решение зависит от характеристик пациента: возраста, сопутствующих заболеваний, выраженности СНМП, сопутствующего лечения (к примеру, продолжающаяся антикоагулянтная терапия и непредсказуемые лекарственные взаимодействия). Крайне важно соотносить желаемые результаты с возможными рисками. Необходимо принимать во внимание возможные последствия для сексуальной функции, частоту повторных операций, стоимость лечения.

Несмотря на все преимущества минимально инвазивных методов лечения обструкции, некоторые препятствия ограничивают их более широкое внедрение, первым из которых являются ограничения по оборудованию. Например, для уролифтинга необходима специальная удлиненная линза, а для Rezūm требуется специальный компьютеризированный радиочастотный парогенератор [102].

Вторым ограничением новых технологий является стоимость, которая значительно превышает 1000 евро только за оборудование, помимо требования выполнять процедуры в специально отведенных операционных условиях [102]. Как показал анализ экономической эффективности, более дешевые MITS были на 900 евро дороже, чем стоимость медикаментозной терапии в течение 2 лет [102].

По результатам анализа разрозненных литературных данных не хватает доказательств, чтобы предложить надежные рекомендации конкретной методики лечения инфравезикальной обструкции для всех пациентов с доброкачественной гиперплазией предстательной железы, перенесших трансплантацию почки. Требуются дальнейшие клинические испытания с более длительным наблюдением, сравнивающие различные вмешательства с рутинными и доказанными методами.

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Годовой отчет о трансплантологии в Европе за 2019 год. Godovoy otchet o transplantologii v Evrope za 2019 god. https://www.eurotransplant.org/wp-content/uploads/2020/06/AnnualReport-2019.pdf.
2. *Готье СВ, Хомяков СМ*. Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2018 году. XII сообщение Российского трансплантологического общества. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2019; 21 (3): 7–32. *Gautier SV, Khomyakov SM*. Donorstvo i transplantatsiya organov v Rossiyskoy Federatsii v 2018 godu. XII soobshchenie Rossiyskogo transplantologicheskogo obshchestva. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2019; 21 (3): 7–32. https://doi.org/10.15825/1995-1191-2019.
3. *Кабанова СА, Богопольский ПМ*. Пересадка почки: история, итоги и перспективы. *Трансплантология*. 2015; (2): 49–58. *Kabanova SA, Bogopol'skiy PM*. Peresadka pochki: istoriya, itogi i perspektivy. *Transplantologiya*. 2015; (2): 49–58.
4. *Султанов ПК, Хаджибаев ФА, Эргашев ДН, Исматов АА*. Анализ осложнений после трансплантации почки. *Вестник экстренной медицины*. 2021; 14 (1): 55–63. *Sultanov PK, Khadzhibaev FA, Ergashev DN, Ismatov AA*. Analiz oslozhneniy posle transplantatsii pochki. *Vestnik ekstrennoy meditsiny*. 2021; 14 (1): 55–63.
5. *Dos Santos Mantovani M, Coelho de Carvalho N, Archangelo TE, Modelli de Andrade LG, Pires Ferreira Filho S, de Souza Cavalcante R et al*. Frailty predicts surgical complications after kidney transplantation. A propensity score matched study. *PLoS One*. 2020 Feb 26; 15 (2): e0229531.
6. *Bessede T, Hammoudi Y, Bedretdinova D, Parier B, Francois H, Durrbach A, Benoit G*. Preoperative Risk Factors Associated With Urinary Complications After Kidney Transplantation. *Transplant Proc*. 2017 Nov; 49 (9): 2018–2024.
7. *Hickman LA, Sawinski D, Guzzo T, Locke JE*. Urologic malignancies in kidney transplantation. *Am J Transplant*. 2018 Jan; 18 (1): 13–22.

8. *Shimizu T, Sugihara T, Kamei J, Takeshima S, Kinoshita Y, Kubo T et al*. Predictive factors and management of urinary tract infections after kidney transplantation: a retrospective cohort study. *Clin Exp Nephrol*. 2021 Feb; 25 (2): 200–206.
9. *Thuret R, Timsit MO, Kleinclauss F.* Chronic kidney disease and kidney transplantation. *Prog Urol*. 2016 Nov; 26 (15): 882–908.
10. *Billis A, Freitas LLL, Costa LBE, Barreto IS, Botega AAR, Pereira TA, D'Ancona CA.* Lower Urinary Tract Symptoms Due to Xanthoma of the Prostate After Kidney Transplantation: A Case Report. *Transplant Proc*. 2020 Nov; 52 (9): 2736–2738.
11. *Frascà GM, Brigante F, Volpe A, Cosmai L, Gallieni M, Porta C.* Kidney transplantation in patients with previous renal cancer: a critical appraisal of current evidence and guidelines. *J Nephrol*. 2019 Feb; 32 (1): 57–64.
12. *Tan JHS, Bhatia K, Sharma V, Swamy M, van Dellen D, Dhanda R, Khambalia H.* Enhanced recovery after surgery recommendations for renal transplantation: guidelines. *Br J Surg*. 2022 Dec 13; 110 (1): 57–59.
13. *Thuret R, Kleinclauss F, Terrier N, Karam G, Timsit MO.* Challenges in renal transplantation. *Prog Urol*. 2016 Nov; 26 (15): 1001–1044.
14. *Maggiore U, Abramowicz D, Budde K.* Renal transplantation in the elderly. *Transplant Rev (Orlando)*. 2015 Oct; 29 (4): 191–192.
15. *Rodríguez Faba O, Boissier R, Budde K, Figueiredo A, Taylor CF, Hevia V et al*. European Association of Urology Guidelines on Renal Transplantation: Update 2018. *Eur Urol Focus*. 2018 Mar; 4 (2): 208–215.
16. *Cheung CY, Tang SCW.* An update on cancer after kidney transplantation. *Nephrol Dial Transplant*. 2019 Jun 1; 34 (6): 914–920.
17. *Egan KB.* The epidemiology of benign prostatic hyperplasia associated with lower urinary tractsymptoms: prevalence and incident rates. *Urol Clin North Am*. 2016; 43: 289.
18. *De Oliveira Marinho AC, Tavares-da-Silva E, Bastos CA, Roseiro A, Parada B, Retroz E et al*. Acute Urinary Retention After Kidney Transplant: Effect on Graft Function, Predictive Factors, and Treatment. *Transplant Proc*. 2021 Jul-Aug; 53 (6): 1933–1938.
19. *Sarier M, Yayar O, Yavuz A, Turgut H, Kukul E.* Update on the Management of Urological Problems Following Kidney Transplantation. *Urol Int*. 2021; 105 (7–8): 541–547.
20. *Lerner LB, McVary KT, Barry MJ, Bixler BR, Dahm P, Das AK et al*. Management of Lower Urinary Tract Symptoms Attributed to Benign Prostatic Hyperplasia: AUA GUIDELINE PART I – Initial Work-up and Medical Management. *J Urol*. 2021 Oct; 206 (4): 806–817.
21. *Lerner LB, McVary KT, Barry MJ, Bixler BR, Dahm P, Das AK et al*. Management of Lower Urinary Tract Symptoms Attributed to Benign Prostatic Hyperplasia: AUA GUIDELINE PART II – Surgical Evaluation and Treatment. *J Urol*. 2021 Oct; 206 (4): 818–826.
22. *Касян ГР, Ходырева ЛА, Дударева АА и др*. Комбинированное лечение симптомов нижних мочевых путей у мужчин. *Медицинский совет*. 2016; 5: 84–90. *Kasyan GR, Khodyreva LA, Dudareva AA i dr.* Kombinirovannoe lechenie simptomov nizhnikh mochevykh putey u muzhchin. *Meditsinskiy sovet*. 2016; 5: 84–90.
23. *Seo JH, Han JS, Lee Y, Myong JP, Ha US.* Fall risk related to subtype-specific alpha-antagonists for benign prostatic hyperplasia: a nationwide Korean population-based cohort study. *World J Urol*. 2022 Dec; 40 (12): 3043–3048.
24. *Пушкарь ДЮ, Раснер ПИ, Харчилава РР*. Российские клинические рекомендации с современными данными ведущих российских специалистов. Симптомы нижних мочевыводящих путей и доброкачественная гиперплазия предстательной железы. *Урология*. 2016; (2, прилож.): 4–19. *Pushkar' DYu, Rasner PI, Kharchilava RR.* Rossiyskie klinicheskie rekomendatsii s sovremennymi dannymi vedushchikh rossiyskikh spetsialistov. Simptomy nizhnikh mochevyvodyashchikh putey i dobrokachestvennaya giperplaziya predstatel'noy zhelezy. *Urologiya*. 2016; (2, prilozh.): 4–19.
25. *Раснер ПИ, Газимиев МА, Гаджиева ЗК и др*. Расстройства мочеиспускания у мужчин: методические рекомендации, № 6. М.: АБВ-пресс, 2017; 35. *Rasner PI, Gazimiev MA, Gadzhieva ZK i dr.* Rasstroystva mocheispuskaniya u muzhchin: metodicheskie rekomendatsii, № 6. M.: ABV-press, 2017; 35.
26. *Павлов ВН, Галимзянов ВЗ, Казихинуров АА, Пушкарев АМ, Загитов АР, Казихинурова АА, Шарипов ИР*. Симптомы нижних мочевыводящих путей и доброкачественная гиперплазия предстательной железы: учебное пособие. Уфа: БГМУ, 2018; 86. *Pavlov VN, Galimzyanov VZ, Kazikhinurov AA, Pushkarev AM, Zagitov AR, Kazikhinurova AA, Sharipov IR.* Simptomy nizhnikh mochevyvodyashchikh putey i dobrokachestvennaya giperplaziya predstatel'noy zhelezy: uchebnoe posobie. Ufa: BGMU, 2018; 86.
27. *Foster HE, Dahm P, Kohler TS et al.* Surgical management of lower urinary tract symptom sattributed to benign prostatic hyperplasia: AUA Guideline amendment 2019. *J Urol*. 2019; 202: 592.
28. *Marks LS, Gittelman MC, Hill LA, Volinn W, Hoel G*. Rapid efficacy of the highly selective α1A-adrenoceptor antagonist silodosin in men with signs and symptoms of benign prostatic hyperplasia: pooled results of 2 phase 3 studies. *J Urol*. 2013; 189 (1 Suppl): S122–S128.
29. *Homma Y, Kawabe K, Tsukamoto T et al*. Estimate criteria for diagnosis and severity in benign prostatic hyperplasia. *Int J Urol*. 1996; 3: 261–266.
30. *Debruyne F, Boyle P, Calais Da Silva F et al*. Evaluation of the clinical benefit of permixon and tamsulosin in severe BPH patients – PERMAL study subset analysis. *Eur Urol*. 2004; 45: 773–779.
31. *Razek M, Abolyosr A, Mhammed O, Fathi A, Talaat M, Hassan A*. Prospective comparison of tadalafil 5 mg alone, silodosin 8 mg alone, and the combination of both in treatment of lower urinary tract symptoms related to benign prostatic hyperplasia. *World J Urol*. 2022. Aug; 40 (8): 2063–2070.
32. *Lukacs B, Grange JC, Comet D*. One-year follow-up of 2829 patients with moderate to severe lower urinary

tract symptoms treated with alfuzosin in general practice according to IPSS and a health-related quality-of-life questionnaire. *BPM Group in General Practice Urology*. 2000; 55: 540–546.
33. *Barendrecht MM, Abrams P, Schumacher H, de a Rosette JJ, Michel MC*. Do α1-adrenoceptor antagonists improve lower urinary tract symptoms by reducing bladder outlet resistance? *Neurourol Urodyn*. 2008; 27: 226–230.
34. *Fusco F, Creta M, De Nunzio C et al*. Progressive bladder remodeling due to bladder outlet obstruction: a systematic review of morphological and molecular evidences in humans. *BMC Urol*. 2018; 18: 15.
35. *Gul ZG, Kaplan SA*. BPH: why do patients fail medical therapy? *Curr Urol Rep*. 2019; 20: 40.
36. *La Vignera S, Aversa A, Cannarella R, Condorelli RA, Duca Y, Russo GI, Calogero AE*. Pharmacological treatment of lower urinary tract symptoms in benign prostatic hyperplasia: consequences on sexual function and possible endocrine effects. *Expert Opin Pharmacother*. 2021 Feb; 22 (2): 179–189.
37. *Alcaraz A, Castro-Díaz D, Gacci M, Salonia A, Ficarra V, Carballido-Rodríguez J et al.* Efficacy and Tolerability of 6-Month Treatment with Tamsulosin Plus the Hexanic Extract of Serenoa repens versus Tamsulosin Plus 5-Alpha-Reductase Inhibitors for Moderate-to-Severe LUTS-BPH Patients: Results of a Paired Matched Clinical Study. On Behalf Of The Qualiprost Study Group. *J Clin Med*. 2022 Jun 22; 11 (13): 3615.
38. *Bauer SR, Walter LC, Ensrud KE, Suskind AM, Newman JC, Ricke WA et al*. Assessment of Frailty and Association With Progression of Benign Prostatic Hyperplasia Symptoms and Serious Adverse Events Among Men Using Drug Therapy. *JAMA Netw Open*. 2021 Nov 1; 4 (11): e2134427.
39. *Kuzmenko AV, Kuzmenko VV, Gyaurgiev TA*. Comparative analysis of the effectiveness of early and delayed initiation of combined DRUG therapy for bph. *Urologiia*. 2021 May; (2): 27–30.
40. *Gravas S, Cornu JN, Gacci M et al.* EAU guidelines on management of non-neurogenic male LUTS. Presented at 2020 EAU Annual Congress, Amsterdam, Arnhem, The Netherlands. Available at http://uroweb.org/guidelines/compilations-of-all-guidelines/.
41. *Anderson BB, Pariser JJ, Helfand BT.* Comparison of Patients Undergoing PVP Versus TURP for LUTS/BPH. *Curr Urol Rep*. 2015 Aug; 16 (8): 55.
42. *Drouin S, Defortescu G, Prudhomme T, Culty T, Verhoest G, Doerfler A et al*. Lower urinary tract symptoms and urinary incontinence in renal transplant recipients and candidates: The French guidelines from CTAFU. *Prog Urol*. 2021 Jan; 31 (1): 45–49.
43. *Checcucci E, Veccia A, De Cillis S, Piramide F, Volpi G, Amparore D et al*. New Ultra-minimally Invasive Surgical Treatment for Benign Prostatic Hyperplasia: A Systematic Review and Analysis of Comparative Outcomes. Uro-technology and SoMe Working Group of the Young Academic Urologists Working Party of the European Association of Urology and of the Lower Tract and Research Group of the European Section of Uro-technology. *Eur Urol Open Sci*. 2021 Sep 22; 33: 28–41.
44. *Righetto M, Mancini M, Modonutti D, Calpista A, Beltrami P, Dal Moro F.* Patients with renal transplant and moderate-to-severe LUTS benefit from urodynamic evaluation and early transurethral resection of the prostate. *World J Urol*. 2021 Dec; 39 (12): 4397–4404.
45. *Sarier M, Tekin S, Duman İ, Yuksel Y, Demir M, Alptekinkaya F et al*. Results of transurethral resection of the prostate in renal transplant recipients: a single center experience. *World J Urol*. 2018 Jan; 36 (1): 99–103.
46. *Rassweiler J, Teber D, Kuntz R et al.* Complications of transurethral resection of the prostate (TURP) dincidence, management, and prevention. *Eur Urol*. 2006; 50: 969.
47. *Liu Z, Li YW, Wu WR et al.* Long-term clinicale fficacy and safety profile of transurethral resection of prostate versus plasma kinetic resection of the prostate for benign prostatic hyperplasia. *Urology*. 2017; 103: 198.
48. *Friedl A, Schneeweiss J, Stangl K et al.* The adjustable transobturator male system in stress urinary incontinence after transurethral resection of the prostate. *Urology*. 2017; 109: 184.
49. Boston Scientific Corporation: Intended use. *Rezum Instruction for Use*, 10-2019; 5.
50. *Dixon CM, Rijo Cedano E, Mynderse LA et al.* Transurethral convective water vapor as atreatment for lower urinary tract symptom-atology due to benign prostatic hyperplasiausing the Rezum(R) system: evaluation of acuteablative capabilities in the human prostate. *Res Rep Urol*. 2015; 7: 13.
51. *Bouza C, Lopez T, Magro A et al.* Systematic review and meta-analysis of transurethral needle ablation in symptomatic benign prostatic hyperplasia. *BMC Urol*. 2006; 6: 14.
52. *McVary KT, Rogers T, Mahon J et al.* Is sexual function better preserved after water vapor thermal therapy or medical therapy for lower urinary tract symptoms due to benign prostatic hyperplasia? *J Sex Med*. 2018; 15: 1728.
53. National Institute for Health and Care Excellence: Rezum for treating lower urinary tractsymptoms secondary to benign prostatic hyperplasia (24 June 2020). NICE Guideline No. MTG49.
54. *Mynderse LA, Roehrborn CG, Partin AW et al.* Results of a 5-year multicenter trial of a new generation cooled high energy transurethral microwave thermal therapy catheter for benign prostatic hyperplasia. *J Urol*. 2011; 185: 1804.
55. *Gravas S, Cornu JN, Gacci M et al.* EAU Guidelines on the Assessment of Non-neurogenic Male Lower Urinary Tract Symptoms including Benign Prostatic Obstruction. Arnhem, The Netherlands: EAU Guidelines Office. 2020.
56. *McVary KT, Rogers T, Roehrborn CG.* Rezum water vapor thermal therapy for lower urinarytract symptoms associated with benign prostatichyperplasia: 4-year results from randomized controlled study. *Urology.* 2019; 126: 171.

57. *McVary KT, Roehrborn CG.* Three-year out-comes of the prospective, randomized controlled Rezum System Study: convective radio frequency thermal therapy for treatment of lower urinarytract symptoms due to benign prostatic hyperplasia. *Urology*. 2018; 111: 1.
58. U.S. Food and Drug Administration: Select Up-dates for Guidance for the Non-Clinical and Clinical Investigation of Devices Used for the Treatment of Benign Prostatic Hyperplasia (BPH): Draft Guidance for Industry and Food and Drug Administration Staff (July 14, 2020).
59. *Roehrborn CG, Wilson TH, Black LK.* Quantifying the contribution of symptom improvement to satisfaction of men with moderate to severe benign prostatic hyperplasia: 4-year data from the CombAT trial. *J Urol*. 2012; 187: 1732.
60. *Miller LE, Chughtai B, Dornbier RA et al.* Surgical reintervention rate after prostatic urethral lift: systematic review and meta-analysis involving over 2,000 patients. *J Urol*. 2020; 204: 1019.
61. *Roehrborn CG, Barkin J, Gange SN et al.* Five year results of the prospective randomized controlled prostatic urethral L.I.F.T. study. *Can J Urol*. 2017; 24: 8802.
62. *Zlotta AR, Giannakopoulos X, Maehlum O et al.* Long-term evaluation of transurethral needle ablation of the prostate (TUNA) for treatment of symptomatic benign prostatic hyperplasia: clinical outcome up to five years from three centers. *Eur Urol*. 2003; 44: 89.
63. *Rosario DJ, Phillips JT, Chapple CR.* Durability and cost-effectiveness of transurethral needle ablation of the prostate as an alternative to transurethral resection of the prostate when alpha-adrenergic antagonist therapy fails. *J Urol*. 2007; 177: 1047.
64. *Hill B, Belville W, Bruskewitz R et al.* Transurethral needle ablation versus transurethral resection of the prostate for the treatment of symptomatic benign prostatic hyperplasia: 5-year results of a prospective, randomized, multicenter clinical trial. *J Urol*. 2004; 171: 2336.
65. *Gupta N, Rogers T, Holland B et al.* Three-year treatment outcomes of water vapor thermal therapy compared to doxazosin, finasteride and combination drug therapy in men with benign prostatic hyperplasia: cohort data from the MTOPS trial. *J Urol*. 200; 405: 2018.
66. *Malde S, Rajagopalan A, Patel N et al.* Potassium-titanyl-phosphate laser photoselective vaporization for benign prostatic hyperplasia: 5-year follow-up from a district general hospital. *J Endourol*. 2012; 26: 878.
67. *Lee HE, Kim B, Yoon HS, Suh J, Oh SJ.* Outcome of Patients With Elevated Prostate-Specific Antigen and Lower Urinary Tract Symptoms Receiving Holmium Laser Enucleation of the Prostate. *Int Neurourol J*. 2022 Sep; 26 (3): 248–257.
68. *Takeuchi Y, Sawada Y, Watanabe S, Ni-Itsu Y, Sekido N.* Age-specific effect of transurethral holmium laser enucleation of the prostate on overactive bladder in men with benign prostatic hyperplasia: An investigation using an overactive bladder symptom score. *Low Urin Tract Symptoms*. 2022 Dec 11.
69. *Nohara T, Matsuyama S, Shima T, Kawaguchi S, Seto C.* Holmium Laser Enucleation of the Prostate With Percutaneous Nephrostomy Into the Transplanted Kidney in Patient With Severe Benign Prostatic Hyperplasia With Vesicoureteral Reflux – A Case Report. *Urol Case Rep*. 2015 Dec 10; 4: 33–35.
70. *Prudhomme T, Marquette T, Péré M.* Benign Prostatic Hyperplasia Endoscopic Surgical Procedures in Kidney Transplant Recipients: A Comparison Between Holmium Laser Enucleation of the Prostate, GreenLight Photoselective Vaporization of the Prostate, and Transurethral Resection of the Prostate. *J Endourol*. 2020 Feb; 34 (2): 184–191.
71. *Baboudjian M, Fourmarier M, Gondran-Tellier B, Pradere B, Userovici M, Alegorides C, Barry Delongchamps N.* Head-to-head comparison of prostatic urethral lift and water vapor thermal therapy for the treatment of symptomatic benign prostatic hyperplasia: a real-life study. *Int Urol Nephrol*. 2021 Sep; 53 (9): 1757–1763.
72. *Alexander CE, Scullion MM, Omar MI, Yuan Y, Mamoulakis C, N'Dow JM et al*. Bipolar versus monopolar transurethral resection of the prostate for lower urinary tract symptoms secondary to benign prostatic obstruction. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019 Dec 3; 12 (12): CD009629.
73. *Mamoulakis C, Ubbink DT, de la Rosette JJ.* Bipolar versus monopolar transurethral resection of the prostate: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur Urol*. 2009; 56: 798–809. doi: 10.1016/j.eururo.2009.06.037.
74. *Ahyai SA, Gilling P, Kaplan SA et al.* Meta-analysis of functional outcomes and complications following transurethral procedures for lower urinary tract symptoms resulting from benign prostatic enlargement. *Eur Urol*. 2010; 58: 384–397.
75. *Burke N, Whelan JP, Goeree L et al.* Systematic review and meta-analysis of transurethral resection of the prostate vs. minimally invasive procedures for the treatment of benign prostatic obstruction. *Urology*. 2010; 75: 1015–1022.
76. *Omar MI, Lam TBL, Cameron A et al.* Systematic review and meta-analysis of the clinical effectiveness of bipolar compared to monopolar transurethral resection of the prostate. *BJU Int*. 2014; 113: 24–35.
77. *Cornu JN, Ahyai S, Bachmann A et al.* A systematic review and meta-analysis of functional outcomes and complications following transurethral procedures for lower urinary tract symptoms resulting from benign prostatic obstruction: An update. *Eur Urol*. 2015; 67: 1066–1096.
78. *Mamoulakis C, Sofras F, de la Rosette J et al.* Bipolar vs. monopolar transurethral resection of the prostate for lower urinary tract symptoms secondary to benign prostatic obstruction. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014; 1: CD009629.
79. *Taylor BL, Jaffe WI.* Electrosurgical transurethral resection of the prostate and transurethral incision of the prostate (monopolar techniques). *Can J Urol*. 2015 Oct; 22 Suppl 1: 24–29.
80. *Sarıer M, Duman İ, Demir M, Yüksel Y, Emek M, Kukul E.* The outcomes of transurethral incision/resection of the prostate (TUIP/TURP) performed early after

renal transplantation. *Turk J Urol*. 2018 Mar; 44 (2): 172–177.
81. *Sarier M, Duman I, Kilic S, Yuksel Y, Demir M, Aslan M et al*. Comparative Results of Transurethral Incision with Transurethral Resection of The Prostate in Renal Transplant Recipients with Benign Prostate Hyperplasia. *Urol J*. 2018 Jul 10; 15 (4): 209–213.
82. *Duty BD, Conlin MJ, Fuchs EF, Barry JM*. The current role of endourologic management of renal transplantation complications. *Adv Urol*. 2013; 2013: 246520.
83. *Cardi A, Palleschi G, Patruno G, Tuffu G, D'Amico FE, De Vico A et al*. Robot-assisted simple prostatectomy for treatment of large prostatic adenomas: surgical technique and outcomes from a high-volume robotic centre. *World J Urol*. 2022 Dec 25.
84. *Law YXT, Chen WJK, Shen L, Chua WJ*. Is transurethral needle ablation of prostate out of fashion? Outcomes of single session office-based transurethral needle ablation of prostate in patients with symptomatic benign prostatic hyperplasia. *Investig Clin Urol*. 2019 Sep; 60 (5): 351–358.
85. *Powell T, Rahman S, Staib L, Bhatia S, Ayyagari R*. Operator Learning Curve for Prostatic Artery Embolization and Its Impact on Outcomes in 296 Patients. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 2022 Dec 1.
86. *Goyal P, Salem R, Mouli SK*. Controversies in Prostate Artery Embolization: Future Best Practice. *Semin Intervent Radiol*. 2022 Dec 20; 39 (6): 562–570.
87. *Gondran-Tellier B, McManus R, Sichez PC, Akiki A, Gaillet S, Toledano H et al*. Efficacy and Safety of Surgery for Benign Prostatic Obstruction in Patients with Preoperative Urinary Catheter. *J Endourol*. 2021 Jan; 35 (1): 102–108.
88. *Яремин БИ, Харитонов БИ, Миронов АА, Маслико-ва УВ, Александрова ВЭ*. Трансплантация почки – поиск оптимальной хирургической техники. *Вестник медицинского института «РЕАВИЗ»*. 2017; (5): 94–104. *Yaremin BI, Kharitonov BI, Mironov AA, Maslikova UV, Aleksandrova VE*. Transplantatsiya pochki – poisk optimal'noy khirurgicheskoy tekhniki. *Vestnik meditsinskogo instituta «REAVIZ»*. 2017; (5): 94–104.
89. *Chadban SJ, Ahn C, Axelrod DA, Foster BJ, Kasiske BL, Kher V et al*. KDIGO Clinical Practice Guideline on the Evaluation and Management of Candidates for Kidney Transplantation. *Transplantation*. 2020 Apr; 104 (4S1 Suppl 1): S11–S103.
90. *Choudhury S, Haldar B, Pal DK*. Spectrum of lower urinary tract symptoms after renal transplant among adult non-urologic anuric patients and their management in a tertiary care center. *Urologia*. 2022 Feb 3: 3915603211048150. doi: 10.1177/03915603211048150.
91. Клинические рекомендации Европейской ассоциации урологов [Электронный ресурс]. М.: Медконгресс, 2019; 1368. Klinicheskie rekomendatsii Evropeyskoy assotsiatsii urologov [Elektronnyy resurs]. M.: Medkongress, 2019; 1368.
92. Интегративная урология. Руководство для врачей / Под ред. П.В. Глыбочко, Ю.Г. Аляева. М.: Медфорум, 2014: 128–239, 314–326. Integrativnaya urologiya. Rukovodstvo dlya vrachey / Pod red. P.V. Glybochko, Yu.G. Alyaeva. M.: Medforum, 2014: 128–239, 314–326.
93. *Sánchez-Puy A, Bravo-Balado A, Diana P, Baboudjian M, Piana A, Girón I et al*. New Generation Pulse Modulation in Holmium:YAG Lasers: A Systematic Review of the Literature and Meta-Analysis. *J Clin Med*. 2022 Jun 4; 11 (11): 3208.
94. *Perri A, Izzo G, Lofaro D, La Vignera S, Brunetti A, Calogero AE, Aversa A*. Erectile Dysfunction after Kidney Transplantation. *J Clin Med*. 2020 Jun 25; 9 (6): 1991.
95. *Kleinclauss F, Thuret R, Murez T, Timsit MO*. Urologic malignancies in renal transplant candidates and recipients. *Prog Urol*. 2016 Nov; 26 (15): 1094–1113.
96. *Данович МГ*. Трансплантация почки. Пер. с англ. под ред. Я.Г. Мойсюка. М.: ГЭОТАР Медиа, 2014; 848. *Danovich MG*. Transplantatsiya pochki. Per. s angl. pod red. Ya.G. Moysyuka. M.: GEOTAR Media, 2014; 848.
97. *Latchamsetty KC, Mital D, Jensik S*. Use of collagen injections for vesicoureteral reflux in transplanted kidney. *Transplant Proc*. 2003; 35: 1378.
98. *Li Marzi V, Filocamo MT, Dattolo E*. The treatment of fistulae and ureteral stenosis after kidney transplantation. *Transplant Proc*. 2005; 37: 2516.
99. *Mokos I, Kastelan Z, Basić-Jukić N, Kes P, Pasini J*. Transurethral incision/resection of the prostate (TUIP/TURP) in operative treatment of repeated bladder outlet obstruction early after kidney transplantation. *Acta Clin Croat*. 2011 Sep; 50 (3): 381–384.
100. *Védrine N, Nsabimbona B, Soares P, Deteix P, Boiteux JP, Guy L*. Transurethral resection or incision of the prostate in the immediate postoperative follow-up of renal transplantation. *Prog Urol*. 2009 Dec; 19 (11): 845–849.
101. *Gratzke C, Pahde A, Dickmann M, Reich O, Seitz M, Jauch K et al*. Predictive factors for urinary retention following kidney transplantation in male patients. *Scand J Urol Nephrol*. 2012 Feb; 46 (1): 44–47.
102. *Gill BC, Ulchaker JC*. Costs of managing benign prostatic hyperplasia in the office and operating room. *Curr Urol Rep*. 2018; 19: 72.

*Статья поступила в редакцию 07.02.2023 г.*
*The article was submitted to the journal on 07.02.2023*

DOI: 10.15825/1995-1191-2023-2-26-37

# ВЛИЯНИЕ ЭЛИМИНАЦИИ ВТОРИЧНОЙ ТЕПЛОВОЙ ИШЕМИИ НА ФУНКЦИЮ ПОЧЕЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА: ЭКСПЕРИМЕНТ И КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

*А.В. Шабунин[1, 2], П.А. Дроздов[1], Д.А. Макеев[1], И.В. Нестеренко[1], О.С. Журавель[1, 2], С.А. Астапович[1], Э.А. Лиджиева[3]*

[1] ГБУЗ «Городская клиническая больница имени С.П. Боткина» Департамента здравоохранения 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

**Целью** нашего исследования была оценка эффективности нового устройства для элиминации вторичной тепловой ишемии при трансплантации почки. **Материалы и методы.** Исследование включало клинический и экспериментальный этапы. В клиническую стадию вошли 63 пациента из 219, перенесших трансплантацию почки в Московской клинической больнице имени С.П. Боткина в период с июля 2018 г. по август 2022 г. Критериями включения были почечный трансплантат, полученный от DBD-донора с расширенными критериями или DCD-донора, и время вторичной тепловой ишемии (ВТИ) более 45 минут. Первую группу составили 24 реципиента, оперированных с использованием нового устройства для элиминации ВТИ. Во вторую, ретроспективную контрольную группу вошли 39 пациентов, где на этапе имплантации использовалась стерильная салфетка с ледяной крошкой. Группы не имели статистически значимых различий по основным характеристикам реципиентов и доноров, а также по периоперационным параметрам. Также с ноября 2021 г. по апрель 2022 г. было выполнено 23 эксперимента по аутотрансплантации почки у самок свиней породы ландрас. Уход за животными осуществляли в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 18.03.1986). Сравнение эффективности различных методов элиминации ВТИ было проведено на двух экспериментальных моделях: 1-я – «стандартный донор» (n = 12) и 2-я – «асистолический донор» (n = 11). **Результаты.** В клиническом исследовании средняя температура ($t_{ср}$) трансплантата перед реперфузией была статистически значимо ниже в 1-й группе: 6,4 ± 1,7 °C (95% ДИ 3,2–8,5) против 22,1 ± 2,3 °C (18,1–24,6), p < 0,001. Риск развития ОФПТ был в 3,86 раза выше (95% ДИ 1,11–13,43) при использовании стандартной методики устранения ВТИ. В экспериментальной группе в подгруппах использования нового устройства (n = 12) $t_{ср}$ трансплантата до реперфузии составила 5,1 ± 0,4 °C (95% ДИ 4,5–5,8), тогда как в подгруппах использования салфетки с ледяной крошкой (n = 11) $t_{ср}$ составила 29,3 ± 1,3 °C (95% ДИ 27,7–30,8), что было достоверно выше (p < 0,001). Общая 1-недельная выживаемость экспериментальных животных была достоверно выше в подгруппе использования специального устройства для элиминации ВТИ (log-rank p = 0,036). **Заключение.** Разработанное устройство показало свою эффективность в устранении вторичной тепловой ишемии почечного трансплантата.

*Ключевые слова: трансплантация почки, вторичная тепловая ишемия, отсроченная функция почечного трансплантата, ОФПТ, ВТИ.*

**Для корреспонденции:** Лиджиева Эльза Анатольевна. Адрес: 119435, Москва, ул. Б. Пироговская, д. 2, стр. 4. Тел. (963) 648-16-59. E-mail: lidjieva99@mail.ru

**Corresponding author:** Elza Lidjieva. Address: 2, building 4, B. Pirogovskaya str., Moscow, 119435, Russian Federation. Phone: (963) 648-16-59. E-mail: lidjieva99@mail.ru

# EFFECT OF SECOND WARM ISCHEMIA ELIMINATION ON KIDNEY GRAFT FUNCTION: AN EXPERIMENT AND CLINICAL STUDY

*A.V. Shabunin[1, 2], P.A. Drozdov[1], D.A. Makeev[1], I.V. Nesterenko[1], O.S. Zhuravel[1, 2], S.A. Astapovich[1], E.A. Lidjieva[3]*

[1] Botkin Moscow City Clinical Hospital, Moscow, Russian Federation
[2] Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russian Federation
[3] Sechenov University, Moscow, Russian Federation

**Objective:** to evaluate the effectiveness of a new device for second warm ischemia (SWI) elimination in kidney transplantation (KT). **Materials and methods.** The study included clinical and experimental stages. The clinical stage included 63 patients out of 219 who underwent KT at Botkin Moscow City Clinical Hospital between July 2018 and August 2022. The inclusion criteria were kidneys from donation after brain death (DBD) donors with expanded criteria or kidneys from donation after circulatory death (DCD) donors, and an SWI time greater than 45 minutes. The first group consisted of 24 recipients operated on using the new SWI elimination device. The second retrospective control group consisted of 39 patients where sterile ice bags were used at the implantation stage. The groups had no statistically significant differences in the main recipient and donor characteristics, as well as in perioperative parameters. Also, from November 2021 to April 2022, 23 kidney autotransplantation experiments in female Landrace pigs were performed. The animals were cared for in accordance with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (Strasbourg, 18 March 1986). Efficiency of different SWI elimination techniques was compared on two experimental models: standard donor (group 1, n = 12) and asystolic donor (group 2, n = 11). **Results.** In the clinical trial group, mean graft temperature ($t_m$) before reperfusion was statistically significantly lower in group 1 using the special SWI elimination device: 6.4 ± 1.7 °C (95% CI 3.2–8.5) versus 22.1 ± 2.3 °C (18.1–24.6), $p < 0.001$. The risk of delayed graft function (DGF) was 3.86 times higher (95% CI 1.11–13.43) with the standard SWI elimination technique. In the experimental group, in the subgroups using the new device (n = 12), graft $t_m$ before reperfusion was 5.1 ± 0.4 °C (95% CI 4.5–5.8), whereas in the ice bag subgroups (n = 11), $t_m$ was 29.3 ± 1.3 °C (95% CI 27.7–30.8), which was significantly higher ($p < 0.001$). The overall 1-week survival of the experimental animals was significantly higher in the SWI elimination device subgroup (logrank p = 0.036). **Conclusion.** The developed device is effective in eliminating SWI of renal graft.

*Keywords: kidney transplantation, second warm ischemia, delayed graft function, DGF, SWI.*

## ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация почки (ТП) является «золотым стандартом» лечения терминальной стадии поражения почек для пациентов без абсолютных противопоказаний к данному вмешательству [1]. Отсроченная функция почечного трансплантата (ОФПТ) – одно из самых частых послеоперационных осложнений и, по данным различных авторов, в среднем наблюдается более чем в 20% случаев [2, 3]. Нельзя не отметить тот факт, что развитие ОФПТ ассоциировано с множеством отдаленных неблагоприятных последствий ТП, среди которых повышение частоты послеоперационных осложнений и снижение выживаемости трансплантатов [3–8].

Одним из значимых факторов риска развития ОФПТ является пролонгированное время вторичной тепловой ишемии (более 45 минут) [9]. Было установлено, что с каждой минутой формирования сосудистых анастомозов температура графта повышается в среднем на 1 °C [10], что может усугублять его ишемически-консервационное повреждение. Для предотвращения нагревания трансплантата на этапе формирования сосудистых анастомозов были предложены различные способы его поверхностного охлаждения. Классической методикой элиминации вторичной тепловой ишемии (ВТИ) является обертывание почки в стерильную салфетку с ледяной крошкой [11]. Она применяется повсеместно, однако имеет ряд недостатков. Например, в ходе имплантации лед может таять или высыпаться в рану, вследствие чего оптимального охлаждения трансплантата не достигается. Это, вероятно, послужило поводом для разработки других способов элиминации ВТИ разными авторами, посредством «упаковок» из силикона, полиуретана, полиэтилена и других материалов [9, 12–14]. Многие из этих устройств имеют сложную конструкцию и высокую стоимость.

В нашей предыдущей работе пролонгированные сроки вторичной тепловой ишемии были достоверно связаны с развитием ОФПТ [15]. Это явилось поводом разработать новое устройство для элиминации вторичной тепловой ишемии, эффективность которо-

го мы оценили в экспериментальных и клинических условиях.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

С июля 2018-го по ноябрь 2021 года в отделении трансплантации ГКБ им. С.П. Боткина было выполнено 219 изолированных ТП от посмертного донора. С целью элиминации вторичной тепловой ишемии трансплантата во всех случаях использовалась стандартная упаковка в салфетку с ледяной крошкой. В ходе ретроспективного анализа результатов лечения оперированных пациентов было выявлено, что пролонгированное время вторичной тепловой ишемии (более 45 минут) имело место в 61 наблюдении (27,9%). Эти пациенты имели в 1,98 раза (95% ДИ 1,04–3,77) большие шансы развития отсроченной функции почечного трансплантата, что было статистически значимым (p = 0,035). С целью профилактики ишемического повреждения трансплантата в период имплантации в нашем центре было разработано специальное устройство для элиминации вторичной тепловой ишемии.

### Описание специального устройства для элиминации ВТИ

Устройство представляет собой марлевую/тканевую упаковку для почечного трансплантата и ледяной шуги. Его особенностью является наличие трех изолированных друг от друга пространств. Среднее пространство имеет два отверстия, с помощью которых сообщается с внешней средой. В эти отверстия помещается сосудистая ножка почечного трансплантата и мочеточник. В два наружных пространства, которые не имеют сообщения с окружающей средой, помещается ледяная крошка (рис. 1).

Все три пространства замыкаются сверху с помощью затягивания кисетного шва. В ходе формирования сосудистых анастомозов кисетный шов может быть ослаблен и в наружные пространства по необходимости может быть добавлена ледяная крошка (рис. 2). По завершении формирования сосудистых анастомозов устройство рассекается по передней стенке и утилизируется.

Исследование безопасности и эффективности разработанного устройства в сравнении со стандартной методикой элиминации ВТИ посредством упаковки было выполнено нами в эксперименте и затем клинических условиях.

### Экспериментальный этап

С ноября 2021-го по апрель 2022 года нами было выполнено 23 эксперимента по аутотрансплантации почки самкам свиней породы ландрас средней массой 31 ± 1,4 (от 29 до 34) кг. Предоперационная подготовка, анестезиологическое пособие, уход за животным в послеоперационном периоде и вывод из

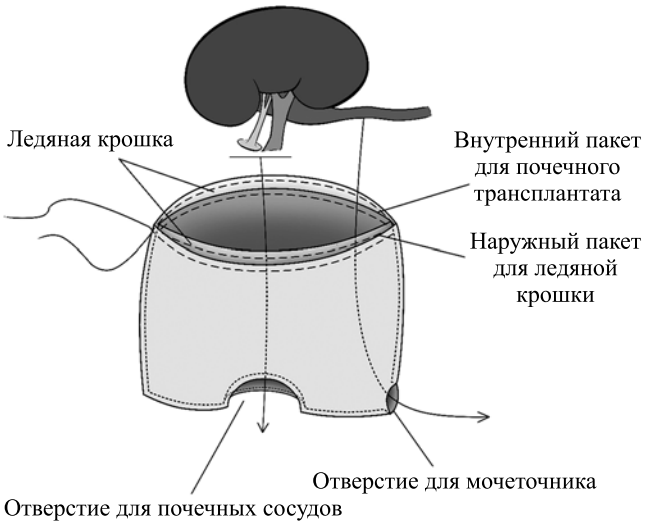


Рис. 1. Устройство для элиминации вторичной тепловой ишемии почечного трансплантата. Укладка почки

Fig. 1. SWI elimination device. Placing the kidney

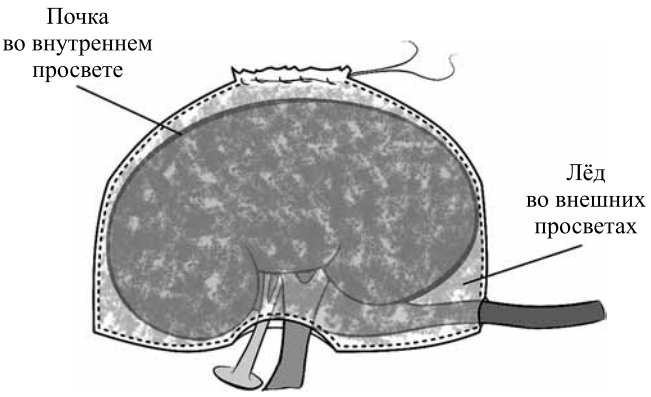


Рис. 2. Устройство для элиминации вторичной тепловой ишемии почечного трансплантата. Затягивание верхнего кисетного шва

Fig. 2. SWI elimination device. Tightening of the purse-string suture

эксперимента выполнялись в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в научных целях (Страсбург, 18.03.1986). Сравнительное исследование эффективности различных способов элиминации ВТИ было выполнено в экспериментальных моделях стандартного донора (n = 12) и асистолического донора (n = 11). Дизайн исследования представлен на рис. 3.

Аутотрансплантацию почки выполняли по следующему протоколу.

1. Срединная тотальная лапаротомия, мобилизация почек из забрюшинного пространства. На этом этапе оценивались анатомические особенности каждой из почечных ножек, принималось решение, какая почка будет в последующем трансплантирована (рис. 4, а, б):

а) при выполнении трансплантации почки в модели стандартного донора после удаления будущего трансплантата выполнялась его немедленная холодовая консервация;
б) при выполнении трансплантации почки в модели асистолического донора перед удалением и консервацией будущего трансплантата его сосуды пережимались атравматическими зажимами на 30 мин (рис. 4, в).

2. Удаление контралатеральной почки для наиболее точной оценки функции трансплантата после операции.
3. Для статической холодовой консервации во всех случаях использовался раствор НТК «Кустодиол». После перфузии выполнялась обработка сосудов трансплантата на back-table. Медиана времени холодовой ишемии (ХИ) почечного трансплантата составила 180 мин (IQR 175–190).
4. Перед имплантацией выполнялась мобилизация аорты и нижней полой вены в нижней половине брюшной полости.
5. Имплантация почки осуществлялась посредством наложения артериального и венозного анастомо-

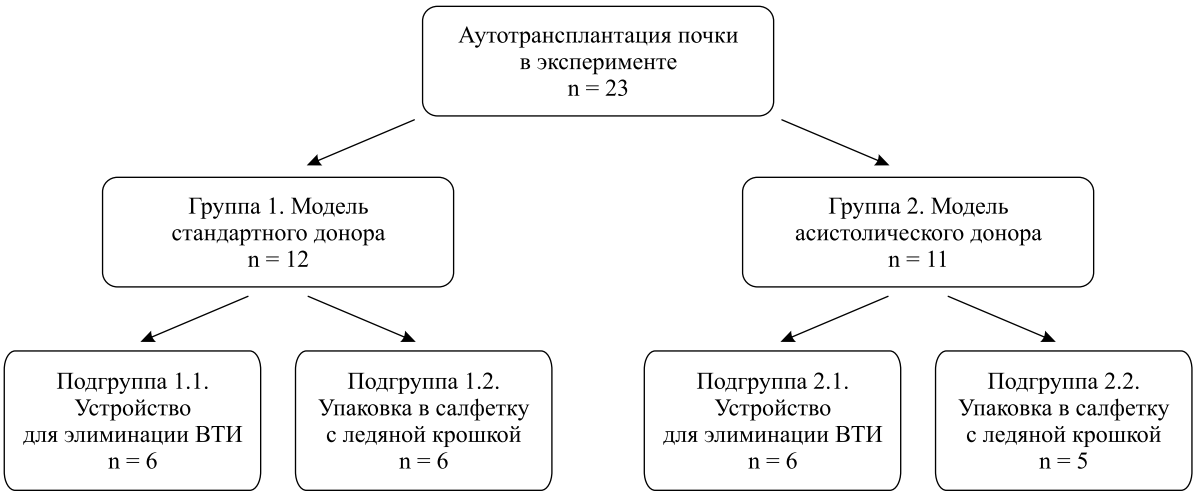


Рис. 3. Дизайн экспериментального этапа сравнительного исследования методов элиминации вторичной тепловой ишемии

Fig. 3. Experimental stage of the comparative study of SWI elimination techniques

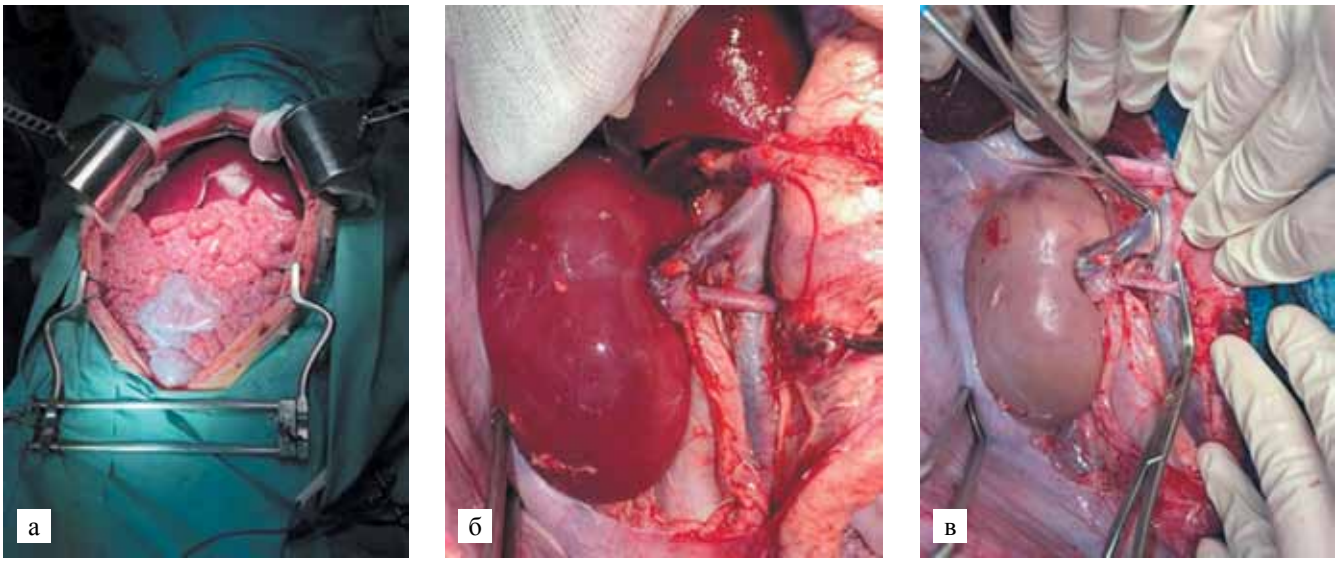


Рис. 4. Экспериментальная аутотрансплантация почки на модели свиньи, этап нефрэктомии (интраоперационное фото): а – выполнена срединная тотальная лапаротомия, установлены ретракторы; б – из забрюшинного пространства выделена правая почка, выполнена диссекция сосудистой ножки; в – на почечные сосуды наложены зажимы

Fig. 4. Experimental kidney autotransplantation in a pig model, nephrectomy stage (intraoperative photo): a – midline total laparotomy, installing the retractors; б – isolation of the right kidney from retroperitoneal space, vascular stem dissection; в – placing clamps on renal vessels

зов с магистральными сосудами по типу «конец в бок». Экспериментальные условия позволили создать идентичные пролонгированные сроки имплантации в каждой операции, таким образом, медиана времени вторичной тепловой ишемии составила 70 мин (IQR 70–75). В 12 экспериментах мы использовали устройство для элиминации вторичной тепловой ишемии (рис. 5, б), в 11 – стандартную упаковку трансплантата в салфетку с ледяной крошкой (рис. 5, а).

6. По завершении формирования сосудистых анастомозов выполнялись реперфузия трансплантата, формирование уретеронеоцистоанастомоза, ревизия и послойное ушивание раны.

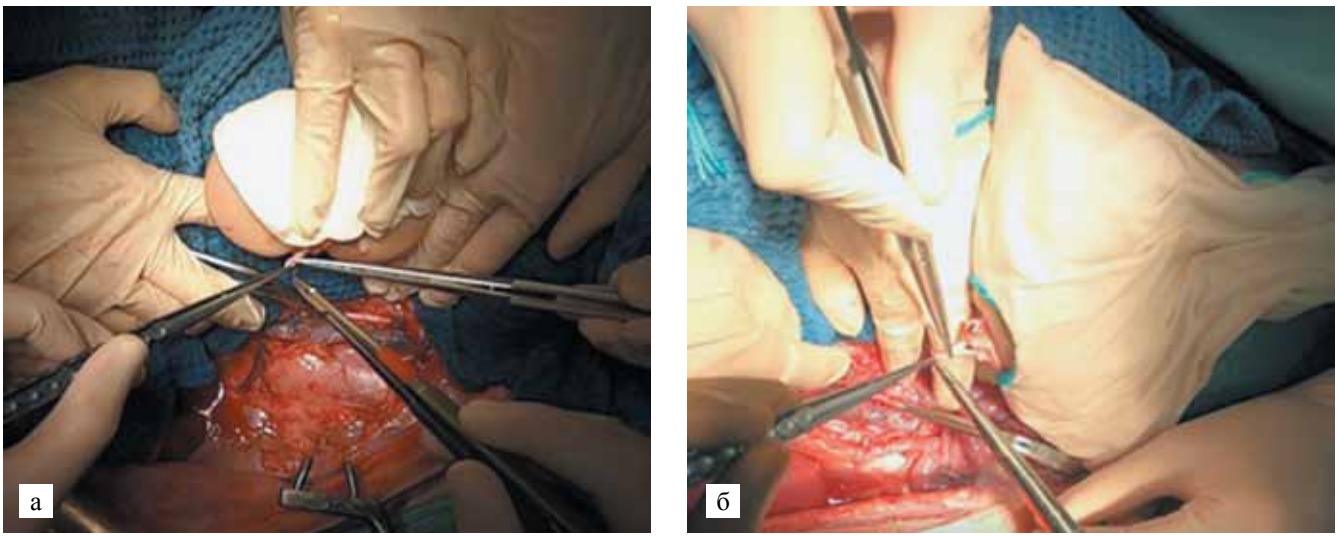


Рис. 5. Экспериментальная аутотрансплантация почки на модели свиньи, этап имплантации (интраоперационное фото): а – имплантация с использованием салфетки с ледяной крошкой; б – имплантация с использованием специального устройства для элиминации ВТИ

Fig. 5. Experimental kidney autotransplantation in a pig model, implantation stage (intraoperative photo): a – implantation using an ice bag; б – implantation using the special SWI elimination device

Рис. 6. Измерение температуры поверхности трансплантата дистанционным термометром

Fig. 6. Measuring surface temperature of the graft with a remote thermometer

На этапах погружения трансплантата в рану и непосредственно перед реперфузией фиксировалась температура его поверхности, определенная с помощью дистанционного термометра на расстоянии 2–3 см (рис. 6).

Лабораторный мониторинг функции трансплантата осуществлялся в течение 7 сут после операции: 1 раз в 2 суток выполнялось определение креатинина, мочевины, газов и электролитов крови. В первые 3–4 суток также осуществлялся контроль суточного диуреза, далее уретральный катетер удалялся из соображений гуманности. Для вывода из эксперимента использовалась эвтаназия в наркозе. После смерти животного выполнялась аутопсия с последующим морфологическим исследованием почечного аутотрансплантата.

Критериями развития ОФПТ считали наличие олигурии (менее 500 мл/сут) к 3–4-м послеоперационным суткам и/или гиперкалиемии (более 6,0 ммоль/л) в течение недели после операции. При ее развитии животное выводилось из эксперимента досрочно. Динамика уровней креатинина, калия, темпов суточного диуреза и частоты развития ОФПТ оценивалась и сравнивалась между подгруппами.

## Клинический этап

В исследование вошли 63 пациента, оперированных в ГКБ им. С.П. Боткина с июля 2018-го по август 2022 года. Критериями включения стали: использование почечного трансплантата, полученного от DBD-донора с расширенными критериями или DCD-донора, и пролонгированные сроки элиминации вторичной тепловой ишемии (более 45 минут). Пациенты исключались из исследования при развитии первичного нефункционирования трансплантата, смерти или неотложной трансплантэктомии в течение 7 сут после операции, а также при использовании гипотермической оксигенированной машинной перфузии в ходе консервации органа. Предоперационное обследование, трансплантация почки и послеоперационное ведение реципиентов выполнялись в соответствии с национальными клиническими рекомендациями. В качестве поддерживающей иммуносупрессивной терапии использовалась трехкомпонентная схема, в основе которой был такролимус в пролонгированной форме. Стартовая доза препарата назначалась из расчета 0,2 мг на килограмм веса реципиента и принималась им перед операцией. Целевой концентрацией такролимуса считали 10–12 нг/мл. Отсроченную функцию трансплантата определяли как необходимость гемодиализа в течение первой недели после операции.

Первую группу составили 24 реципиента почечного трансплантата, у которых в ходе операции использовалось разработанное специальное устройство для элиминации ВТИ. Среди них мужчин было 14 (58,3%), женщин – 10 (41,7%). Медиана возраста реципиентов составила 48 лет (IQR 39–55), медиана ИМТ – 27,5 кг/м$^2$ (IQR 23,0–31,0). Основными причинами развития терминальной стадии поражения почек были хронический гломерулонефрит (16 из 24; 66,7%), сахарный диабет (3 из 24; 12,5%) и другие (5 из 24; 20,8%). Медиана объема резидуального суточного диуреза перед трансплантацией составила 300 мл (IQR 100–600). Во всех случаях почечный трансплантат был получен от донора с констатированной смертью головного мозга с расширенными критериями. Медиана возраста доноров составила 65 лет (IQR 54–68), медиана ИМТ – 34,0 кг/м$^2$ (IQR 27,2–36,0).

В ретроспективную контрольную группу 2 вошли 39 пациентов, кому в ходе операции для элиминации ВТИ использовалась упаковка в салфетку с ледяной крошкой. Среди них мужчин было 28 (71,8%), женщин – 11 (28,2%). Медиана возраста реципиентов составила 51 год (IQR 39–54), медиана ИМТ – 26,0 кг/м$^2$ (IQR 24,0–28,3). Основными причинами развития терминальной стадии поражения почек были: хронический гломерулонефрит (21 из 39; 53,8%), сахарный диабет (4 из 39; 10,2%), хронический тубулоинтерстициальный нефрит (3 из 39; 7,7%) и другие (11 из 39; 28,2%). Медиана объема резидуального суточного диуреза перед трансплантацией составила 300 мл (IQR 0–700). В 37 случаях (94,9%) почечный трансплантат был получен от донора с констатированной смертью головного мозга с расширенными критериями, в 2 наблюдениях – от донора с необратимой остановкой эффективного кровообращения (5,1%). Медиана возраста доноров составила 62 года (IQR 53–67), медиана ИМТ – 32,5 кг/м$^2$ (IQR 25,3–34,5).

Группы не имели статистически значимых различий по основным характеристикам реципиентов и доноров, а также ряду периоперационных параметров. Подробная сравнительная характеристика представлена в табл. 1.

## Статистический анализ

Статистическая обработка и анализ данных выполнялись в программе IBM SPSS Statistics 26-й вер-

Таблица 1

**Сравнительная характеристика групп в зависимости от метода элиминации вторичной тепловой ишемии**

**Comparative characteristics of groups depending on the SWI elimination technique**

| Показатель | Группа 1 Устройство для элиминации ВТИ n = 24 | | Группа 2 Упаковка в салфетку с ледяной крошкой n = 39 | | p-value |
|---|---|---|---|---|---|
| | M | IQR | M | IQR | |
| Возраст реципиента, лет | 48 | 39–55 | 51 | 39–54 | 0,657 |
| ИМТ реципиента, кг/м$^2$ | 27,5 | 23,0–31,0 | 26,0 | 24,0–27,3 | 0,725 |
| Резидуальный диурез, мл | 300 | 100–600 | 300 | 0–700 | 0,756 |
| Возраст донора, лет | 65 | 54–68 | 62 | 53–67 | 0,645 |
| ИМТ донора, кг/м$^2$ | 34,0 | 27,2–36,0 | 32,5 | 25,3–35,0 | 0,238 |
| Время холодовой консервации, мин | 725 | 550–820 | 775 | 640–790 | 0,343 |
| Время вторичной тепловой ишемии, мин | 58 | 50–65 | 62 | 55–75 | 0,411 |
| Наибольшая $C_0$ такролимуса в первую неделю, нг/мл | 19,2 | 17,0–25,1 | 22,4 | 18,6–28,3 | 0,19 |

сии для Microsoft Windows (США). Для сравнения двух групп количественных показателей, учитывая небольшой объем выборки, вне зависимости от типа распределения использовался U-критерий Манна–Уитни. Сравнение качественных данных выполнялось с использованием $\chi^2$-критерия Пирсона либо точного критерия Фишера с определением ОШ и 95% ДИ, а также тесноты связи изучаемых признаков по значению V-Крамера. Анализ выживаемости осуществлен с помощью метода Каплана–Мейера с определением статистически значимых различий с помощью лонгранкового теста Мантеля–Кокса. Статистически значимыми различия считались при $p < 0,05$.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Экспериментальный этап

Во всех 23 экспериментальных операциях средняя температура трансплантата перед погружением в рану составила 4,8 ± 1,1 °С (95% ДИ 4,2–5,9) и не различалась между подгруппами ($p > 0,05$). В подгруппах 1.1 и 2.1, где элиминация ВТИ выполнялась с помощью разработанного устройства (n = 12), средняя температура трансплантата по завершении сосудистых анастомозов составила 5,1 ± 0,4 °С (95% ДИ 4,5–5,8), в то время как в подгруппах 1.2 и 2.2 – упаковка трансплантата в салфетку с ледяной крошкой (n = 11) – 29,3 ± 1,3 °С (95% ДИ 27,7–30,8), что было статистически значимо выше ($p < 0,001$).

В первых 3 (13,04%) экспериментах развились жизнеугрожающие хирургические осложнения: тромбоз артерии почечного аутотрансплантата (n = 2) и массивная лимфоррея в брюшную полость (n = 1). Эти животные были выведены из эксперимента досрочно.

В группе 1 (экспериментальная модель трансплантации почки от стандартного донора) нами были зафиксированы статистически значимые различия по уровням креатинина на 1-е, 3-и и 5-е сутки, а также темпам диуреза на 1-е сутки послеоперационного периода между подгруппами. В подгруппе 1.1 они были статистически значимо выше ($p < 0,05$). Напротив, исследуемые подгруппы не имели достоверных различий по уровням калия ($p > 0,05$), и ни в одном наблюдении не было зафиксировано развития отсроченной функции трансплантата. Результаты сравнительного исследования в группе 1 представлены в табл. 2.

По данным морфологического исследования, в группе 1 (экспериментальная аутотрансплантация почки в модели стандартного донора) почечные трансплантаты, в ходе имплантации которых применялась стандартная методика элиминации ВТИ, имели незначительно более выраженные микроскопические признаки повреждения почечных канальцев (рис. 7).

В группе экспериментальной аутотрансплантации почки в модели асистолического донора развития хирургических осложнений и связанной с ними летальности зафиксировано не было. В подгруппе 2.1 использования специального устройства для элиминации ВТИ состояние, соответствующее принятым

Таблица 2

**Динамика лабораторных и клинических показателей функции трансплантата после аутотрансплантации почки в модели стандартного донора**

**Dynamics of laboratory and clinical indicators of graft function after kidney autotransplantation in the standard donor model**

| Показатель | | Подгруппа 1.1 Устройство для элиминации ВТИ n = 5 | | Подгруппа 1.2 Упаковка в салфетку с ледяной крошкой n = 4 | | p-value |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | M | IQR | M | IQR | |
| Креатинин, мкмоль/л | Перед операцией | 53,4 | 52,0–54,2 | 53,0 | 52,2–54,0 | 0,758 |
| | 0-е сутки | 159,2 | 156,4–163,0 | 173,2 | 158,1–175,1 | 0,152 |
| | 1-е сутки | 252,0 | 235,3–282,1 | 324,8 | 301,4–356,5 | **0,031** |
| | 3-и сутки | 221,4 | 213,3–253,6 | 345,0 | 322,4–398,3 | **0,008** |
| | 5-е сутки | 168,9 | 142,2–211,5 | 234,4 | 201,6–269,5 | **0,043** |
| Калий, ммоль/л | Перед операцией | 4,3 | 4,3–4,5 | 4,2 | 4,1–4,5 | 0,823 |
| | 0-е сутки | 4,7 | 4,4–5,0 | 4,9 | 4,5–5,0 | 0,743 |
| | 1-е сутки | 4,0 | 3,8–4,3 | 4,5 | 3,9–4,7 | 0,521 |
| | 3-и сутки | 4,4 | 4,3–5,4 | 5,3 | 4,2–5,3 | 0,213 |
| | 5-е сутки | 4,7 | 4,3–4,8 | 4,6 | 4,3–4,9 | 0,642 |
| Диурез, мл | 1-е сутки | 1200 | 1000–1200 | 600 | 600–700 | **0,025** |
| | 2-е сутки | 1500 | 1300–1600 | 1300 | 1200–1500 | 0,342 |
| | 3-и сутки | 1300 | 1000–1500 | 1400 | 1100–1400 | 0,412 |

для экспериментальных животных критериям ОФПТ, развилось в одном наблюдении из 6 (16,7%), в связи с чем животное было выведено из эксперимента на 4-е сутки послеоперационного периода. В подгруппе 2.2, в свою очередь, ОФПТ развилась в 4 из 5 наблюдений (80%), в связи с чем животные выводились из эксперимента на 2-е, 4-е и 5-е сутки после операции. Таким образом, выживаемость экспериментальных животных в первую неделю после операции была статистически значимо выше в подгруппе с использованием специального устройства для элиминации ВТИ (log-rank p = 0,036). Графики выживаемости экспериментальных животных с немедленной функцией почечного трансплантата в зависимости от используемого метода элиминации вторичной тепловой ишемии представлены на рис. 8.

По данным морфологического исследования, в группе 2 (экспериментальная аутотрансплантация почки в модели асистолического донора) трансплантаты, в ходе имплантации которых использовалась стандартная методика элиминации вторичной тепловой ишемии посредством упаковки в салфетку с ледяной крошкой, имели значительно более выраженные признаки повреждения и некроза почечных канальцев (рис. 9).

### Клинический этап

Из 63 наблюдений, отобранных в клинический этап исследования, госпитальной летальности и развития тяжелых хирургических осложнений трансплантации почки (Clavien–Dindo >II) в раннем послеоперационном периоде не зафиксировано ни в одном случае. Средняя температура трансплантата перед реперфузией была статистически значимо ниже в группе 1 – использование разработанного специального устройства для элиминации ВТИ: 6,4 ± 1,7 °C (95% ДИ 3,2–8,5) против 22,1 ± 2,3 °C (18,1–24,6) (p < 0,001).

В ретроспективной группе отсроченная функция почечного трансплантата развилась у 17 из 39 реципиентов (43,6%), что было статистически значимо ниже, чем в группе 1: 4/24 (16,7%) (p = 0,032). Шансы развития ОФПТ при использовании стандартной методики элиминации ВТИ были в 3,86 раза выше (95% ДИ 1,11–13,43), и между признаками отмечена связь средней силы (V = 0,277). Средняя длительность госпитализации в группе 1 составила 14,5 ± 4,4 койко-дня (от 12 до 18), что было также статистически значимо ниже (p = 0,024), чем в ретроспективной контрольной группе: 18,3 ± 3,2 койко-дня (от 16 до 25). Результаты клинического этапа исследования безопасности и эффективности разработанного устройства для элиминации ВТИ в сравнении со стандартным методом представлены в табл. 3.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Отсроченная функция почечного трансплантата, по данным отечественных и зарубежных авторов, является распространенным осложнением у реципиентов в раннем посттрансплантационном периоде.

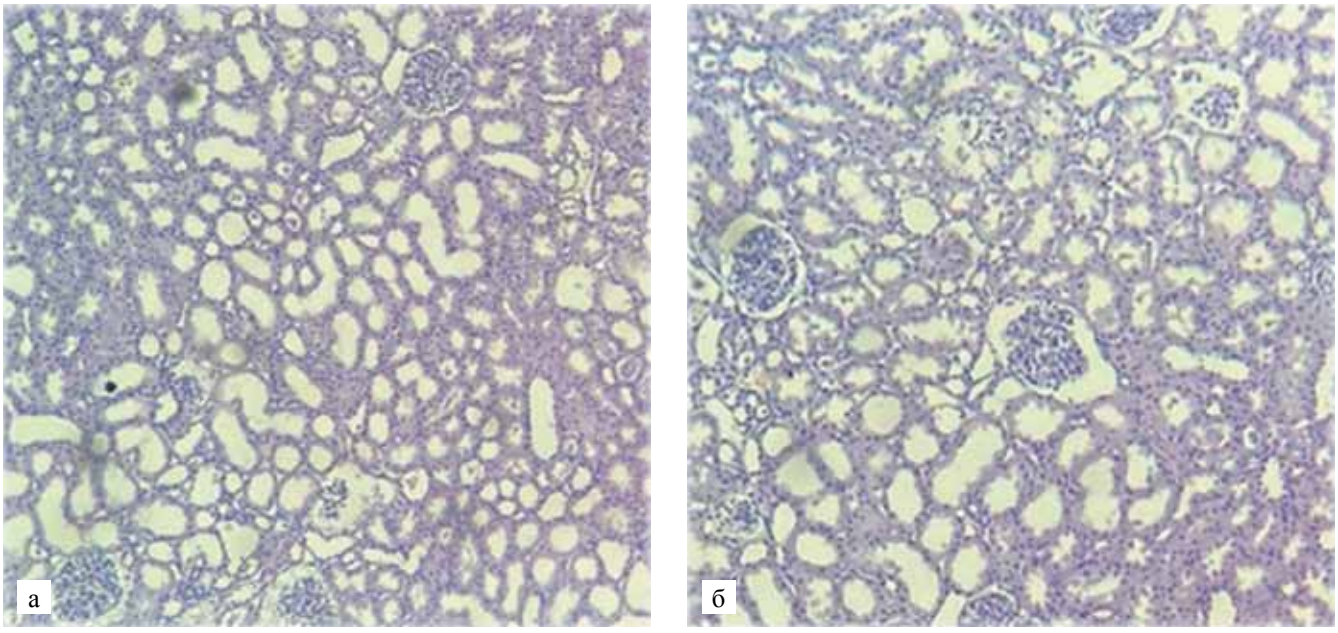


Рис. 7. Микроскопическое исследование почечных трансплантатов после аутотрансплантации почки в модели стандартного донора: а – после использования специального устройства для элиминации ВТИ; б – после использования стандартной методики элиминации ВТИ

Fig. 7. Microscopic examination of kidney grafts after kidney autotransplantation in the standard donor model: a – after using the special SWI elimination device; б – after using the standard SWI elimination technique

Безусловно, повышение ее частоты главным образом ассоциировано с неизбежным, ввиду колоссального спроса на трансплантацию почки, расширением критериев к посмертному донорству. В то же время, понимая чрезвычайную актуальность данной проблемы, учитывая повышенный риск развития осложнений и снижения отдаленной выживаемости трансплантатов, необходимо стремиться воздействовать на каждый модифицируемый фактор, повышающий риск развития отсроченной функции почечного трансплантата.

Как во многих работах, так и в нашем исследовании пролонгированное время вторичной тепловой ишемии было статистически значимым и модифици-

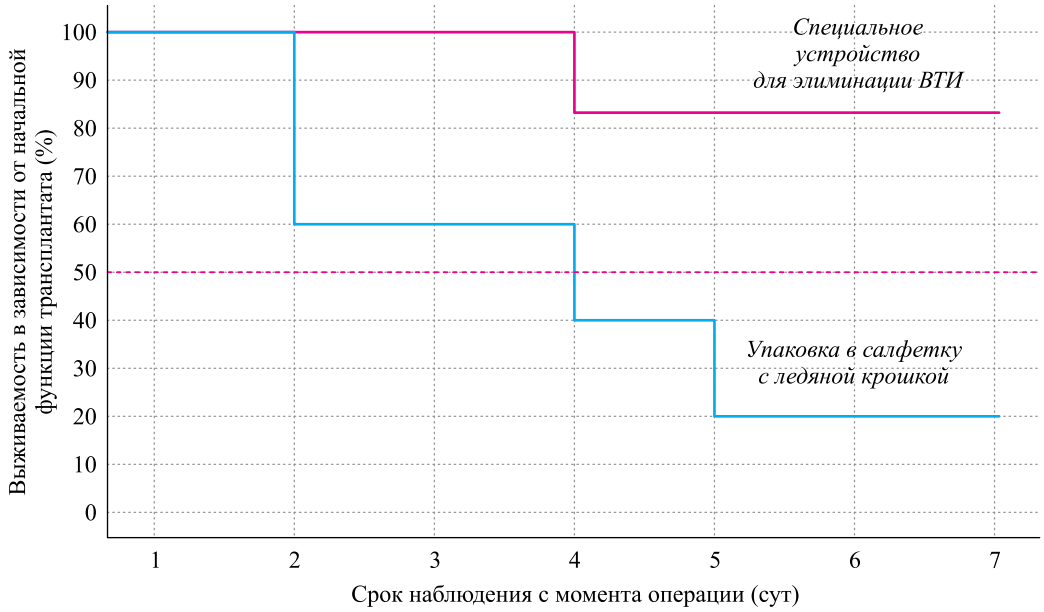


Рис. 8. Выживаемость с немедленной функцией почечного трансплантата в раннем послеоперационном периоде в зависимости от способа элиминации вторичной тепловой ишемии при аутотрансплантации почки в модели асистолического донора

Fig. 8. Survival with immediate renal graft function in the early postoperative period depending on the SWI elimination technique during kidney autotransplantation in the asystolic donor model

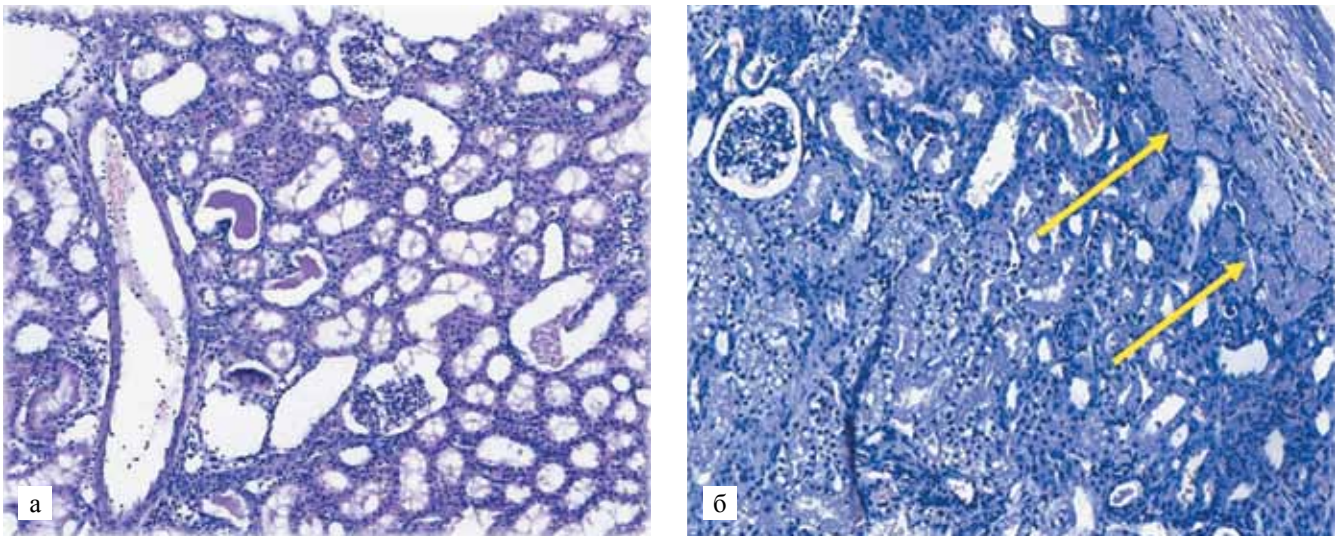


Рис. 9. Микроскопическое исследование почечных трансплантатов после аутотрансплантации почки в модели асистолического донора: а – после использования специального устройства для элиминации ВТИ; б – после использования стандартной методики элиминации ВТИ (желтыми стрелками отмечены очаги острого канальцевого некроза)

Fig. 9. Microscopic examination of kidney grafts after kidney autotransplantation in the asystolic donor model: a – after using a special SWI elimination device; б – after using the standard SWI elimination technique (yellow arrows indicate foci of acute tubular necrosis)

руемым фактором риска развития ОФПТ (p = 0,035). Тем не менее необходимость элиминации вторичной тепловой ишемии на сегодняшний день не очевидна. По результатам ретроспективного исследования Karipineni et al. (2014), устранение ВТИ не приводило к улучшению функции трансплантата после операции и не влияло на отдаленные результаты [12]. Вероятно, это было связано с тем, что отсроченная функция трансплантата имеет множество факторов риска, как со стороны донора, так и реципиента, что не было учтено авторами при формировании групп сравнения. Напротив, в работе Kamińska et al. (2016) влияние элиминации ВТИ было исследовано на «парных» почках, и практически устранив влияние факторов риска ОФПТ со стороны донора, авторы получили ожидаемый результат: наличие вторичной тепловой ишемии было независимым предиктором отсроченной функции и острого отторжения почечного трансплантата, как в однофакторном, так и в многофакторном анализе, что подтвердило необходимость ее устранения [14]. Авторы также отметили, что трансплантаты, полученные от доноров с расширенными критериями, вероятно, более чувствительны к вторичной тепловой ишемии.

Это предположение было взято за основу нами и отражено в двух этапах настоящего исследования. Первый, экспериментальный этап был выполнен на крупных свиньях – общепризнанной оптимальной модели для доклинических исследований в нефротрансплантологии. Использование экспериментальной модели аутотрансплантации почки позволило на этапе планирования исследования исключить потенциальные факторы риска отсроченной функции почечного трансплантата помимо изучаемого: все экспериментальные операции были выполнены свиньям одной породы, возраста и массы тела, и использование почечного аутотрансплантата позволило исключить иммунологический конфликт. Также экспериментальные условия дали возможность создания идентичных сроков холодовой консервации и вторичной тепловой ишемии в группах. При трансплантации почки от стандартного донора в нашем исследовании отсроченная функция трансплантата не развилась ни в одном наблюдении. Вероятно, вклада одного фактора времени ВТИ недостаточно для развития тяжелого ишемического повреждения и неудовлетворительной начальной функции трансплантата, однако в совокупности с другими факторами риска пролонгированные сроки формирования сосудистых анастомозов могут привести к развитию ОФПТ. Так, в модели трансплантации почки от асистолического донора, частота развития ОФПТ в подгруппе использования стандартного метода элиминации ВТИ была в 4,8 раза выше, чем при использовании разработанного устройства для элиминации ВТИ, что было статистически значимым (p = 0,036).

Таким образом, нами было доказано, что разработанное устройство позволяет более эффективно охлаждать почечный трансплантат в ходе формирования сосудистых анастомозов, даже при пролонгированных сроках имплантации (p < 0,001); его использование при трансплантации почки от стандартного донора способно незначительно улучшить функцию трансплантата, однако без влияния на частоту ОФПТ; и его использование при трансплантации почки от асистолического донора приводит к достоверному снижению тяжести ишемического повреждения трансплантата, и частоты развития ОФПТ соответственно (p = 0,036).

Действительно, пролонгированные сроки вторичной тепловой ишемии трансплантата – зачастую непредсказуемый фактор риска развития отсроченной функции почечного трансплантата. Пациенты с терминальной стадией ХПН, длительно находящиеся на гемодиализе, практически всегда имеют атеросклеротическое поражение и/или кальциноз

Таблица 3

**Результаты лечения реципиентов почечного трансплантата в раннем послеоперационном периоде в зависимости от использованного метода элиминации вторичной тепловой ишемии в ходе операции**

**Outcomes of treatment of renal transplant recipients in the early postoperative period depending on the SWI elimination technique used during surgery**

| Показатель | Группа 1<br>Устройство для элиминации ВТИ<br>n = 24 | Группа 2<br>Упаковка в салфетку с ледяной крошкой<br>n = 39 | p-value |
|---|---|---|---|
| Средняя температура трансплантата перед реперфузией | 6,4 ± 1,7 (3,2–9,5) °C | 17,1 ± 2,3 (13,1–24,6) °C | **0,013** |
| Частота ОФПТ | 4/24 (16,7%) | 17/39 (43,6%) | **0,032** |
| Длительность госпитализации | 14,5 ± 4,4 (12–18) | 18,3 ± 3,2 (16–25) | **0,024** |
| Госпитальная летальность | 0 | 0 | 1 |
| Осложнения (Clavien–Dindo >II) | 0 | 0 | 1 |

подвздошных артерий. При трансплантации почки от субоптимальных возрастных доноров площадка аорты и стенка почечной артерии также могут быть поражены атеросклеротическим процессом, в связи с чем даже у опытного хирурга сосудистая реконструкция может потребовать больше времени, в течение которого нагревание трансплантата неизбежно. Разработанное нами устройство для элиминации вторичной тепловой ишемии позволяет длительное время поддерживать оптимально низкую температуру графта в ходе имплантации, в отличие от классической упаковки в салфетку с ледяной шугой ($p < 0,001$), что было продемонстрировано нами как в эксперименте, так и в клиническом исследовании. Эффективная элиминация ВТИ с помощью разработанного нового устройства была ассоциирована со статистически значимо меньшей частотой развития ОФПТ ($p = 0,032$) и длительностью госпитализации ($p = 0,024$) в сравнимых по основным факторам риска отсроченной функции трансплантата группам пациентов.

Таким образом, использование разработанного нами «специального устройства для элиминации вторичной тепловой ишемии» позволило существенно снизить бремя ОФПТ и тем самым улучшить результаты лечения реципиентов почечного трансплантата, полученного от субоптимального донора.

## ВЫВОДЫ

1. Пролонгированное время вторичной тепловой ишемии (более 45 мин) является статистически значимым фактором риска развития отсроченной функции почечного трансплантата ($p = 0,035$).
2. Наиболее чувствительными к вторичной тепловой ишемии являются трансплантаты, полученные от доноров с расширенными критериями, что было доказано нами в экспериментальной модели аутотрансплантации почки от асистолического донора. Частота развития отсроченной функции трансплантата при неэффективной элиминации вторичной тепловой ишемии может достигать 80%.
3. Разработанное специальное устройство для элиминации вторичной тепловой ишемии позволяет оптимально охлаждать трансплантат в течение всей имплантации, даже при ее пролонгированных сроках, в отличие от классического метода упаковки в салфетку с ледяной крошкой ($p < 0,001$).
4. Использование разработанного специального устройства для элиминации вторичной тепловой ишемии в клинической практике позволяет безопасно и эффективно снизить частоту отсроченной функции трансплантата ($p = 0,032$), полученного от донора с расширенными критериями и при пролонгированном времени имплантации.

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Chadban SJ, Ahn C, Axelrod DA, Foster BJ, Kasiske BL, Kher V et al.* KDIGO clinical practice guideline on the evaluation and management of candidates for kidney transplantation. *Transplantation*. 2020; 104 (4S1): S11–S103. PMID: 32301874. https://doi.org/10.1097/TP.0000000000003136.
2. *Chen R, Wang H, Song L, Hou J, Peng J, Dai H et al.* Predictors and one-year outcomes of patients with delayed graft function after deceased donor kidney transplantation. *BMC Nephrology.* 2020; 21 (1): 1–10. PMID: 33276737. https://doi.org/10.1186/s12882-020-02181-1.
3. *Siedlecki A, Irish W, Brennan DC.* Delayed graft function in the kidney transplant. *American Journal of Transplantation*. 2011; 11 (11): 2279–2296. PMID: 21929642. https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2011.03754.x.
4. *Narayanan R, Cardella CJ, Cattran DC, Cole HC, Tinckam KJ, Schiff J et al.* Delayed graft function and the risk of death with graft function in living donor kidney transplant recipients. *Am J Kidney Dis.* 2010; 56 (5): 961–970. PMID: 20870331. https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2010.06.024.
5. *Tapiawala SN, Tinckam KJ, Cardella CJ, Schiff J, Cattranet DC, Cole EH et al.* Delayed graft function and the risk for death with a functioning graft. *J Am Soc Nephrol.* 2010; 21 (1): 153–161. PMID: 19875806. https://doi.org/10.1681/ASN.2009040412.
6. *Nagaraja P, Roberts GW, Stephens M, Horvath S, Fialovaet J, Chavez R et al.* Influence of delayed graft function and acute rejection on outcomes after kidney transplantation from donors after cardiac death. *Transplantation.* 2012; 94 (12): 1218–1223. PMID: 23154212. https://doi.org/10.1097/TP.0b013e3182708e30.
7. *Kayler LK, Magliocca J, Zendejas I, Srinivas TR, SholdImpact JD.* Impact of cold ischemia time on graft survival among ECD transplant recipients: a paired kidney analysis. *American Journal of Transplantation.* 2011; 11 (12): 2647–2656. PMID: 21906257. https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2011.03741.x.
8. *Wu WK, Famure O, Li Y, Kim SJ.* Delayed graft function and the risk of acute rejection in the modern era of kidney transplantation. *Kidney International*. 2015; 88 (4): 851–858. PMID: 26108067. https://doi.org/10.1038/ki.2015.190.
9. *Hameed AM, Yuen L, Pang T, Rogers N, Hawthorne WJ, Pleass HC.* Techniques to Ameliorate the Impact of Second Warm Ischemic Time on Kidney Transplantation Outcomes. *Transplantation Proceedings.* 2018; 50 (10): 3144–3151. PMID: 30577180. https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2018.09.003.
10. *Dienst SG, Ansari MR.* Use of a Cooling Jacket During Kidney Transplantation. *Henry Ford Hospital Medical Journal*. 1971; 19 (3): 127–134.

11. *Danovitch GM* (Ed.). Handbook of kidney transplantation. Lippincott Williams & Wilkins. 2009.
12. *Karipineni F, Campos S, Parsikia A, Durinka JB, Chang PN, Khanmoradi K et al.* Elimination of warm ischemia using the Ice Bag Technique does not decrease delayed graft function. *International Journal of Surgery.* 2014; 12 (6): 551–556. PMID: 24735894. https://doi.org/10.1016/j.ijsu.2014.04.002.
13. *Khan T, Kwarcinski J, Pang T, Hameed A, Boughton P, O'Grady G et al.* Protection From the Second Warm Ischemic Injury in Kidney Transplantation Using an Ex Vivo Porcine Model and Thermally Insulating Jackets. *Transplantation Proceedings*. 2021; 53 (2): 750–754. PMID: 33581848. https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2021.01.037.
14. *Kamińska D, Kościelska-Kasprzak K, Chudoba P, Hałoń A, Mazanowska O, Gomółkiewicz A et al.* The influence of warm ischemia elimination on kidney injury during transplantation – clinical and molecular study. *Scientific Reports*. 2016; 6 (1): 1–10. PMID: 27808277. https://doi.org/10.1038/srep36118.
15. *Шабунин АВ, Дроздов ПА, Нестеренко ИВ, Макеев ДА, Журавель ОС, Астапович СА*. Факторы риска отсроченной функции почечного трансплантата от посмертного донора. *Трансплантология*. 2022; 14 (3): 265–277. *Shabunin AV, Drozdov PA, Nesterenko IV, Makeev DA, Zhuravel OS, Astapovich SA*. Risk factors for delayed kidney graft function from a deseased donor. *Transplantologiya. The Russian Journal of Transplantation*. 2022; 14 (3): 265–277. https://doi.org/10.23873/2074-0506-2022-14-3-265-277.

*Статья поступила в редакцию 15.02.2023 г.*
*The article was submitted to the journal on 15.02.2023*

**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 почты России – **ПН380**

Ф. СП-1

ВЕСТНИК ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ

ПН380 (индекс издания)

количество комплектов

на 2023 год по месяцам

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

Куда (почтовый индекс) (адрес)

Кому (фамилия, инициалы)

Ф. СП-1

ДОСТАВОЧНАЯ КАРТОЧКА

| ПВ | место | литер |
|---|---|---|
| | | |

на журнал ПН380 (индекс издания)

ВЕСТНИК ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ

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

на 2023 год по месяцам

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

Куда (почтовый индекс) (адрес)

Кому (фамилия, инициалы)

DOI: 10.15825/1995-1191-2023-2-38-48

# ЧРЕСКОЖНЫЙ ОБХОД ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА КАК МЕТОД КРАТКОСРОЧНОЙ МЕХАНИЧЕСКОЙ ПОДДЕРЖКИ КРОВООБРАЩЕНИЯ ПЕРЕД ТРАНСПЛАНТАЦИЕЙ СЕРДЦА У ПАЦИЕНТОВ С ВЫСОКОЙ ПРЕДТРАНСПЛАНТАЦИОННОЙ ЛЕГОЧНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ (СЕРИЯ КЛИНИЧЕСКИХ НАБЛЮДЕНИЙ)

*В.Н. Попцов, В.В. Слободяник, Е.А. Спирина, Н.В. Петухов, А.К. Солодовникова, В.Ю. Воронков, А.А. Догонашева, А.А. Скокова*

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

У определенных категорий пациентов с терминальной сердечной недостаточностью (СН) краткосрочная механическая поддержка кровообращения (МПК) успешно применяется в качестве механического «моста» перед трансплантацией сердца (ТС). При преимущественно левожелудочковом варианте нарушения насосной функции сердца применение изолированного левожелудочкового обхода (ЛЖО), особенно при наличии высокой легочной гипертензии (ЛГ), представляется более физиологическим методом краткосрочной МПК. **Цель исследования:** представление результатов серии клинических наблюдений применения чрескожного левожелудочкового обхода (чЛЖО) перед ТС у потенциальных реципиентов с преимущественно левожелудочковой дисфункцией и сопутствующей высокой ЛГ. **Материалы и методы.** В исследование включили трех потенциальных реципиентов сердца с преимущественно левожелудочковым вариантом СН и высокой предтрансплантационной ЛГ (ЛСС 4,7–6,6 ед. Вуда), нуждавшихся в МПК в связи с прогрессированием гемодинамических нарушений. Для чЛЖО по схеме «левое предсердие – бедренная артерия» использовали стандартную венозную ЭКМО-канюлю (26 F), проведенную из трансфеморального доступа через межпредсердную перегородку в полость левого предсердия. Паракорпоральный центрифужный насос обеспечивал нагнетание крови через стандартную артериальную ЭКМО-канюлю (15 F). **Результаты исследования.** чЛЖО обеспечил эффективную разгрузку левых отделов сердца (снижение ЗДЛА с 27–32 до 15–20 мм рт. ст.), снижение предтрансплантационной ЛГ (снижение ДЛАср. с 45–53 до 28–33 мм рт. ст.) и улучшение системной гемодинамики (увеличение СИ с 1,8–1,9 до 2,1–2,6 л/мин/м$^2$ и АДср. с 56–59 до 70–75 мм рт. ст.), что создало предпосылки для последующего успешного выполнения ТС. На фоне чЛЖО ТПГ снизился с 15–25 до 13–15 мм рт. ст., ЛСС – с 4,7–6,6 до 2,7–3,4 ед. Вуда. Объемная скорость чЛЖО составила 2,9–3,8 л/мин, или 1,38–1,83 л/мин/м$^2$ при частоте оборотов насоса 4700–7100 в мин. Продолжительность чЛЖО составила от 4 (n = 1) до 7 (n = 2) суток. Всем пациентам была выполнена успешная ТС. **Заключение.** чЛЖО является высокоэффективным методом краткосрочной МПК у потенциальных реципиентов с преимущественным нарушением насосной функции левого желудочка и сопутствующей ЛГ, приводя к ее быстрому регрессу на фоне объемной разгрузки левых отделов сердца. Данный метод краткосрочной МПК может быть успешно реализован с использованием стандартных ЭКМО-канюль и центрифужного насоса любой модификации, не требуя дополнительного специального оборудования.

*Ключевые слова: трансплантация сердца, механическая поддержка кровообращения, легочная гипертензия.*

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

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

# PERCUTANEOUS LEFT VENTRICULAR ASSIST DEVICE AS A SHORT-TERM MECHANICAL CIRCULATORY SUPPORT BEFORE HEART TRANSPLANTATION IN PATIENTS WITH HIGH PRE-TRANSPLANT PULMONARY HYPERTENSION (SERIES OF CLINICAL CASES)

*V.N. Poptsov, V.V. Slobodyanik, E.A. Spirina, N.V. Petukhov, A.K. Solodovnikova, V.Yu. Voronkov, A.A. Dogonasheva, A.A. Skokova*

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

In certain categories of patients with end-stage heart failure (HF), short-term mechanical circulatory support (MSC) is successfully used as a mechanical «bridge» to heart transplantation (HTx). In predominantly left-ventricular (LV) dysfunction, the use of isolated coronary artery bypass, especially amidst high pulmonary hypertension (PH), seems to be a more physiological method of short-term MSC. **Objective:** to present the results of a series of clinical cases of the use of percutaneous left ventricular assist device (pLVAD) before HTx in potential recipients with predominantly LV dysfunction and concomitant high PH. **Materials and methods.** Three potential heart recipients with predominantly left-sided HF and high pre-transplant PH (pulmonary vascular resistance, PVR, 4.7–6.6 Wood units) who required MSC due to progression of hemodynamic disorders were included in the study. A standard venous extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) cannula (26 F) was used for percutaneous left atrial-femoral artery (LA–FA) bypass. The cannula was passed from the transfemoral route through the interatrial septum into the left atrial cavity. A paracorporeal centrifugal pump provided blood injection through a standard arterial ECMO cannula (15 F). **Results.** pLVAD unloaded the left ventricle effectively (PCWP reduced from 27–32 to 15–20 mmHg), reduced pre-transplant PH (mean pulmonary artery pressure (mPAP) reduced from 45–53 to 28–33 mmHg) and improved systemic hemodynamics (cardiac index (CI) increased from 1.8–1.9 to 2.1–2.6 l/min/m$^2$ and mean arterial pressure (mAP) from 56–59 to 70–75 mmHg). All these created the prerequisites for subsequent successful HTx. Against the background of pLVAD, transpulmonary pressure gradient (TPG) decreased from 15–25 to 13–15 mmHg, and PVR decreased from 4.7–6.6 to 2.7–3.4 Wood units. pLVAD flow rate was 2.9–3.8 L/min or 1.38–1.83 L/min/m$^2$ at 4700–7100 rpm. pLVAD duration ranged from 4 (n = 1) to 7 (n = 2) days. All patients underwent successful HTx. **Conclusion.** pLVAD is a highly effective method of short-term MSC in potential recipients with predominantly LV dysfunction and concomitant high PH, leading to rapid regression of the dysfunction against the background of left ventricular unloading. This short-term MSC technique can be successfully realized using standard ECMO cannulas and centrifugal pumps of any modification, without requiring additional special equipment.

*Keywords: heart transplantation, mechanical circulatory support, pulmonary hypertension.*

## ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на прогресс в развитии технологии и клинического применения имплантируемых систем левожелудочкового обхода (ЛЖО), краткосрочная механическая поддержка кровообращения (МПК) методом моно-, бивентрикулярного или тотального обхода сердца остается одним из вариантов вспомогательного кровообращения, который успешно применяется у определенных категорий пациентов в качестве механического «моста» перед трансплантацией сердца (ТС) [1, 2].

Ведущим методом краткосрочной МПК перед ТС является веноартериальная экстракорпоральная мембранная оксигенация (ВА ЭКМО), которая независимо от характера нарушения центральной гемодинамики (бивентрикулярная, преимущественно левожелудочковая или преимущественно правожелудочковая ОСН или декомпенсация ХСН) обеспечивает одновременную поддержку системного кровообращения и легочного газообмена [3]. Однако при острой сердечной недостаточности (ОСН) или острой декомпенсации хронической сердечной недостаточности (ХСН) ВА ЭКМО является нефизиологическим методом МПК, применение которого может сопровождаться усугублением систолической дисфункции левого желудочка (ЛЖ), приводя к объемной перегрузке левых отделов сердца и отеку легких [4].

При преимущественно левожелудочковом варианте нарушения насосной функции сердца применение изолированного обхода левого желудочка (ЛЖ) представляется более физиологическим методом краткосрочной МПК [5]. В качестве одного из вари-

антов краткосрочной МПК при данном характере нарушения насосной функции сердца был разработан и внедрен в клиническую практику чрескожный обход ЛЖ, получивший название TandemHeart percutaneous left ventricular assist device – pLVAD (CardiacAssist, Inc; Питсбург, США), обеспечивающий дренирование крови из левого предсердия (ЛП) с помощью специально разработанной канюли, проводимой через бедренную вену и межпредсердную перегородку в полость ЛП, и последующее ее нагнетание с помощью наружного центрифужного насоса через артериальную канюлю в бедренную артерию [6]. Продемонстрирована эффективность TandemHeart pLVAD при ОСН / острой декомпенсации ХСН различного генеза, включая ее использование как метода предтрансплантационой МПК при ТС [7]. Кроме того, применение чрескожного ЛЖО представляется более обоснованным у потенциальных реципиентов с высокой предтрансплантационной легочной гипертензией (ЛГ), что позволяет оценить степень ее регресса на фоне объемной разгрузки левых отделов сердца и сделать выбор между целесообразностью неотложной ТС или длительной МПК методом имплантируемого ЛЖО [8].

Нами был разработан альтернативный подход к осуществлению чрескожного ЛЖО с помощью стандартных венозной и артериальной ЭКМО-канюль и центрифужного насоса как метода краткосрочной МПК у потенциальных реципиентов сердца, что может способствовать повышению доступности данного метода вспомогательного кровообращения.

Целью исследования явилось представление результатов собственной серии клинических наблюдений применения чрескожного ЛЖО как метода предтрансплантационной МПК перед ТС у потенциальных реципиентов с преимущественно левожелудочковой дисфункцией и сопутствующей высокой ЛГ.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Программа применения чрескожного ЛЖО как метода краткосрочной предтрансплантационной МПК у потенциальных реципиентов сердца начата в 2022 г., что составило 2,9% от всех случаев применения краткосрочной МПК перед ТС в данном году (3 из 103). Краткосрочную МПК применили при 103 (48,6%) из 212 ТС, выполненных в 2022 г.

Показаниями к применению данного метода предтрансплантационной МПК считали клинические, гемодинамические и эхокардиографические проявления преимущественно левожелудочковой дисфункции, сопряженной с высокой предтрансплантационной легочной гипертензией (табл. 1).

В исследование включили трех пациентов (все мужчины), основные параметры клинического, лабораторного и инструментального обследования которых перед установкой чрескожного ЛЖО представлены в табл. 2.

Таблица 1

**Показания к применению чрескожного левожелудочкового обхода как метода механической поддержки кровообращения перед трансплантацией сердца**

**Indications for pLVAD as a method of mechanical circulatory support before heart transplantation**

| |
|---|
| САД <90 мм рт. ст. |
| АДср. <60 мм рт. ст. |
| ДПП <14 мм рт. ст. |
| ЗДЛА >25 мм рт. ст. |
| СИ <2,0 л/мин/м$^2$ |
| VIS >5 |
| ДПП/ЗДЛА <0,8 |
| TAPSE >1,8 см |
| ТПГ >12 мм рт. ст. |
| ЛСС >3,5 ед. Вуда |
| Отсутствие тромбоза левого предсердия |
| Отсутствие стенозирующего атеросклероза (более 25%) артерий нижних конечностей |

*Примечание.* САД – систолическое артериальное давление; АДср. – среднее артериальное давление; ДПП – давление правого предсердия; ЗДЛА – заклинивающее давление легочной артерии; СИ – сердечный индекс; VIS – шкала вазоактивной и инотропной терапии; TAPSE – систолическая экскурсия плоскости кольца трикуспидального клапана; ТПГ – транспульмональный градиент; ЛСС – легочное сосудистое сопротивление.

*Note.* САД – systolic blood pressure; АДср. – mean arterial pressure; ДПП – right atrial pressure; ЗДЛА – pulmonary capillary wedge pressure; СИ – cardiac index; VIS – vasoactive inotropic score; TAPSE – tricuspid annular plane systolic excursion; ТПГ – transpulmonary pressure gradient; ЛСС – pulmonary vascular resistance.

Установку чрескожного обхода осуществляли в условиях интубационного наркоза в операционной, оснащенной рентгеноскопической установкой. Также использовали транспищеводное эхокардиографическое исследование для контроля пункции межпредсердной перегородки (МПП) и позиционирования кончика венозной ЭКМО-канюли в просвете левого предсердия. Канюляцию ЛП осуществляли из чрескожного трансфеморального венозного доступа аналогично с ранее описанной запатентованной методикой дренирования ЛП с целью объемной разгрузки (декомпрессии) левых отделов во время проведения периферической ВА ЭКМО [9, 10]. Различие заключалось в проведении через МПП в полость ЛП венозной ЭКМО-канюли большего диаметра (во всех случаях использовали венозную ЭКМО-канюлю размером 26 F).

Основные этапы установки чрескожного ЛЖО:

1. Индукция анестезии и интубация трахеи.
2. Катетеризация легочной артерии (термодилюционный катетер типа Свана–Ганца).
3. Установка датчика для транспищевого эхокардиографического исследования.
4. Пункция и катетеризация правой или левой бедренной артерии (создание гарантированного сосудистого доступа) для облегчения последующей установки периферической артериальной ЭКМО-канюли.
5. Пункция и катетеризация (однопросветный катетер, диаметр 14 G) бедренной артерии на стороне последующей канюляции артериальной ЭКМО-канюли для обеспечения гарантированной перфузии нижней конечности (обязательное условие).

Таблица 2

**Данные клинического, лабораторного и инструментального обследования потенциальных реципиентов сердца перед установкой чрескожного левожелудочкового обхода (n = 3)**

**Data of clinical, laboratory and instrumental examination of potential heart recipients before pLVAD implantation (n = 3)**

| Пациент | Параметр | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Пол | Возраст, лет | Рост, см | Вес, кг | Поверхность тела, м$^2$ | НК, ст. | ФК | МА | VIS | Лист ожидания, дней |
| 1 | М | 41 | 176 | 60 | 1,75 | 2Б | 4 | нет | 12 | 7 |
| 2 | М | 40 | 184 | 87 | 2,11 | 2Б | 4 | да | 6 | 4 |
| 3 | М | 57 | 182 | 86 | 2,10 | 2Б | 4 | нет | 8 | 15 |
| Пациент | Параметр | | | | | | | | | |
| | ЛП, см | ЛП, мл | ПЖ, см | КДОЛЖ, мл | ФИЛЖ, % | МК, степень | ТК, степень | TAPSE, см | ЧСС | АДср., мм рт. ст. |
| 1 | 4,7 | 85 | 2,6 | 179 | 18 | 3,0 | 1,5 | 2,3 | 105 | 59 |
| 2 | 6,4 | 165 | 3,4 | 374 | 16 | 3,0 | 2,0 | 1,9 | 94 | 56 |
| 3 | 5,3 | 112 | 3,2 | 228 | 19 | 3,0 | 2,0 | 2,2 | 110 | 57 |
| Пациент | Параметр | | | | | | | | | |
| | ДПП, мм рт. ст. | СДЛА, мм рт. ст. | ДЛАср., мм рт. ст. | ЗДЛА, мм рт. ст. | СИ, л/мин/м$^2$ | ТПГ, мм рт. ст. | ЛСС, ед. Вуда | pHв | BEв, мм рт. ст. | Лактат, ммоль/л |
| 1 | 8 | 69 | 53 | 32 | 1,9 | 21 | 6,4 | 7,38 | –2,8 | 2,1 |
| 2 | 10 | 74 | 54 | 29 | 1,8 | 25 | 6,6 | 7,37 | –0,4 | 1,9 |
| 3 | 11 | 62 | 45 | 27 | 1,8 | 18 | 4,7 | 7,44 | 1,6 | 2,4 |
| Пациент | Параметр | | | | | | | | | |
| | $PbO_2$, мм рт. ст. | $SbO_2$, % | Na, ммоль/л | Мочевина, ммоль/л | Креатинин, мкмоль/л | Общий билирубин, мкмоль/л | АЛТ, ед./л | АСТ, ед./л | Общий белок, ммоль/л | МНО |
| 1 | 35,7 | 66,6 | 128 | 3,6 | 40,3 | 25,5 | 6,6 | 12,9 | 67,2 | 1,31 |
| 2 | 39,0 | 72,0 | 131 | 9,7 | 39,8 | 52,1 | 17,3 | 28,7 | 58,7 | 1,33 |
| 3 | 27,0 | 54,3 | 142 | 11,2 | 84,1 | 144,6 | 38,6 | 117,7 | 57,6 | 1,31 |

*Примечание.* НК – недостаточность кровообращения по классификации Н.Д. Стражеско – В.Х. Василенко; ФК – функциональный класс по классификации NYHA; МА – мерцательная аритмия; VIS – шкала вазоактивной и инотропной терапии; ЛП – левое предсердие; ПЖ – правый желудочек; КДОЛЖ – конечно-диастолический объем левого желудочка; ФИЛЖ – фракция изгнания левого желудочка; МК – митральный клапан; ТК – трикуспидальный клапан; TAPSE – систолическая экскурсия плоскости кольца трикуспидального клапана; ЧСС – частота сердечных сокращений; АДср. – среднее артериальное давление; ДПП – давление правого предсердия; СДЛА – систолическое давление легочной артерии; ДЛАср. – среднее давление легочной артерии; ЗДЛА – заклинивающее давление легочной артерии; СИ – сердечный индекс; ТПГ – транспульмональный градиент; ЛСС – легочное сосудистое сопротивление; АЛТ – аланинаминотрансфераза; АСТ – аспартатаминотрансфераза; МНО – международное номенклатурное отношение.

*Note.* НК – heart failure class according to Strazhesko–Vasilenko; ФК – New York Heart Association (NYHA) functional class; МА – atrial fibrillation; VIS – vasoactive inotropic score; ЛП – left atrium; ПЖ – right ventricle; КДОЛЖ – left ventricular end-diastolic volume; ФИЛЖ – left ventricular ejection fraction; МК – mitral valve; ТК – tricuspid valve; TAPSE – tricuspid annular plane systolic excursion; ЧСС – heart rate; АДср. – mean arterial pressure; ДПП – right atrial pressure; СДЛА – pulmonary artery systolic pressure; ДЛАср. – mean pulmonary artery pressure; ЗДЛА – pulmonary capillary wedge pressure; СИ – cardiac index; ТПГ – transpulmonary pressure gradient; ЛСС – pulmonary vascular resistance; АЛТ – alanine transaminase; АСТ – aspartate transaminase; МНО – international normalized ratio.

6. Пункция правой бедренной вены и проведение через ее просвет в восходящем направлении длинной стальной транссептальной иглы Endrys для пункции ЛП, включающая изогнутую наружную иглу (диаметр 17 G, длина 75 см) и внутреннюю иглу (диаметр 19 G) с изогнутым вытянутым кончиком 22 G.
7. Транссептальная пункция ЛП под визуальным контролем с помощью рентгеноскопической и эхокардиографической визуализации (рис. 1).
8. Проведение в полость ЛП транссептального катетера (диаметр 8,5 F) (см. рис. 1).
9. Проведение в полость ЛП и далее в одну из легочных вен по транссептальному катетеру сверхжесткого проводника (Amplatz Super Stiff J-tip guidewire 260 см) (рис. 2).
10. Последовательная дилатация пункционного отверстия в МПП с помощью дилататоров от венозных ЭКМО-канюль возрастающего диаметра (18, 20, 22, 24 и 26 F).
11. Проведение венозной ЭКМО-канюли через МПП в полость ЛП (рис. 3).
12. Установка артериальной ЭКМО-канюли в бедренную артерию (диаметр 15 F).
13. Соединение венозной и артериальной ЭКМО-канюль с магистралями паракорпорального контура ЛЖО (рис. 4).
14. Начало работы чрескожного паракорпорального ЛЖО.

Для чрескожного ЛЖО использовали аппарат вспомогательного кровообращения Medos Deltastream с центрифужным насосом (объем заполнения 16 мл) (см. рис. 4).

Гипокоагуляцию осуществляли постоянной инфузией нефракционированного гепарина, поддерживая целевой уровень активированного времени свертывания крови на уровне 140–160 с.

Непосредственно перед началом искусственного кровообращения (ИК) во время операции по ТС под транспищеводным эхокардиографическим контролем венозную ЭКМО-канюлю низводили из полости ЛП до уровня внутрипеченочного отдела нижней полой вены, что соответствовало отметке 35–40 см у места чрескожного входа. На этом этапе через образованный искусственный дефект в МПП происходил сброс крови слева направо (рис. 5). На всех последующих этапах, включая период ИК и ранний постперфузионный период и учитывая отсутствие в контуре мембранного оксигенатора, экстракорпоральный кровоток поддерживали на уровне не более 0,5 л/мин для уменьшения примешивания венозной крови, нагнетаемой через бедренную артериальную ЭКМО-канюлю в системный кровоток. В случае развития тяжелой дисфункции сердечного трансплантата, требующей посттрансплантационной МПК, в экстракорпоральный контур интегрировали мембранный оксигенатор и переходили таким образом на периферическую ВА ЭКМО. При стабильной оптимальной функции сердечного трансплантата и отсутствии признаков развития отсроченной дисфункции пересаженного сердца производили удаление венозной и артериальной ЭКМО-канюль не ранее 12 ч после окончания оперативного вмешательства по ТС.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Во всех наблюдениях произвели неосложненную пункцию и канюляцию ЛП из чрескожного трансфеморального венозного доступа. Продолжительность оперативного вмешательства по установке

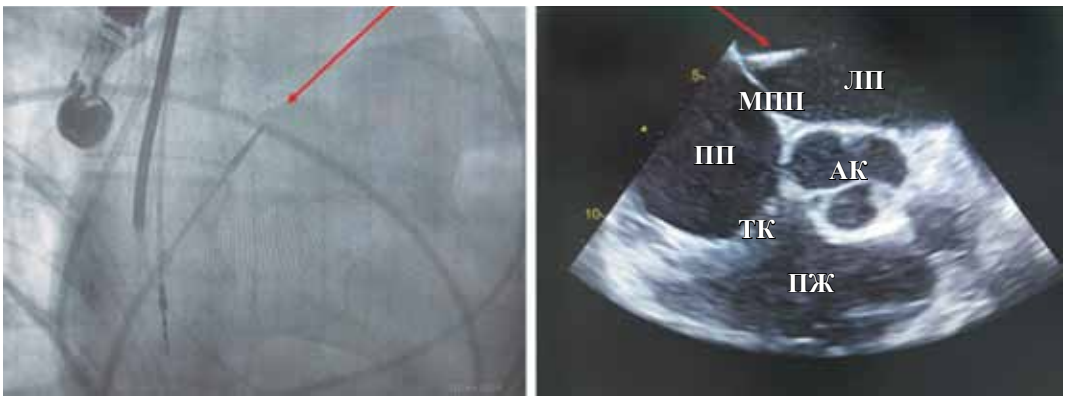


Рис. 1. Транссептальная пункция левого предсердия и проведение в ее полость транссептального катетера (диаметр 8,5 F, красные стрелки) под визуальным контролем с помощью рентгеноскопической и эхокардиографической визуализации. АК – аортальный клапан; ЛП – левое предсердие; МПП – межпредсердная перегородка; ПЖ – правый желудочек; ПП – правое предсердие; ТК – трикуспидальный клапан

Fig. 1. Transseptal puncture for access to the left atrium and insertion of transseptal catheter (8.5 F diameter, red arrows) into its cavity under visual control using echocardiographic-fluoroscopic fusion imaging. АК – aortic valve; ЛП – left atrium; МПП – interatrial septum; ПЖ – right ventricle; ПП – right atrium; ТК – tricuspid valve

чрескожного обхода составила от 48 до 74 мин. Все пациенты были активизированы в пределах 1 ч после окончания оперативного вмешательства и до момента выполнения ТС находились на самостоятельном дыхании на фоне оксигенотерапии (4–6 л/мин). Применение чрескожного ЛЖО обеспечило

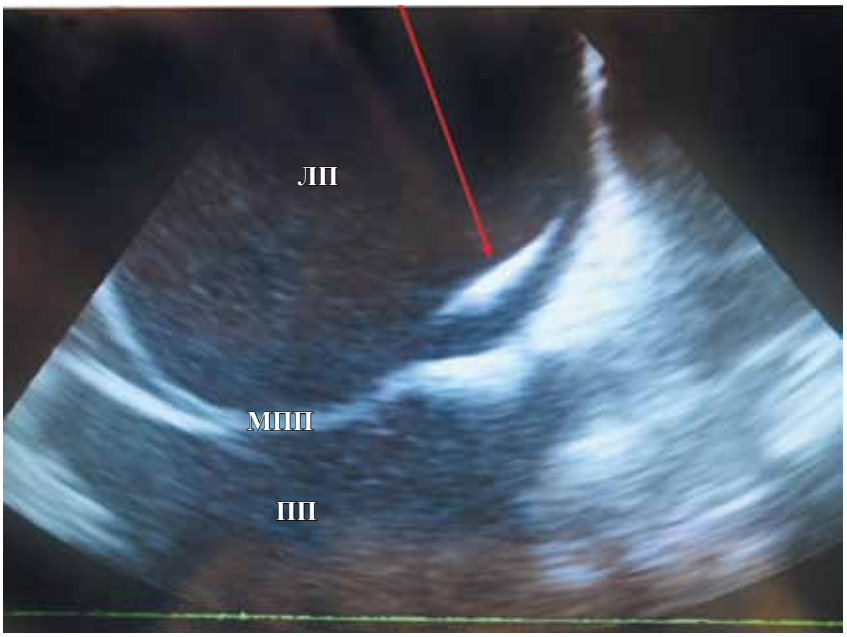


Рис. 2. Проведение в полость левого предсердия по транссептальному катетеру сверхжесткого проводника (Amplatz Super Stiff J-tip guidewire 260 см, красная стрелка). ЛП – левое предсердие; МПП – межпредсердная перегородка; ПП – правое предсердие

Fig. 2. Insertion of a super-stiff guidewire (Amplatz Super Stiff J-tip guidewire 260 cm, red arrow) into the left atrial cavity via transseptal catheter. ЛП – left atrium; МПП – interatrial septum; ПП – right atrium

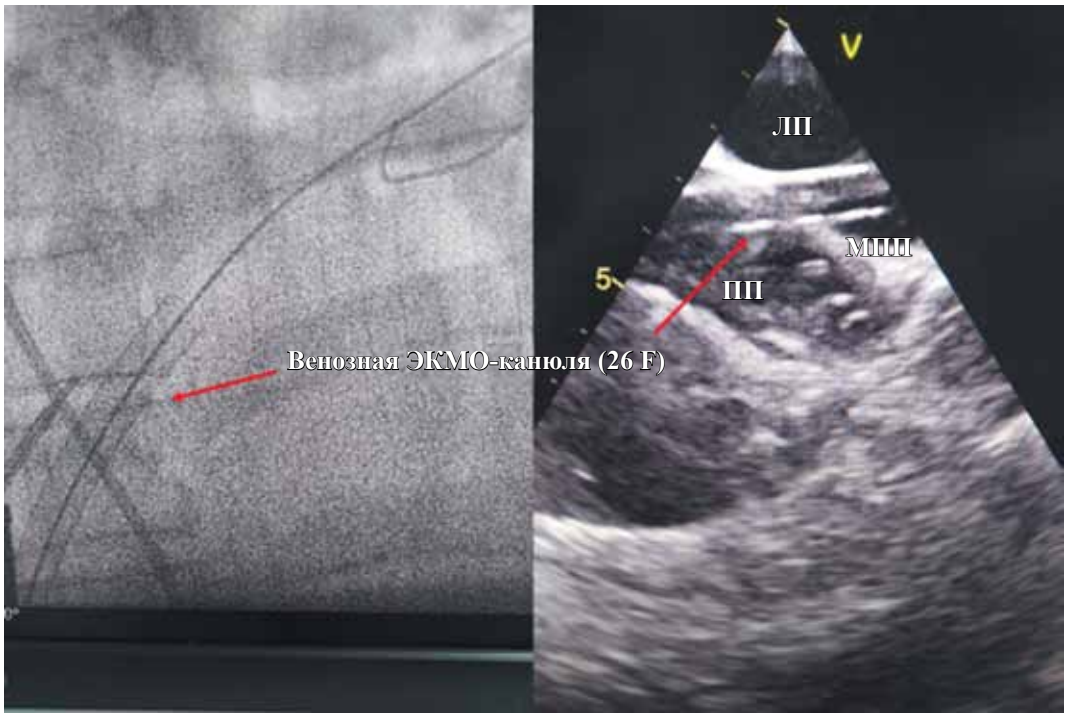


Рис. 3. Проведение венозной ЭКМО-канюли (26 F) через межпредсердную перегородку в полость левого предсердия. ЛП – левое предсердие; МПП – межпредсердная перегородка; ПП – правое предсердие

Fig. 3. Insertion of a venous ECMO cannula (26 F) through the interatrial septum into the left atrial cavity. ЛП – left atrium; МПП – interatrial septum; ПП – right atrium

эффективную разгрузку левых отделов сердца (снижение ЗДЛА с 27–32 до 15–20 мм рт. ст.), уменьшение выраженности предтрансплантационной ЛГ (снижение ДЛАср. с 45–53 до 28–33 мм рт. ст.) и улучшение системной гемодинамики (увеличение СИ с 1,8–1,9 до 2,1–2,6 л/мин/м$^2$ и АДср. с 56–59 до 70–75 мм рт. ст.), что создало предпосылки для последующего успешного выполнения ТС (табл. 3). На фоне чрескожного ЛЖО ТПГ снизился с 21 до 13 (пациент 1), с 25 до 15 (пациент 2), с 18 до 14 мм рт. ст. (пациент 3), ЛСС – с 6,4 до 2,9 (пациент 1), с 6,6 до 3,4 (пациент 2), с 4,7 до 2,7 ед. Вуда (пациент 3). Объемная скорость чрескожного ЛЖО составила от 2,9 до 3,8 л/мин, или от 1,38 до 1,83 л/мин/м$^2$ при частоте оборотов центрифужного насоса от 4700 до 7100 в мин. Продолжительность предтрансплантационного применения чрескожного ЛЖО составила от 4 (n = 1) до 7 (n = 2) суток.

Пациентам была выполнена ТС от доноров мужского пола 54 (п. 1), 40 (п. 2) и 46 (п. 3) лет с длительностью ишемии соответственно 167, 150 и 160 мин. У двух пациентов (п. 1 и п. 2) отсутствовали проявления ранней дисфункции сердечного трансплантата, что позволило удалить экстракорпоральный контур предтрансплантационного ЛЖО через 5 и 7 ч после окончания оперативного вмешательства. Наибольшие дозировки допамина и адреналина в раннем посттрансплантационном периоде у обоих пациентов составили соответственно 6 мкг/кг/мин и 40 нг/кг/мин. У пациента 3 имелись гемодинамические и эхокардиографические признаки бивентрикулярной дисфункции сердечного трансплантата, что потребовало посттрансплантационной МПК. В экстракор-

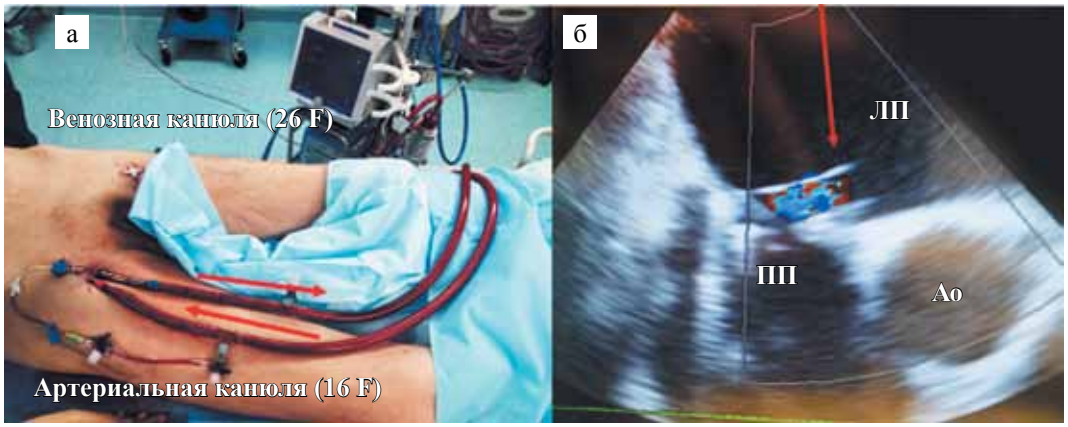


Рис. 4. Внешний вид пациента с чрескожным левожелудочковым обходом (а, красными стрелками указано направление потока крови) и дренирование крови из левого предсердия в венозную ЭКМО-канюлю (26 F) (б, красная стрелка). Ао – аорта; ЛП – левое предсердие; ПП – правое предсердие

Fig. 4. Appearance of a patient with pLVAD (a, red arrows indicate the direction of blood flow) and blood drainage from left atrium into venous ECMO cannula (26 F) (б, red arrow). Ao – aorta; ЛП – left atrium; ПП – right atrium

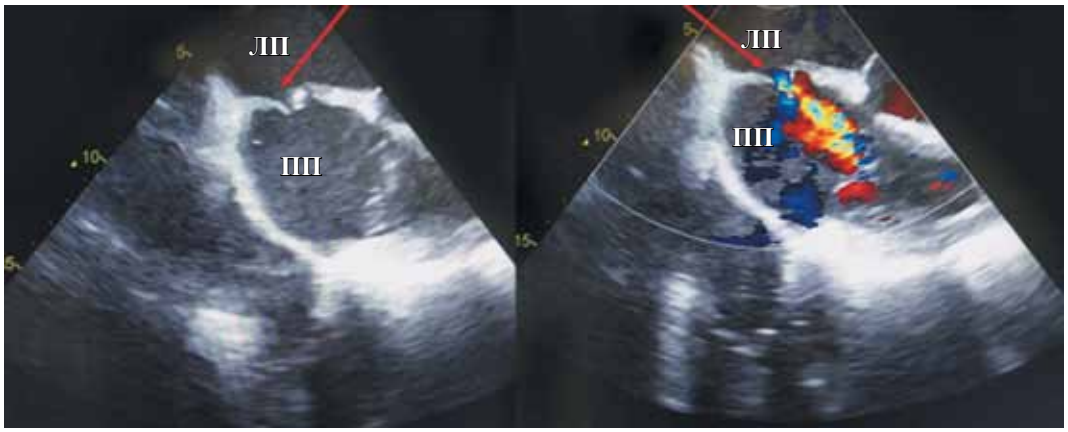


Рис. 5. Дефект межпредсердной перегородки (красные стрелки), сформированный после удаления из полости левого предсердия дренажной канюли, со сбросом крови слева направо

Fig. 5. Atrial septal defect (red arrows) formed after removal of the drainage cannula from the left atrial cavity, with left-to-right blood shunt

поральный контур предтрансплантационного ЛЖО был интегрирован мембранный оксигенатор, и он был трансформирован в периферическую ВА ЭКМО, объемная скорость кровотока, частота оборотов центрифужного насоса и продолжительность применения которой составили соответственно 2,7 л/мин, 6800 в мин и трое суток. Все пациенты выжили и были выписаны из стационара. На момент окончания периода наблюдения (31.12.2022) все пациенты живы. Период наблюдения за пациентами составил 119 (пациент 1), 90 (пациент 2) и 35 (пациент 3) дней.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Несмотря на то что, по данным ISHLT, более 50% ТС выполняется у пациентов с длительной предтрансплантационной МПК методом имплантированного ЛЖО, отдельные трансплантационные центры, как правило, имеющие большой ежегодный объем пересадок сердца, используют в том числе и практику их неотложного выполнения у пациентов с краткосрочной МПК [11]. Наиболее часто используемым методом краткосрочной МПК перед ТС остается ВА ЭКМО преимущественно с периферической методикой ее проведения [12]. ВА ЭКМО, одновременно улучшая системное кровообращение и газообмен, у большей части пациентов обеспечивает дожитие до неотложной ТС [13]. Однако являясь нефизиологическим методом МПК у пациентов с ОСН или острой декомпенсацией ХСН, к которым относится большая часть потенциальных реципиентов сердца, проведение ВА ЭКМО может сопровождаться усугублением левожелудочковой дисфункции, приводя к объемной

Таблица 3

**Параметры центральной гемодинамики до и на фоне чрескожного левожелудочкового обхода (n = 3)**

**Central hemodynamic parameters before and against the background of pLVAD (n = 3)**

| Параметр | Этап исследования | Пациент 1 | Пациент 2 | Пациент 3 |
|---|---|---|---|---|
| ЧСС, в мин | До ЛЖО | 105 | 94 | 110 |
| | 1-е сутки ЛЖО | 89 | 91 | 93 |
| | Перед ТС | 84 | 90 | 88 |
| АДср., мм рт. ст. | До ЛЖО | 59 | 56 | 57 |
| | 1-е сутки ЛЖО | 69 | 73 | 72 |
| | Перед ТС | 70 | 71 | 75 |
| ДПП, мм рт. ст. | До ЛЖО | 9 | 10 | 11 |
| | 1-е сутки ЛЖО | 10 | 9 | 10 |
| | Перед ТС | 8 | 8 | 9 |
| ДЛАср., мм рт. ст. | До ЛЖО | 53 | 54 | 45 |
| | 1-е сутки ЛЖО | 40 | 38 | 32 |
| | Перед ТС | 33 | 33 | 28 |
| ЗДЛА, мм рт. ст. | До ЛЖО | 32 | 29 | 27 |
| | 1-е сутки ЛЖО | 22 | 19 | 18 |
| | Перед ТС | 20 | 18 | 15 |
| СВ, л/мин | До ЛЖО | 3,3 | 3,8 | 3,8 |
| | 1-е сутки ЛЖО | 4,5 | 4,3 | 4,7 |
| | Перед ТС | 4,5 | 4,4 | 4,9 |
| СИ, л/мин/м$^2$ | До ЛЖО | 1,9 | 1,8 | 1,8 |
| | 1-е сутки ЛЖО | 2,6 | 2,0 | 2,2 |
| | Перед ТС | 2,6 | 2,1 | 2,3 |
| ТПГ, мм рт. ст. | До ЛЖО | 21 | 25 | 18 |
| | 1-е сутки ЛЖО | 18 | 19 | 14 |
| | Перед ТС | 13 | 15 | 13 |
| ЛСС, ед. Вуда | До ЛЖО | 6,4 | 6,6 | 4,7 |
| | 1-е сутки ЛЖО | 4,0 | 4,4 | 3,0 |
| | Перед ТС | 2,9 | 3,4 | 2,7 |

*Примечание.* ЧСС – частота сердечных сокращений; АДср. – среднее артериальное давление; ДПП – давление правого предсердия; ДЛАср. – среднее давление легочной артерии; ЗДЛА – заклинивающее давление легочной артерии; СВ – сердечный выброс; СИ – сердечный индекс; ТПГ – транспульмональный градиент; ЛСС – легочное сосудистое сопротивление.

*Note.* ЧСС – heart rate; АДср. – mean arterial pressure; ДПП – right atrial pressure; ДЛАср. – mean pulmonary artery pressure; ЗДЛА – pulmonary capillary wedge pressure; СВ – cardiac output; СИ – cardiac index; ТПГ – transpulmonary pressure gradient; ЛСС – pulmonary vascular resistance.

перегрузке левых отделов сердца, застою крови в малом круге кровообращения и отеку легких [14]. Для разрешения данного патологического состояния предложены различные методы механической объемной разгрузки левых отделов сердца [15].

У потенциальных реципиентов сердца с преимущественным нарушением насосной функции ЛЖ (например, ИБС) применение изолированного ЛЖО представляется более физиологическим и эффективным методом предтрансплантационной МПК. Однако осуществление паракорпорального ЛЖО требует выполнения стернотомии с центральной канюляцией левого предсердия или левого желудочка и аорты, что повышает травматичность не только ЛЖО, но и последующей ТС, которая становится повторным оперативным вмешательством с повышенным риском перитрансплантационных осложнений и летального исхода [17].

Внедрение в клиническую практику методики чрескожного ЛЖО, реализованной в виде TandemHeart pLVAD, было направлено на повышение эффективности и снижение травматичности МПК у пациентов с преимущественно левожелудочковым вариантом ОСН или декомпенсацией ХСН [17]. Метод основан на трансфеморальной трансвенозной канюляции (диаметр 21 F) ЛП специально разработанной канюлей с клювовидным, изогнутым дилататором для облегчения прохождения через межпредсердную перегородку. Артериальная кровь, дренируемая из ЛП, нагнетается с помощью центрифужного насоса через бедренную канюлю (диаметр 15 F) в системное кровообращение [18]. Канюляция ЛП производится под рентгеноскопическим и эхокардиографическим контролем в условиях рентгеноперационной. Продолжительность процедуры постановки чрескожного ЛЖО составляет от 14 до 25 мин [19].

Продемонстрирован успешный опыт применения TandemHeart pLVAD как высокоэффективного метода краткосрочной МПК перед ТС, а также при тяжелом отторжении сердечного трансплантата [7]. Также накоплен опыт успешного применения данной методики краткосрочной МПК при лечении пациентов с фульминантным течением острого миокардита различной этиологии, ОИМ, а также в качестве метода превентивной (профилактической) МПК при выполнении эндоваскулярных коронарных вмешательств и транскатетерного протезирования аортального клапана высокого операционного риска [20, 21]. TandemHeart pLVAD использовали в качестве краткосрочной МПК перед имплантацией систем длительного ЛЖО (bridge to bridge) [8].

Как и любой высокотехнологический метод лечения, краткосрочная МПК, осуществляемая с помощью TandemHeart pLVAD, имеет как свои достоинства, так и недостатки, связанные с риском возникновения различных осложнений. Трансфеморальная трансвенозная канюляция ЛП требует выполнения в условиях рентген-операционной и рентгенэндоваскулярными хирургами с большим опытом транссептальной пункции ЛП, учитывая риск перфорации аорты и предсердий. Канюляция ЛП сопряжена с риском тромбообразования на левопредсердном участке канюли, что повышает риск кардиоэмболических осложнений [22]. При недостаточной глубине проведения дренажной канюли в полость ЛП возможна ее дислокация в правое предсердие, что приведет к нагнетанию венозной крови в системный кровоток и потребует или прекращения МПК, или ее трансформации в ВА ЭКМО путем интегрирования в контур мембранного оксигенатора [22]. Кроме того, существует риск ишемии нижней конечности в связи с канюляцией возвратной (артериальной) канюлей бедренной артерии. К возможным осложнениям относятся: кровотечение и гнойное воспаление в месте бедренной канюляции, артериовенозная фистула, повреждение бедренного нерва, лимфоцеле и др. [23]. Частота возникновения сосудистых осложнений при применении чрескожного ЛЖО составляет от 4,0 до 9,7 [24].

Внедрение транскатетерных, мини-инвазивных методов ЛЖО (например, Impella) привело к сокращению частоты применения TandemHeart pLVAD [1]. Однако применение данного метода МПК представляется до сих пор актуальным у потенциальных реципиентов сердца с преимущественно левожелудочковым вариантом нарушения внутрисердечной гемодинамики при реализации программы неотложной ТС с использованием краткосрочных методик вспомогательного кровообращения.

Учитывая отсутствие в РФ зарегистрированного TandemHeart pLVAD, мы предположили, что данная методика краткосрочной МПК может быть успешно реализована путем использования стандартной венозной ЭКМО-канюли необходимого размера и конструкции, которая при наличии рентгенэндоваскулярных хирургов с опытом транссептальной пункции ЛП может быть проведена из трансфеморального венозного доступа через правое предсердие и МПП в полость ЛП. Нами была выбрана венозная ЭКМО-канюля производства Medos, которая в отличие от других аналогов не имеет боковых дренажных отверстий и обеспечит изолированное дренирование артериальной крови из ЛП без примешивания венозной крови из правых отделов сердца и нижней полой вены. Кроме того, в качестве одного из показаний для применения чрескожного ЛЖО была острая декомпенсация ХСН с преимущественно левожелудочковым вариантом нарушения внутрисердечной гемодинамики, требующая краткосрочной МПК и сопровождающаяся высокой, пограничной предтрансплантационной ЛГ.

Серия представленных клинических наблюдений продемонстрировала высокую гемодинамическую эффективность и безопасность данной методики осуществления предтрансплантационной краткосрочной МПК методом чрескожного паракорпорального ЛЖО. Применение данного метода МПК обеспечило не только улучшение системной гемодинамики, но и регресс ЛГ до уровня, позволяющего результативно выполнить ТС по ортотопической методике без развития выраженной правожелудочковой дисфункции сердечного трансплантата. При отсутствии быстрого регресса ЛГ чрескожный ЛЖО может быть использован в качестве промежуточного метода вспомогательного кровообращения перед имплантацией системы пролонгированного ЛЖО (bridge-to-bridge) [25]. При возникновении ранней дисфункции пересаженного сердца контур предтрансплантационного ЛЖО может быть использован для посттрансплантационного проведения ВА ЭКМО после интегрирования мембранного оксигенатора. Представленный нами опыт проведения краткосрочной МПК методом чрескожного ЛЖО может быть использован в отечественной медицинской практике не только в качестве вспомогательного кровообращения перед ТС, но и в других клинических ситуациях, сопровождаемых критическим нарушением насосной функции ЛЖ.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, чрескожный ЛЖО является высокоэффективным методом краткосрочной МПК у потенциальных реципиентов с преимущественным нарушением насосной функции левого желудочка и сопутствующей высокой легочной гипертензией, приводя к ее быстрому регрессу на фоне объемной разгрузки левых отделов сердца. В зависимости от клинической ситуации чрескожный ЛЖО может рассматриваться в качестве метода краткосрочной МПК перед неотложной ТС или имплантацией систем длительной МПК. Данный метод краткосрочной МПК может быть успешно реализован с использованием стандартных ЭКМО-канюль для трансфеморальной канюляции бедренных сосудов и центрифужного насоса любой модификации, не требуя дополнительного специального оборудования.

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES


1. *Brown LJ, Estep JD*. Temporary percutaneous mechanical circulatory support in advanced heart failure. *Heart Failure Clin*. 2016; 12: 385–398.
2. *Reich H, Ramzy D, Moriguchi J et al*. Acceptable post-heart transplant outcomes support temporary MCS prioritization in the New OPTN/UNOS heart allocation policy. *Transplant Proc.* 2021; 53: 353–357.
3. *Gonzales MH, Acharya D, Lee S et al*. Improved survival after heart transplantation in patients bridged with extracorporeal membrane oxygenation in new allocation system. *J Heart Lung Transplant*. 2021; 40: 149–157.
4. *Xie A, Forrest P, Loforte A*. Left ventricular decompression in veno-arterial extracorporeal membrane oxygenation. *Ann Cardiothorac Surg*. 2019; 8: 9–18.
5. *Smith L, Peters A, Mazimba S et al*. Outcomes of patients with cardiogenic shock treated with TandemHeart percutaneous ventricular assist device: importance of support indication and definitive therapies as determinants of prognosis. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2018; 92: 1173–1181.
6. *Kar B, Adkins LE, Civitello AB et al*. Clinical experience with the TandemHeart percutaneous ventricular assist device. *Tex Haert Inst J*. 2006; 33 (2): 111–115.
7. *Bruckner BA, Jacob LP, Gregoric ID et al*. Clinical experience with the TandemHeart percutaneous ventricular assist device as bridge to cardiac transplantation. *Tex Heart Inst J.* 2008; 35: 447–450.
8. *Gregoric ID, Jacob LP, La Francesca S et al*. The TandemHeart as a bridge to a long-term axial-flow left ventricular assist device. *Tex Heart Inst J*. 2008; 35: 125–129.
9. *Попцов ВН, Спирина ЕА, Слободянник ВВ*. Способ гемодинамической разгрузки левого желудочка при проведении периферической вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенации (Патент на изобретение № 2526880, зарегистрировано 03.07.2014 г.). *Poptsov VN, Spirina EA, Slobodyannik VV.* Sposob gemodinamicheskoy razgruzki levogo zheludochka pri provedenii perifericheskoy veno-arterial'noy ekstrakorporal'noy membrannoy oksigenatsii (Patent na izobretenie № 2526880, zaregistrirovano 03.07.2014 g.).
10. *Попцов ВН, Спирина ЕА, Слободянник ВВ, Захаревич ВМ, Еремеева ОА, Масютин СА*. Чрескожное трансфеморальное дренирование левого предсердия как метод объемной разгрузки левого желудочка при проведении периферической вено-артериальной мембранной оксигенации у потенциальных реципиентов сердца. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2013; 15 (4): 70–83. *Poptsov VN, Spirina EA, Slobodyannik VV, Zakharevich VM, Eremeeva OA, Masyutin SA*. Chreskozhnoe transfemoral'noe drenirovanie levogo predserdiya kak metod ob''emnoy razgruzki levogo zheludochka pri provedenii perifericheskoy veno-arterial'noy membrannoy oksigenatsii u potentsial'nykh retsipientov serdtsa. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2013; 15 (4): 70–83.
11. *Viera JL, Ventura HO, Mehra MR*. Mechanical circulatory support in advanced heart failure: 2022 and beyond. *Progress in Cardiovasc Dis*. 2020; 63: 630–639.
12. *Hebert M, Noly PE, Lamarche Y et al*. Early and long-term outcomes after direct bridge-to-transplantation with extracorporeal membrane oxygenation. *Heart Surg Forum.* 2021; 24: E1033–E1042.

13. *Hess NR, Hickey GW, Sultan I, Kilic A*. Extracorporeal membrane oxygenation bridge to heart transplantation: trends following the allocation change. *J Card Surg*. 2020 Oct 14. doi: 10.1111/jocs. 15118.
14. *Guglin M, Zucker MJ, Neumann FJ*. Venoarterial ECMO for adults: JACC scientific expert panel. *J Am Coll Cardiol*. 2019; 73: 698–716.
15. *Tepper S, Masood MF, Baltazar Garsia M et al*. Left ventricular unloading by Impella device versus surgical vent during extracorporeal life support. *Ann Thorac Surg*. 2017; 104: 861–867.
16. *Ando M, Garan AR, Takayama H et al*. A continuous-flow external ventricular assist device for cardiogenic shock: evolution over 10 years. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2018; 156: 157–165.
17. *Thiele H, Sick P, Boudriot T, Diederich KW et al*. Randomized comparison of intra-aortic balloon support with a percutaneous left ventricular assist device in patients with revascularized acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock. *Eur Heart J.* 2005; 26: 1276–1283.
18. *Rajdev S, Krishnan P, Irani A et al*. Clinical application of prophylactic percutaneous left ventricular assist device (TandemHeart) in high-risk percutaneous coronary intervention using an arterial preclosure technique: single-center experience. *J Invasive Cardiol.* 2008; 20: 67–72.
19. *Sharma AB, Kovacic JC, Kini AS*. Percutaneous left ventricular assist device devices. *Intervent Cardiol Clin*. 2012; 1: 509–622.
20. *Alli OO, Singh IM, Holmes DR et al*. Percutaneous left ventricular assist device with TandemHeart for high-risk percutaneous coronary intervention: the Mayo clinic experience. *Catheterization Cardiovasc Interv*. 2012; 80: 726–734.
21. *Khalife W, Kar B*. The TandemHeart pLVAD in the treatment of acute fulminant myocarditis. *Tex Heart Inst J.* 2007; 34: 209–213.
22. *Gregoric ID, Bruckner BF, Jacob L et al*. Techniques and complication of TandemHeart ventricular assist device insertion during cardiac procedure. *ASAIO J*. 2009; 55: 251–254.
23. *Kreidieh B, Gray WA*. The road to support is paved with good interventions: vascular complications of percutaneous LVAD use. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2020; 95: 317–318.
24. *Patel N, Sharma A, Dalia T et al*. Vascular complications associated with percutaneous left ventricular assist device placement: a 10-year US perspective. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2020; 95: 309–316.
25. *Kurihara C, Kawabori M, Suguira T et al*. Bridging to a long-term ventricular assist device with short-term mechanical circulatory support. *Artificial Organs J.* 2018; 42: 589–596.

*Статья поступила в редакцию 12.01.2023 г.*
*The article was submitted to the journal on 12.01.2023*

DOI: 10.15825/1995-1191-2023-2-49-56

# БИВЕНТРИКУЛЯРНАЯ МЕХАНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА СЕРДЦА. ИСТОРИЯ И СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ

*М.О. Жульков, Д.А. Сирота, Д.С. Хван, А.Г. Макаев, Х.А. Агаева, И.С. Зыков, А.В. Фомичев, О.В. Повещенко, М.А. Суровцева, А.М. Чернявский*

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

Медикаментозное лечение терминальной стадии хронической сердечной недостаточности значительно эволюционировало за последние несколько десятилетий. Благодаря лучшему пониманию патофизиологии сердечной недостаточности были синтезированы новые фармакологические агенты. Однако выживаемость при медикаментозном лечении данной когорты пациентов остается крайне низкой, что стимулирует развитие хирургических методов лечения. Последние технологические достижения в разработке устройств механической поддержки сердца сделали возможной одномоментную имплантацию двух центробежных насосов в качестве альтернативы полностью искусственному сердцу. На сегодняшний день вспомогательные желудочковые устройства могут быть имплантированы для обеспечения как универтрикулярной, так и бивентрикулярной поддержки в зависимости от тяжести гемодинамических нарушений, поражения органов-мишеней, вероятности выздоровления и пересадки сердца.

*Ключевые слова: трансплантация сердца, устройство механической поддержки кровообращения, сердечная недостаточность, вспомогательное кровообращение.*

# BIVENTRICULAR MECHANICAL CIRCULATORY SUPPORT. HISTORY AND CURRENT STATE OF THE PROBLEM

*M.O. Zhulkov, D.A. Sirota, D.S. Khvan, A.G. Makaev, H.A. Agaeva, I.S. Zykov, A.V. Fomichev, O.V. Poveschenko, M.A. Surovtseva, A.M. Chernyavsky*

Meshalkin National Medical Research Center, Novosibirsk, Russian Federation

Medical management of end-stage chronic heart failure (HF) has evolved significantly over the past few decades. With a better understanding of the pathophysiology of HF, new pharmacological agents have been synthesized. However, survival in this cohort of patients with medical treatment remains extremely low. This has stimulated the development of surgical methods of treatment. Recent technological advances in the development of mechanical circulatory assist devices have made possible a single-stage implantation of two centrifugal pumps as an alternative to a total artificial heart. Today ventricular assist devices can be implanted to provide both univentricular and biventricular support depending on the severity of hemodynamic disorders, target organ damage, likelihood of recovery and heart transplantation.

*Keywords: heart transplantation, mechanical circulatory assist device, heart failure, circulatory support.*

Несмотря на все усилия врачей и ученых, ежегодно в мире от сердечной недостаточности в качестве первичной или сопутствующей патологии умирают почти 300 000 пациентов [1]. Пересадка сердца остается «золотым стандартом» лечения терминальной стадии хронической сердечной недостаточности, однако возможность выполнения данной операции сильно ограничена количеством доступных донорских органов. В результате этого имплантация устройств вспомогательной поддержки левого желудочка (LVAD) стала единственным и наиболее эффективным альтернативным вариантом помощи данной когорте пациентов. С момента одобрения первой модели LVAD Управлением по санитарному надзору США (U.S. Food and Drugs Administration, FDA) количество имплантированных устройств ежегодно

**Для корреспонденции:** Макаев Александр Геннадьевич. Адрес: 630055, Новосибирск, ул. Речкуновская, д. 15. Тел. (905) 198-33-31. E-mail: makaev_a@meshalkin.ru

**Corresponding author:** Alexander Makaev. Address: 15, Rechkunovskaya str., Novosibirsk, 630055, Russian Federation. Phone: (905) 198-33-31. E-mail: makaev_a@meshalkin.ru

росло и в настоящий момент превышает количество выполненных операций трансплантации сердца [2].

На протяжении многих лет развитие хирургических методов лечения сердечной недостаточности было сосредоточено на восстановлении и поддержании насосной функции в первую очередь левого желудочка, в связи с чем гораздо меньше внимания было уделено изучению патогенеза и способам поддержания функции правых отделов сердца. Однако в большинстве случаев терминальная стадия хронической сердечной недостаточности представляет собой бивентрикулярную дисфункцию сердца – в таких случаях имплантация LVAD не только малоэффективна, но и сопряжена с высоким риском развития дисфункции правого желудочка. Так, по данным исследований, частота дисфункции правого желудочка (ПЖ) после имплантации устройств механической поддержки левого желудочка сердца (LVAD) составляет от 10 до 30% [3–5]. Данные INTERMACS показывают, что даже при современном уровне развития устройств LVAD годовая выживаемость при бивентрикулярной недостаточности остается неизменной в разные периоды (2006–2012 гг. / 2013–2016 гг.) на уровне 56% против 55% соответственно [6]. По данным J.K. Kirklin et al., в 2011 году было имплантировано 368 BIVAD, при этом выживаемость снижалась по мере увеличения продолжительности бивентрикулярной механической поддержки и составила 70% через 3 месяца, 62% через 6 месяцев, 55% через 12 месяцев и 53% спустя 24 месяца после вмешательства [7].

Несмотря на открытие целого ряда предикторов развития дисфункции ПЖ (всего в опубликованной литературе выделяют не менее 25 различных потенциальных предикторов тяжелой недостаточности ПЖ у реципиентов LVAD) после имплантации LVAD, большинство из них имеют низкую специфичность и чувствительность, в связи с чем представляют малую эффективность в клинической практике [5, 8–12]. Отсутствие точных предикторов развития правожелудочковой дисфункции заставило клиницистов использовать интраоперационные инструменты принятия решений, основанные на результатах исследования параметров гемодинамики после имплантации LVAD или в течение нескольких часов/дней после имплантации. Отсутствие точных данных и алгоритмов приводит к увеличению времени принятия решения в выборе способа механической поддержки правых отделов сердца, а также оптимальной модели устройства. Из-за этого клинические результаты применения данной стратегии были субоптимальными, что объясняло значительную заболеваемость и смертность [13].

Громоздкость первых моделей LVAD исключала возможность одномоментной имплантации двух насосов с целью реализации бивентрикулярной поддержки сердца [14–16]. По этой причине единственным способом восстановления гемодинамики малого круга кровообращения стало применение методик временной экстракорпоральной механической поддержки кровообращения [17]. К сожалению, экстракорпоральные устройства имели ряд недостатков, в том числе плохую совместимость с кровью, высокий уровень инфицирования, высокую частоту цереброваскулярных осложнений и необходимость длительного пребывания в стационаре, что значительно снижало качество жизни пациентов и стимулировало интерес ученых в области разработки имплантируемых устройств [18, 19].

В течение последних десятилетий модели LVAD претерпели значительное технологическое усовершенствование, однако желание хирургов повторить успех LVAD и имплантировать разработанные модели устройств длительной механической поддержки кровообращения в правую позицию сопровождалось целым рядом трудностей [6, 20]. Первыми моделями устройств, имплантированными как BIVAD, стали модели пульсирующего типа. Одним из самых узнаваемых устройств для бивентрикулярной поддержки стала система Thoratec VAD (Abbott Laboratories, Чикаго, Иллинойс). Актуарная выживаемость после имплантации устройства составила 69,1 ± 5,0; 48,7 ± 5,5; 41,9 ± 5,5 и 38,4 ± 5,6% через 1 месяц, 1 год, 3 года и 5 лет соответственно Из-за простоты имплантации устройство широко применялось у пациентов с кардиогенным шоком [21, 22].

Еще одной моделью насоса пульсирующего типа, применяемой в качестве BIVAD в настоящее время является EXCOR VAD (Berlin Heart AG, Берлин, Германия). Данное устройство нашло широкое применение в педиатрической группе: несмотря на экстракорпоральную схему подключения и значительные ограничения в послеоперационном периоде, EXCOR VAD является единственным методом спасения детей с сердечной недостаточностью, позволяющим дождаться донорский орган. По данным S.E. Bartfay et al., общая вероятность выживания после имплантации EXCOR Berlin Heart в течение 5 лет для детей составила 90%, а для взрослых – 75% ($p = 0,3$), при этом 1-летняя выживаемость составляет почти 80% [23].

В последующем модели пульсирующего типа заменили осевые и центрифужные насосы, генерирующие непрерывный поток, такие как модель Jarvik-2000 VAD (Jarvik Heart, NewYork, NY) [24–27]. Согласно последнему отчету Межведомственного регистра искусственной поддержки кровообращения (INTERMACS), было зарегистрировано 618 случаев имплантации BIVAD с непрерывным потоком [6]. Модель HeartMate II LVAD (Thoratec, Плезантон, CA) долгое время оставалась одной из лучших моделей LVAD по причине низкого риска тромбоза устройства. Однако в литературе опубликован ограниченный опыт использования данного устройства для бивентрикулярной поддержки, поскольку из-за значитель-

ных габаритов устройства для одномоментной имплантации двух насосов требовалось полное удаление желудочков сердца [28–30].

По этой причине миниатюризация разработанных моделей устройств по-прежнему остается важной задачей инженеров. Одной из широко известных миниатюрных моделей устройств является устройство Impella RP (Abiomed Inc., Дэнверс, Массачусетс), одобренное в 2015 году FDA как чрескожное временное поддерживающее устройство. Позже в ряде исследований была доказана высокая эффективность применения данного устройства как RVAD в краткосрочной перспективе. В исследовании RECOVER RIGHT показатель выживаемости составил 78%, что значительно выше, чем при открытых вариантах имплантации RVAD [31–33]. В 2019 году был опубликован клинический случай применения малоинвазивной BIVAD, где в качестве устройств впервые успешно были использованы модели Impella 5.0 и Impella RP (Abiomed, Inc, Дэнверс, Массачусетс). Это стало первым успешным случаем применения одномоментной имплантации данной модели устройства в качестве «моста» к трансплантации в BIVAD-конфигурации [34].

Небольшой профиль и возможность интраперикардиального одномоментного размещения двух устройств HeartWare HVAD (Medtronic Corp, Миннеаполис, Миннесота) вызвали большой интерес к применению данного устройства в качестве BIVAD [35–40]. По данным A. Loforte et al., годовая выживаемость в серии 13 имплантаций HeartWare HVAD в качестве BIVAD составила 62% [36]. По данным T. Krabatsch et al., модель HeartWare HVAD была имплантирована в качестве BIVAD 17 пациентам. Постнагрузка для правого устройства была искусственно увеличена за счет локального уменьшения диаметра тракта оттока, а эффективная длина входной канюли была уменьшена за счет добавления двух 5-мм силиконовых колец. Тридцатидневная выживаемость составила 82%, при этом 59% пациентов были выписаны домой. В данной серии пациентов послеоперационное кровотечение было наиболее частым осложнением (6 пациентов) [41]. Небольшие серии исследований S. Shehab et al. сообщали о 100% выживаемости у 3 пациентов и 54% выживаемости у 13 пациентов [42]. В работе F.A. Arabía et al. 1-, 6- и 12-месячная выживаемость после имплантации BIVAD (модель HeartWare HVAD) составила 89, 68 и 62% соответственно. При этом отсутствовала статистическая разница в выживаемости по сравнению с пациентами, получившими LVAD / временную RVAD [43].

В последнее время появился ряд публикаций, описывающих опыт применения модели HeartMate III (Thoratec Inc., USA). В работе J. Lavee et al. была проведена оценка безопасности и клинической эффективности HeartMate III в BIVAD-конфигурации у 14 пациентов в 6 медицинских центрах по всему миру. При этом 9 из этих пациентов (64%) были живы на момент 1 января 2018 г. – 8 из них находились на поддержке BIVAD в течение 95–636 (в среднем 266) дней, 7 из них дома, и одному была успешно выполнена пересадка сердца спустя 98 дней BIVAD. Пять пациентов умерли через 10, 60, 83, 99 и 155 дней BIVAD-поддержки. Причинами летальных исходов стали сепсис у трех пациентов, а также геморрагический инсульт и тромбоз правого насоса [44]. По данным D. McGiffin et al., в серии, включающей 12 пациентов, актуарная выживаемость через 18 месяцев составила 91,7%. Через 18 месяцев после операции 5 пациентам (41,7%) была выполнена трансплантация сердца, 5 пациентов (41,7%) были живы и находились на бивентрикулярной поддержке, 1 пациент умер (8,3%), и 1 пациенту была выполнена эксплантация устройств по причине восстановления функции миокарда (8,3%) [45].

Несмотря на имеющийся мировой опыт применения BIVAD, хирургическая техника имплантации устройств по-прежнему обсуждается. Размещение канюли притока LVAD через верхушку ЛЖ или диафрагмальную стенку считается удобным и безопасным в большинстве случаев. Размещение приточной канюли для RVAD в полость ПЖ или ПП остается менее ясным. Вместе с тем тромбоз RVAD – одна из главных проблем BIVAD с частотой события 30–37% в ранних отчетах [42, 46–48]. Многоцентровое и недавнее одноцентровое исследование HeartMate III в качестве BIVAD показали более низкую частоту тромбоза (7–20%), однако вопрос места установки приточного патрубка и расположения трактов оттока остается открытым [44, 45].

Исследования в этих сериях показали тенденцию к лучшему результату в случае канюляции правого предсердия. Однако неясно, какие факторы способствуют более частому тромбозу правого насоса. Потенциальными преимуществами канюляции правого предсердия могут быть удобное позиционирование насоса в правой плевральной полости по сравнению с интраперикардиальным размещением RVAD над диафрагмой, а также отсутствие компрессии ПЖ и межжелудочковой перегородки корпусом насоса, в то время как канюляция правого желудочка может приводить к «проглатыванию» створок трикуспидального клапана или подклапанных структур. Данное осложнение часто наблюдалось в случае имплантации пульсирующих моделей RVAD, где одним из решений было иссечение трехстворчатого клапана. При этом нужно иметь в виду, что хотя удаление створок трехстворчатого клапана помогает решить проблему «проглатывания» насосом и частично тромбоза устройства, все же в случае механической неисправности устройства пациент будет нуждаться в немедленном восстановлении квазинормальной функции ПЖ. Еще одной причиной более высокой частоты

тромбозов RVAD является необходимость в снижении оборотов ротора до предельно допустимых значений с целью оптимизации гемодинамики малого круга кровообращения. Однако в случае применения устройств, реализующих гидродинамический подвес ротора, подобные режимы угрожают разбалансировкой положения ротора в полости насоса и повышенным риском тромбоза. Исходя из этого последняя модель центрифужного насоса с полностью магнитным подвесом HeartMate III выгодно отличается от своих предшественников. В ряде исследований низкая частота тромбоза, зарегистрированная при использовании HeartMate III в качестве LVAD, была отмечена и в RVAD-конфигурации [33, 35].

Приточная канюля устройств механической поддержки кровообращения была разработана исходя из геометрии ЛЖ и является неподходящей для канюляции ПП и ПЖ. Поэтому в случае канюляции правого предсердия с целью уменьшения внутрипросветной длины канюли притока RVAD профиль насоса увеличивали при помощи войлочных пластин, склеенных друг с другом с помощью Bioglue (CryoLife, Гилфорд, Великобритания) (рис.).

При анализе результатов выбора места установки приточной канюли для RVAD в исследовании E.J. Maynes et al. тромбоз насоса произошел с аналогичной частотой между группами с канюляцией правого предсердия (ПП) и ПЖ: 3/10 (30,0%) против 6/20 (30,0%) соответственно, однако анализ Каплана–Мейера показал более высокую выживаемость в группе с канюляцией ПП, с расчетной выживаемостью через 1 год 91,7% (95% ДИ 77,3–100,0) против 66,2% (95% ДИ 48,9–89,6) в группе ПЖ [51].

В серии S. Shehab et al. была показана более высокая частота тромбоза насоса при имплантации приточной канюли в правый желудочек по сравнению с размещением в правом предсердии (50% против 14%) [42]. Авторы пришли к выводу, что данное осложнение, возможно, было связано с постимплантационным ремоделированием правого желудочка, что приводило к уменьшению размеров камеры [36, 39, 42].

Еще одним объектом противоречий стал тракт оттока RVAD, поскольку рядом хирургов было сделано предположение о возможной эффективности сужения и удлинения отточной магистрали RVAD с целью оптимальной коммутации двух устройств [48, 49]. Напротив, в группе пациентов с BIVAD C. Lo et al. в 9 из 14 случаев не использовалось уменьшение тракта оттока RVAD [52]. Подобной точки зрения придер-

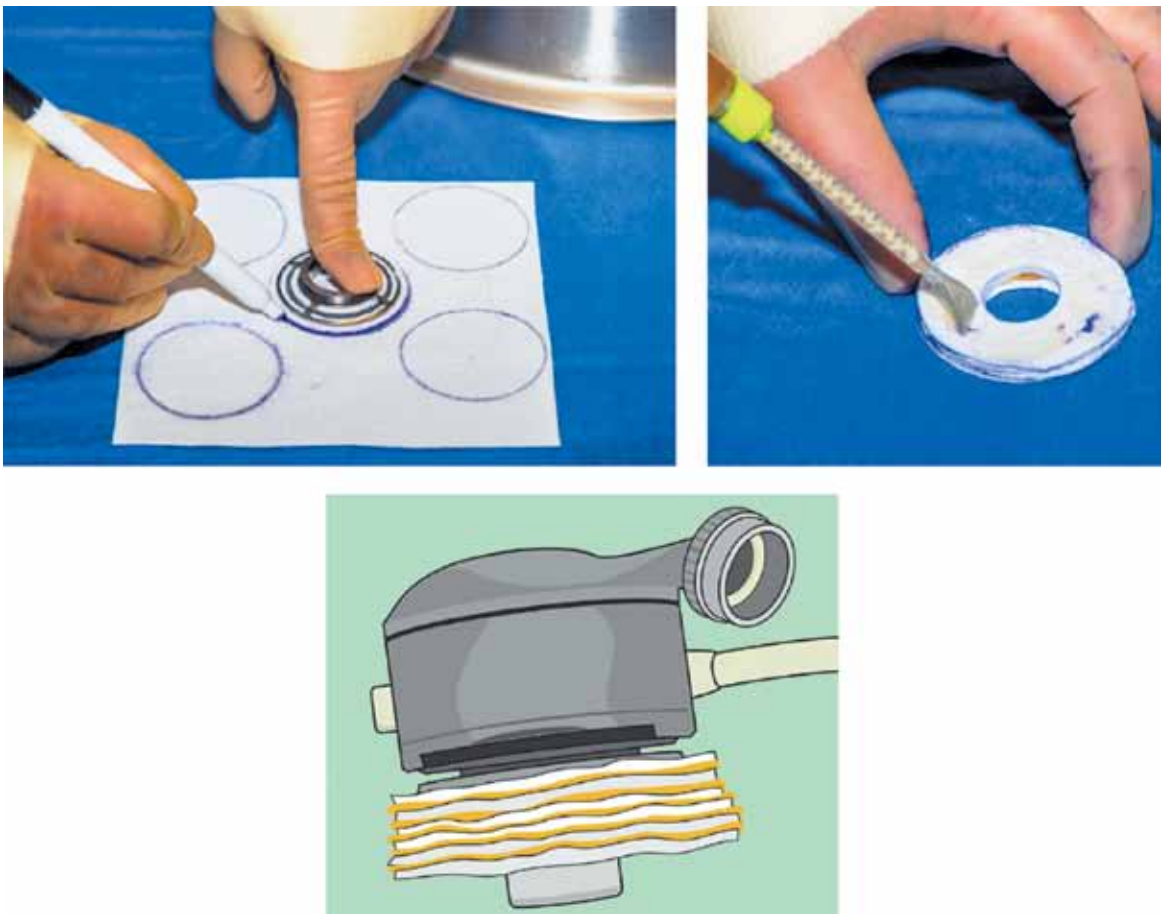

Рис. Подготовка приточной канюли RVAD [49, 50]

Fig. Preparation of the RVAD inlet cannula [49, 50]

живаются и E. Potapov et al., указывая на отсутствие необходимости сужения тракта оттока, а также рекомендуя сокращать длину протеза и анастомозировать последний с легочным стволом под углом 90° [48].

Время принятия решения о применении BIVAD играет ключевую роль в результатах лечения. Так, по данным T. Kuroda et al., 40% пациентов с BIVAD (модель HeartMate III) получили RVAD в течение 0–2 дней после имплантации LVAD, а 23% имплантаций RVAD были выполнены в течение 3–14 дней [53]. Тяжелая поздняя недостаточность ПЖ среди пациентов с LVAD, требующая механической поддержки через 3–12 месяцев после имплантации LVAD, встречается очень редко [54]. Поэтому, если установка BIVAD после имплантации LVAD имела место в более ранний период, ожидается, что поддержка BIVAD будет менее продолжительной (до 17 дней) [55–57].

J. Vierecke et al. были исследованы 37 долгосрочных BIVAD, 342 LVAD + краткосрочные RVAD и 34 пациента с полностью искусственным сердцем (ТАН). В качестве моделей для RVAD были использованы Berlin Heart Excor (n = 5), HeartWare HVAD (n = 22), Thoratec pVAD (n = 10). Годовая выживаемость составила 55% у пациентов с BIVAD; 52% для пациентов с LVAD + краткосрочным RVAD; 37% для пациентов с пульсирующими BIVAD и 36% для пациентов с ТАН. Профиль нежелательных явлений оставался высоким, без существенной разницы между разными типами насосов. После 3 месяцев LVAD + краткосрочной поддержки RVAD 46,7% пациентов все еще нуждались в постоянной поддержке и только 18,5% были отлучены от RVAD; 33,1% умерли. Свобода устройства от дисфункции и тромбоза была одинаковой во всех группах через 18 месяцев (p = 0,63) и составила 83% у больных ТАН, 82% в группе с пульсирующими моделями BIVAD, 95% у пациентов с BIVAD с непрерывным потоком и 86% для пациентов с LVAD + краткосрочным RVAD. Свобода от неврологического дефицита через 1 год составила 84% для группы ТАН, 73% для пульсирующего потока BIVAD, 76% непрерывного потока BIVAD и 94% группы LVAD + краткосрочным RVAD без статистической разницы между группами (p = 0,091). По данным авторов, группа LVAD + краткосрочная RVAD имела наиболее благоприятные исходы с точки зрения выживаемости и свободы от осложнений. Возможность легкого отлучения от экстракорпоральных моделей RVAD являлась дополнительным преимуществом [58].

По данным исследования J.C. Cleveland Jr. et al., сравнивающих результаты имплантации LVAD и BIVAD (модели Heartmate IP, VE, VXE, Heartmate II LVAD (Thoratec, Pleasanton, CA), the MicroMed Debakey Child left VAD (MicroMed, Houston, TX); Thoratec IVAD and PVAD pumps (Thoratec), выживаемость через 6 месяцев составила 86% для LVAD и 56% для BIVAD (p = 0,0001). Частота нежелательных явлений, выраженная как количество эпизодов / 100 пациент-месяцев в BIVAD-группе по сравнению с группой LVAD была значительно выше по инфекциям (33,2 против 14,3), кровотечениям (71,6 против 14,3), неврологическим событиям (7,9 против 2,6) и отказу устройств (4,9 против 2,0) [59].

Вопрос выбора оптимальной модели насоса для проведения BIVAD по-прежнему остается открытым. Например, группа авторов во главе с A.C.W. Baldwin сообщают об успешном выполнении BIVAD-поддержки сердца двумя разными моделями устройств. В данном случае после имплантации модели HeartMate II в качестве LVAD и проведения временной поддержки ПЖ при помощи CentriMag (Abbott Laboratories; Abbott Park, Ill) с целью проведения длительной RVAD-поддержки пациенту была имплантирована модель HeartWare HVAD [60]. Подобный опыт также описан в работах J.J. Eulert-Grehn et al. и S. Saito et al. [47, 61].

В недавнем исследовании D.M. Mancini et al. было показано, что у 26% пациентов после имплантации LVAD спустя несколько месяцев механической поддержки кровообращения наблюдалось восстановление насосной функции ЛЖ, так что в конечном счете устройства были эксплантированы [62]. Подобная стратегия может быть успешно реализована и в случае BIVAD-поддержки. По данным E. Potapov et al., в серии из 10 пациентов, получавших BIVAD, в 3 случаях наблюдалось восстановление нормальной функции ПЖ до такой степени, что устройство RVAD было остановлено без эксплантации. Двум пациентам были оставлены успешно функционирующие LVAD, один пациент умер от сепсиса [63].

Таким образом, стратегия одномоментной имплантации двух устройств механической поддержки кровообращения непульсирующего типа в BIVAD-конфигурации может считаться эффективным альтернативным вариантом лечения пациентов с бивентрикулярной сердечной недостаточностью. Более того, последняя модель центрифужного насоса HeartMate III с полной магнитной левитацией ротора может быть использована по принципу полностью искусственного сердца в клиниках, не имеющих возможности использовать оригинальные модели ТАН. Однако вопрос предикторов развития связанных с устройством осложнений требует проведения дальнейших исследований.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект 23-25-10013 (Соглашение № р-52 от 03.04.23 г. с Министерством науки и инновационной политики НСО).*

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES


1. *Hunt SA, Abraham WT, Chin MH, Feldman AM, Francis GS, Ganiats TG et al.* American College of Cardiology; American Heart Association Task Force on Practice Guidelines; American College of Chest Physicians; International Society for Heart and Lung Transplantation; Heart Rhythm Society. ACC/AHA 2005 Guideline Update for the Diagnosis and Management of Chronic Heart Failure in the Adult: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Update the 2001 Guidelines for the Evaluation and Management of Heart Failure): developed in collaboration with the American College of Chest Physicians and the International Society for Heart and Lung Transplantation: endorsed by the Heart Rhythm Society. *Circulation*. 2005; 112 (12): e154–235. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.167586.
2. *Kirklin JK, Naftel DC, Pagani FD, Kormos RL, Stevenson LW, Blume ED et al.* Seventh INTERMACS annual report: 15,000 patients and counting. *J Heart Lung Transplant*. 2015; 34 (12): 1495–1504. doi: 10.1016/j.healun.2015.10.003.
3. *Mehra MR, Park MH, Landzberg MJ, Lala A, Waxman AB*. Right heart failure: toward a common language. *Pulm Circ*. 2013; 3 (4): 963–967. doi: 10.1086/674750.
4. *Kormos RL.* The right heart failure dilemma in the era of left ventricular assist devices. *J Heart Lung Transplant*. 2014; 33 (2): 134–135. doi: 10.1016/j.healun.2013.12.019.
5. *Takeda K, Naka Y, Yang JA, Uriel N, Colombo PC, Jorde UP et al.* Outcome of unplanned right ventricular assist device support for severe right heart failure after implantable left ventricular assist device insertion. *J Heart Lung Transplant*. 2014; 33 (2): 141–148. doi: 10.1016/j.healun.2013.06.025.
6. *Kirklin JK, Pagani FD, Kormos RL, Stevenson LW, Blume ED, Myers SL et al.* Eighth annual INTERMACS report: Special focus on framing the impact of adverse events. *J Heart Lung Transplant*. 2017; 36 (10): 1080–1086. doi: 10.1016/j.healun.2017.07.005.
7. *Kirklin JK, Naftel DC, Kormos RL, Stevenson LW, Pagani FD, Miller MA et al.* The Fourth INTERMACS Annual Report: 4,000 implants and counting. *J Heart Lung Transplant*. 2012; 31 (2): 117–126. doi: 10.1016/j.healun.2011.12.001.
8. *Ochiai Y, McCarthy PM, Smedira NG, Banbury MK, Navia JL, Feng J et al.* Predictors of severe right ventricular failure after implantable left ventricular assist device insertion: analysis of 245 patients. *Circulation*. 2002 Sep 24; 106 (12 Suppl 1): I198–I202.
9. *Santambrogio L, Bianchi T, Fuardo M, Gazzoli F, Veronesi R, Braschi A et al.* Right ventricular failure after left ventricular assist device insertion: preoperative risk factors. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2006; 5 (4): 379–382. doi: 10.1510/icvts.2006.128322.
10. *Matthews JC, Koelling TM, Pagani FD, Aaronson KD.* The right ventricular failure risk score a pre-operative tool for assessing the risk of right ventricular failure in left ventricular assist device candidates. *J Am Coll Cardiol*. 2008; 51 (22): 2163–2172. doi: 10.1016/j.jacc.2008.03.009.
11. *Drakos SG, Janicki L, Horne BD, Kfoury AG, Reid BB, Clayson S et al.* Risk factors predictive of right ventricular failure after left ventricular assist device implantation. *Am J Cardiol*. 2010; 105 (7): 1030–1035. doi: 10.1016/j.amjcard.2009.11.026.
12. *Fitzpatrick JR 3rd, Frederick JR, Hiesinger W, Hsu VM, McCormick RC, Kozin ED et al.* Early planned institution of biventricular mechanical circulatory support results in improved outcomes compared with delayed conversion of a left ventricular assist device to a biventricular assist device. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2009; 137 (4): 971–977. doi: 10.1016/j.jtcvs.2008.09.021.
13. *Baran DA, Mehra MR.* Late-onset right heart failure after left ventricular assist device implant: quo vadis? *J Heart Lung Transplant*. 2017; 36 (1): 26–27. doi: 10.1016/j.healun.2016.12.001.
14. *Strueber M, Schmitto JD, Kutschka I, Haverich A*. Placement of 2 implantable centrifugal pumps to serve as a total artificial heart after cardiectomy. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2012; 143 (2): 507–509. doi: 10.1016/j.jtcvs.2011.07.034.
15. *Хван ДС, Чернявский АМ, Эфендиев ВУ, Сирота ДА, Доронин ДВ, Фомичев АВ и др*. Применение бивентрикулярного устройства вспомогательного кровообращения berlin heart excor в качестве моста к трансплантации сердца пациенту с дилатационной кардиомиопатией. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2018; 20 (2): 69–73. *Khvan DS, Chernyavsky AM, Efendiev VU, Sirota DA, Doronin DV, Fomichev AV et al*. A case of the «berlin heart excor» biventricular assist device implantation as a bridge to heart transplantation for a patient with dilated cardiomyopathy and terminal heart failure. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2018; 20 (2): 69–73. [In Russ, English abstract]. https://doi.org/10.15825/1995-1191-2018-2-69-73.
16. *Жульков МО, Сирота ДА, Фомичев АВ, Гренадеров АС, Чернявский АМ*. Проблема биосовместимости и тромбогенности устройств вспомогательного кровообращения. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2020; 22 (4): 83–88. *Zhulkov MO, Sirota DA, Fomichev AV, Grenaderov AS, Chernyavsky AM*. The problem of biocompatibility and thrombogenicity in mechanical circulatory assist devices. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2020; 22 (4): 83–88. [In Russ, English abstract]. https://doi.org/10.15825/1995-1191-2020-4-83-88.
17. *Leidenfrost J, Prasad S, Itoh A, Lawrance CP, Bell JM, Silvestry SC.* Right ventricular assist device with membrane oxygenator support for right ventricular failure following implantable left ventricular assist device placement. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2016; 49 (1): 73–77. doi: 10.1093/ejcts/ezv116.
18. *Saito S, Matsumiya G, Sakaguchi T, Miyagawa S, Yoshikawa Y, Yamauchi T et al.* Risk factor analysis of long-term support with left ventricular assist system. *Circ J*. 2010; 74 (4): 715–722. doi: 10.1253/circj.cj-09-0747.
19. *Saito S, Matsumiya G, Sakaguchi T, Fujita T, Kuratani T, Ichikawa H et al.* Fifteen-year experience with Toyobo

paracorporeal left ventricular assist system. *J Artif Organs*. 2009; 12 (1): 27–34. doi: 10.1007/s10047-009-0448-5.

20. *Жульков МО, Фомичев АВ, Альсов СА, Кливер ЕН, Чернявский АМ*. Современное состояние проблемы и результаты *ex vivo* перфузии донорских сердец. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2019; 21 (4): 143–146. *Zhulkov MO, Fomichev AV, Alsov SA, Cleaver EN, Chernyavsky AM*. Current state of the problem and results of ex vivo perfusion of donor hearts. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2019; 21 (4): 143–146. [In Russ, English abstract]. https://doi.org/10.15825/1995-1191-2019-4-143-146.
21. *Kirsch M, Vermes E, Damy T, Nakashima K, Sénéchal M, Boval B et al.* Single-centre experience with the Thoratec paracorporeal ventricular assist device for patients with primary cardiac failure. *Arch Cardiovasc Dis*. 2009 Jun-Jul; 102 (6–7): 509–518. doi: 10.1016/j.acvd.2009.03.010.
22. *Farrar DJ, Hill JD, Pennington DG, McBride LR, Holman WL, Kormos RL et al.* Preoperative and postoperative comparison of patients with univentricular and biventricular support with the thoratec ventricular assist device as a bridge to cardiac transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1997; 113 (1): 202–209. doi: 10.1016/S0022-5223(97)70416-1.
23. *Bartfay SE, Dellgren G, Hallhagen S, Wåhlander H, Dahlberg P, Redfors B et al.* Durable circulatory support with a paracorporeal device as an option for pediatric and adult heart failure patients. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2021; 161 (4): 1453–1464.e4. doi: 10.1016/j.jtcvs.2020.04.163.
24. *Brenner P, Wirth TJ, Liebermann A, Mihalj M, Güthoff S, Hagl C et al.* First Biventricular Jarvik 2000 Implants (Retroauricular Version) Via a Median Sternotomy. *Exp Clin Transplant*. 2016; 14 (2): 215–223. doi: 10.6002/ect.2015.0053.
25. *Radovancevic B, Gregoric ID, Tamez D, Vrtovec B, Tuzun E, Chee HK et al.* Biventricular support with the Jarvik 2000 axial flow pump: a feasibility study. *ASAIO J*. 2003; 49 (5): 604–607. doi: 10.1097/01.mat.0000084109.47034.8a.
26. *Yoshioka D, Toda K, Yoshikawa Y, Sawa Y*. Over 1200-day support with dual Jarvik 2000 biventricular assist device. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2014; 19 (6): 1083–1084. doi: 10.1093/icvts/ivu312.
27. *Frazier OH, Myers TJ, Gregoric I.* Biventricular assistance with the Jarvik FlowMaker: a case report. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2004; 128 (4): 625–626. doi: 10.1016/j.jtcvs.2004.02.023.
28. *Loebe M, Bruckner B, Reardon MJ, van Doorn E, Estep J, Gregoric I et al.* Initial clinical experience of total cardiac replacement with dual HeartMate-II axial flow pumps for severe biventricular heart failure. *Methodist Debakey Cardiovasc J*. 2011; 7 (1): 40–44. doi: 10.14797/mdcj-7-1-40.
29. *Frazier OH, Cohn WE*. Continuous-flow total heart replacement device implanted in a 55-year-old man with end-stage heart failure and severe amyloidosis. *Tex Heart Inst J*. 2012; 39 (4): 542–546.
30. *Pirk J, Maly J, Szarszoi O, Urban M, Kotulak T, Riha H et al*. Total artificial heart support with two continuous-flow ventricular assist devices in a patient with an infiltrating cardiac sarcoma. *ASAIO J*. 2013; 59 (2): 178–180. doi: 10.1097/MAT.0b013e3182816cd9.
31. *Bhama JK, Bansal U, Winger DG, Teuteberg JJ, Bermudez C, Kormos RL et al.* Clinical experience with temporary right ventricular mechanical circulatory support. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2018; 156 (5): 1885–1891. doi: 10.1016/j.jtcvs.2018.04.094.
32. *Anderson MB, Goldstein J, Milano C, Morris LD, Kormos RL, Bhama J et al.* Benefits of a novel percutaneous ventricular assist device for right heart failure: The prospective RECOVER RIGHT study of the Impella RP device. *J Heart Lung Transplant*. 2015; 34 (12): 1549–1560. doi: 10.1016/j.healun.2015.08.018.
33. *Hall SA, Uriel N, Carey SA, Edens M, Gong G, Esposito M et al.* Use of a percutaneous temporary circulatory support device as a bridge to decision during acute decompensation of advanced heart failure. *J Heart Lung Trans*plant. 2018; 37 (1): 100–106. doi: 10.1016/j.healun.2017.09.020.
34. *Varian K, Xu WD, Lin W, Unai S, Tong MZ, Soltesz E et al.* Minimally invasive biventricular mechanical circulatory support with Impella pumps as a bridge to heart transplantation: a first-in-the-world case report. *ESC Heart Fail*. 2019; 6 (3): 552–554. doi: 10.1002/ehf2.12412.
35. *Shehab S, Newton PJ, Allida SM, Jansz PC, Hayward CS.* Biventricular mechanical support devices–clinical perspectives. *Expert Rev Med Devices*. 2016; 13 (4): 353–365. doi: 10.1586/17434440.2016.1154454.
36. *Loforte A, Montalto A, Della Monica PL, Contento C, Musumeci F.* Biventricular support with the HeartWare implantable continuous flow pump: an additional contribution. *J Heart Lung Transplant*. 2010; 29 (12): 1443–1444. doi: 10.1016/j.healun.2010.07.012.
37. *Hetzer R, Krabatsch T, Stepanenko A, Hennig E, Potapov EV*. Long-term biventricular support with the heartware implantable continuous flow pump. *J Heart Lung Transplant*. 2010; 29 (7): 822–824. doi: 10.1016/j.healun.2010.02.012.
38. *Strueber M, Meyer AL, Malehsa D, Haverich A*. Successful use of the HeartWare HVAD rotary blood pump for biventricular support. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2010; 140 (4): 936–937. doi: 10.1016/j.jtcvs.2010.04.007.
39. *Loforte A, Monica PL, Montalto A, Musumeci F*. HeartWare third-generation implantable continuous flow pump as biventricular support: mid-term follow-up. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2011; 12 (3): 458–460. doi: 10.1510/icvts.2010.250654.
40. *Chandola R, Buchholz H, Macarthur R.* Long-term use of low-molecular-weight heparin in a patient with Heartware BIVAD (HVAD) with underlying sustained ventricular fibrillation. *J Cardiol Cases*. 2016; 14 (6): 171–173. doi: 10.1016/j.jccase.2016.08.002.
41. *Krabatsch T, Potapov E, Stepanenko A, Schweiger M, Kukucka M, Huebler M et al.* Biventricular circulatory support with two miniaturized implantable assist devices. *Circulation*. 2011; 124 (11 Suppl): S179–S186. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.011502.

42. *Shehab S, Macdonald PS, Keogh AM, Kotlyar E, Jabbour A, Robson D et al.* Long-term biventricular HeartWare ventricular assist device support – Case series of right atrial and right ventricular implantation outcomes. *J Heart Lung Transplant*. 2016; 35 (4): 466–473. doi: 10.1016/j.healun.2015.12.001.
43. *Arabía FA, Milano CA, Mahr C, McGee EC Jr, Mokadam NA, Rame JE et al*. Biventricular Support With Intracorporeal, Continuous Flow, Centrifugal Ventricular Assist Devices. *Ann Thorac Surg*. 2018; 105 (2): 548–555. doi: 10.1016/j.athoracsur.2017.08.019.
44. *Lavee J, Mulzer J, Krabatsch T, Marasco S, McGiffin D, Garbade J et al.* An international multicenter experience of biventricular support with HeartMate 3 ventricular assist systems. *J Heart Lung Transplant*. 2018; 37 (12): 1399–1402. doi: 10.1016/j.healun.2018.08.008.
45. *McGiffin D, Kure C, McLean J, Marasco S, Bergin P, Hare JL et al.* The results of a single-center experience with HeartMate 3 in a biventricular configuration. *J Heart Lung Transplant*. 2021; 40 (3): 193–200. doi: 10.1016/j.healun.2020.12.006.
46. *Shah P, Ha R, Singh R, Cotts W, Adler E, Kiernan M et al.* Multicenter experience with durable biventricular assist devices. *J Heart Lung Transplant*. 2018; 37 (9): 1093–1101. doi: 10.1016/j.healun.2018.05.001.
47. *Eulert-Grehn JJ, Lanmüller P, Schönrath F, Solowjowa N, Müller M, Mulzer J et al.* Two implantable continuous-flow ventricular assist devices in a biventricular configuration: technique and results. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2018; 27 (6): 938–942. doi: 10.1093/icvts/ivy228.
48. *Tran HA, Pollema TL, Silva Enciso J, Greenberg BH, Barnard DD, Adler ED et al.* Durable Biventricular Support Using Right Atrial Placement of the HeartWare HVAD. *ASAIO J*. 2018; 64 (3): 323–327. doi: 10.1097/MAT.0000000000000645.
49. *Bansal A, Akhtar F, Zwintscher NP, Ostrow S, Desai S, Fary D.* Use of the Heartmate 3 for biventricular support as a bridge to heart transplant-first US implant. *J Card Surg*. 2019; 34 (12): 1629–1631. doi: 10.1111/jocs.14290.
50. *Potapov E, Starck C, Falk V, Eulert-Grehn JJ*. Mechanical circulatory support: Technical tips for the implantation of a right ventricular assist device. *JTCVS Open*. 2021; 8: 37–40. doi: 10.1016/j.xjon.2021.09.046.
51. *Maynes EJ, O'Malley TJ, Patel P, Prochno KW, Wood CT, Choi JH et al*. Right atrial versus right ventricular HeartWare HVAD position in patients on biventricular HeartWare HVAD support: A systematic review. *Artif Organs*. 2020; 44 (9): 926–934. doi: 10.1111/aor.13675.
52. *Lo C, Gregory S, Stevens M, Murphy D, Marasco S.* Banding the Right Ventricular Assist Device Outflow Conduit: Is It Really Necessary With Current Devices? *Artif Organs*. 2015; 39 (12): 1055–1061. doi: 10.1111/aor.12497.
53. *Kuroda T, Miyagi C, Fukamachi K, Karimov JH.* Biventricular assist devices and total artificial heart: Strategies and outcomes. *Front Cardiovasc Med*. 2023; 9: 972132. doi: 10.3389/fcvm.2022.972132.
54. *Rame JE, Pagani FD, Kiernan MS, Oliveira GH, Birati EY, Atluri P et al.* Evolution of Late Right Heart Failure With Left Ventricular Assist Devices and Association With Outcomes. *J Am Coll Cardiol*. 2021; 78 (23): 2294–2308. doi: 10.1016/j.jacc.2021.09.1362.
55. *Shimada S, Nawata K, Kinoshita O, Ono M.* Mechanical circulatory support for the right ventricle in combination with a left ventricular assist device. *Expert Rev Med Devices*. 2019; 16 (8): 663–673. doi: 10.1080/17434440.2019.1635006.
56. *Yoshioka D, Takayama H, Garan RA, Topkara VK, Han J, Kurlansky P et al.* Contemporary outcome of unplanned right ventricular assist device for severe right heart failure after continuous-flow left ventricular assist device insertion. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2017 Jun 1; 24 (6): 828–834. doi: 10.1093/icvts/ivw409.
57. *Mangi AA.* Right ventricular dysfunction in patients undergoing left ventricular assist device implantation: predictors, management, and device utilization. *Surgical Treatment for Advanced Heart Failure*. 2013: 177–187. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6919-3_14.
58. *Vierecke J, Gahl B, de By TMMH, Antretter H, Beyersdorf F, Caliskan K et al.* Results of primary biventricular support: an analysis of data from the EUROMACS registry. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2019; 56 (6): 1037–1045. doi: 10.1093/ejcts/ezz173.
59. *Cleveland JC Jr, Naftel DC, Reece TB, Murray M, Antaki J, Pagani FD et al.* Survival after biventricular assist device implantation: an analysis of the Interagency Registry for Mechanically Assisted Circulatory Support database. *J Heart Lung Transplant*. 2011; 30 (8): 862–869. doi: 10.1016/j.healun.2011.04.004.
60. *Baldwin ACW, Sandoval E, Cohn WE, Mallidi HR, Morgan JA, Frazier OH.* Nonidentical Continuous-Flow Devices For Biventricular Support. *Tex Heart Inst J*. 2017; 44 (2): 141–143. doi: 10.14503/THIJ-16-5878.
61. *Saito S, Sakaguchi T, Miyagawa S, Yoshikawa Y, Yamauchi T, Ueno T et al.* Biventricular support using implantable continuous-flow ventricular assist devices. *J Heart Lung Transplant*. 2011; 30 (4): 475–478. doi: 10.1016/j.healun.2010.11.013.
62. *Mancini DM, Beniaminovitz A, Levin H, Catanese K, Flannery M, DiTullio M et al.* Low incidence of myocardial recovery after left ventricular assist device implantation in patients with chronic heart failure. *Circulation*. 1998; 98 (22): 2383–2389. doi: 10.1161/01.cir.98.22.2383.
63. *Potapov E, Schweiger M, Vierecke J, Dandel M, Stepanenko A, Kukucka M et al.* Discontinuation of HeartWare RVAD support without device removal in chronic BIVAD patients. *ASAIO J*. 2012; 58 (1): 15–18. doi: 10.1097/MAT.0b013e3182376b7b.


*Статья поступила в редакцию 06.03.2023 г.*
*The article was submitted to the journal on 06.03.2023*

DOI: 10.15825/1995-1191-2023-2-57-62

# ПЛЕВРО-ПЕРИКАРДИАЛЬНОЕ ОКНО КАК МЕТОД ХИРУРГИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ ЗНАЧИМОГО ПЕРИКАРДИАЛЬНОГО ВЫПОТА У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА

*К.С. Кирьяков[1], А.Р. Закирьянов[1], Т.А. Халилулин[1, 2], Н.Ю. Захаревич[1], О.А. Поздняков[1], А.М. Гольц[1], Д.С. Иванов[1], А.А. Сухачев[1], В.М. Захаревич[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

Перикардиальный выпот после кардиохирургического вмешательства является одним из наиболее распространенных осложнений. Процесс накопления значимого количества свободной жидкости в полости перикарда является многофакторным, и не всегда удается установить причину его развития. У пациентов после трансплантации сердца данное осложнение встречается чаще, чем у пациентов, перенесших реконструктивное кардиохирургическое вмешательство. Наличие гемодинамически значимой эффузии требует выполнения хирургической эвакуации жидкости из полости перикарда, что может сказываться на течении послеоперационного периода и увеличивать срок госпитализации пациентов. По этой причине разработка и широкое применение методов профилактики данного осложнения являются актуальными.

*Ключевые слова: трансплантация сердца, плевро-перикардиальное окно, перикардиальный выпот.*

# PERICARDIAL WINDOW AS A SURGICAL METHOD FOR PREVENTING SIGNIFICANT POSTOPERATIVE PERICARDIAL EFFUSION

*K.S. Kiryakov[1], A.R. Zakiryanov[1], T.A. Khalilulin[1, 2], N.Y. Zakharevich[1], O.A. Pozdnyakov[1], A.M. Goltz[1], D.S. Ivanov[1], A.A. Sukhachev[1], V.M. Zakharevich[1, 2]*

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

Postoperative pericardial effusion (PPE) represents a very common complication in cardiac surgery. Accumulation of a significant amount of free fluid in the pericardial cavity is a multifactorial process. Identifying the cause is not always possible. This complication occurs more frequently in patients after heart transplantation than in patients who underwent reconstructive cardiac surgery. Having hemodynamically significant effusion requires surgical evacuation of fluid from the pericardial cavity. This can affect the postoperative period and increase the length of stay at the hospital. For this reason, developing and ensuring widespread use of methods for prevention of this complication are urgent and relevant tasks.

*Keywords: heart transplantation, pericardial window, pericardial effusion.*

**Цель исследования:** предоставить данные о практическом применении метода формирования плевро-перикардиального окна у реципиентов сердечного трансплантата в качестве профилактики образования значимого перикардиального выпота.

**Для корреспонденции:** Кирьяков Кирилл Сергеевич. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (499) 190-60-34. E-mail: Kiriakovmd@gmail.com

**Corresponding author:** Kirill Kiryakov. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (499) 190-60-34. E-mail: Kiriakovmd@gmail.com

## ВВЕДЕНИЕ

Выполнение трансплантации сердца является основным радикальным методом лечения пациентов с терминальной стадией хронической сердечной недостаточности. Эффективность трансплантации сердца на сегодняшний день не вызывает споров ввиду значительного преимущества данного метода в сравнении с медикаментозной терапией и альтернативными хирургическими вмешательствами. Ежегодно в РФ выполняется около 300 трансплантаций сердца, и число операций неуклонно растет. Является очевидным, что внедрение новых методов лечения и профилактики осложнений в данной сфере необходимо для дальнейшего развития и укрепления позиций трансплантологии в РФ. Абсолютным лидером по количеству выполняемых пересадок сердца уже долгие годы является ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова». С 2016 года в центре выполняется около 200 трансплантаций сердца в год, что является лучшим показателем среди всех учреждений в мире на сегодняшний день [1]. Накопленный опыт позволяет достоверно оценить актуальные вопросы в отношении течения послеоперационного периода у пациентов после трансплантации сердца в РФ, в том числе частоту развития и значимость осложнений.

Развитие послеоперационного перикардиального выпота у пациентов после кардиохирургических вмешательств является одним из наиболее распространенных осложнений послеоперационного периода [2–7]. Данное осложнение также характерно для пациентов после трансплантации сердца, причем частота возникновения эффузий в данной группе пациентов существенно выше ввиду отличающихся иммунологических и хирургических составляющих [2, 3]. Выраженные выпоты в полости перикарда могут приводить к компрессии камер сердца со снижением показателей гемодинамики, и единственный способ лечения таких состояний – дополнительное хирургическое вмешательство, что является нежелательным событием, сказывающимся на течении послеоперационного периода. На сегодняшний день одним из вариантов радикальной профилактики данного осложнения в реконструктивной кардиохирургии может быть метод хирургического формирования плевроперикардиального окна либо задней перикардиотомии одномоментно с выполнением основного этапа операции [8–11]. Данный метод получил широкое распространение в клинической практике благодаря простоте выполнения, эффективности и безопасности.

На данный момент сложно говорить о широте применения метода в кардиотрансплантационной практике, однако стоит учитывать эффективность его применения в реконструктивной кардиохирургии [12–15]. Данный метод может снизить частоту перикардиальных выпотов, количество выполняемых операций дренирования и уменьшить срок пребывания пациентов в хирургическом стационаре. В настоящее время данная методика применяется в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» у реципиентов сердечного трансплантата. Учитывая новизну и отсутствие четких показаний к применению, проводится изучение влияния на течение послеоперационного периода у пациентов кардиотрансплантационного профиля.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С целью анализа эффективности метода хирургической профилактики перикардиального выпота у пациентов после трансплантации сердца в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» выполнено формирование плевро-перикардиального окна у 22 реципиентов сердечного трансплантата в ходе основного этапа операции в период с декабря 2021 года по декабрь 2022 года. С целью проведения объективного анализа метода критерии отбора не использовались, формирование плевро-перикардиального окна осуществлялось рандомизированно. Среднее время пребывания и наблюдения в хирургическом стационаре составило 19 ± 10,3 суток. Средний возраст пациентов – 45,9 ± 10,3 года, пол: М – 86%, Ж – 14%; превалирующими диагнозами до выполнения трансплантации являлись: ДКМП – 59% и ИКМП – 36%. Абсолютное большинство пациентов не имели в анамнезе ранее выполненного кардиохирургического вмешательства (95%). Среднее время выполнения основного этапа операции составило 51 ± 10,5 мин; время искусственного кровообращения – 103,7 ± 17,7 мин; время ишемии сердечного трансплантата – 175,9 ± 62,8 мин. В качестве сравнения приводятся данные 190 пациентов, которым была выполнена трансплантация сердца в 2022 году в ФГБУ «НМИЦ ТИО» им. ак. В.И. Шумакова. Оценивалось наличие выраженного перикардиального выпота, потребовавшего повторного хирургического вмешательства в связи с признаками гемодинамически значимой компрессии камер сердца и объемом свободной жидкости в полости перикарда ≥300 мл.

## ХИРУРГИЧЕСКАЯ ТЕХНИКА

Формирование перикардиального окна заключается в иссечении участка перикарда площадью 3–4 см$^2$ с помощью электрокоагуляции ниже уровня левого диафрагмального нерва, отступая на 4–5 см вниз от левой нижней легочной вены (рис. 1). После завершения основного этапа операции предлагается выполнять постановку плевроперикардиального дренажа диаметром 27–30 F через плевроперикардиальное окно в левый реберно-диафрагмальный синус с целью дренирования как плевральной полости, так и полости перикарда (рис. 2). Длительность

стояния плевро-перикардиального дренажа должна составлять не более 72 часов с момента операции при достижении темпа отделяемого <100 мл в сутки. При удалении дренажа необходимо ушивать кожный дефект с целью профилактики пневмоторакса и пневмоперикарда. После удаления дренажа отрицательное давление в плевральной полости создает активную аспирацию из полости перикарда, при условии герметичности последнего. Таким образом, перераспределение объема жидкости меняет характер и значимость клинических проявлений процесса эффузии. Кроме этого, плевральная полость характеризуется большей поверхностью резорбции, что позволяет в отдельных случаях ограничиваться консервативными методами лечения.

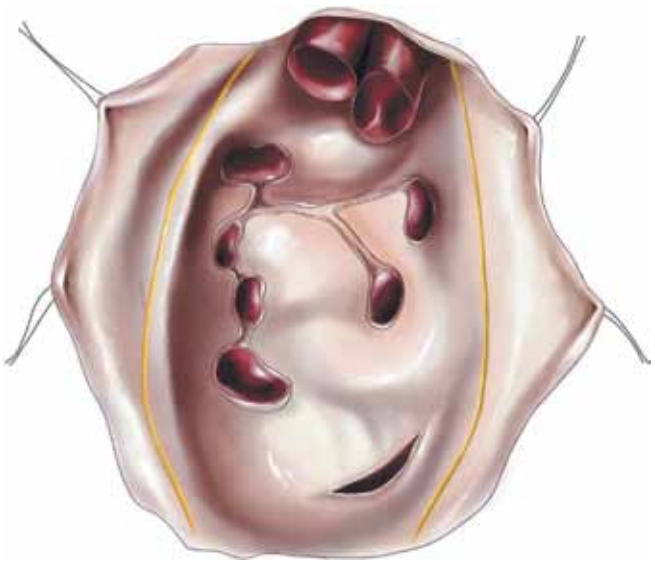

Рис. 1. Схематичное изображение оптимальной локализации плевро-перикардиального окна относительно ближайших анатомических структур

Fig. 1. Image of optimal localization of the pericardial window relative to the nearest anatomical structures

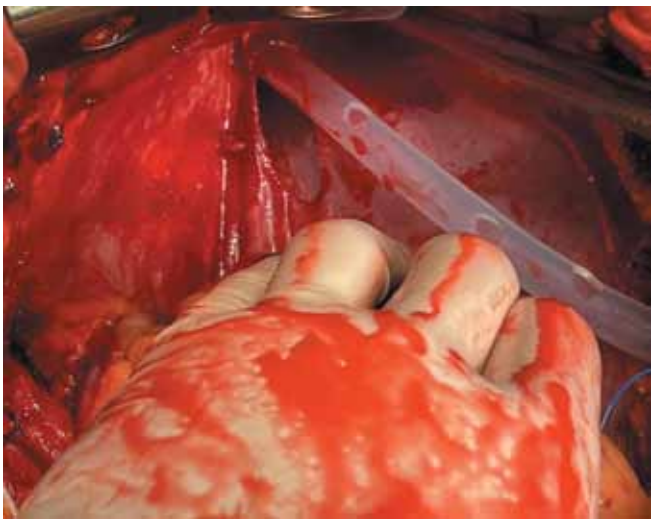

Рис. 2. Пример установки плевро-перикардиального дренажа после завершения основного этапа операции

Fig. 2. An example of placement of a pericardial drainage tube after completion of the main stage of the operation

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В качестве метода оценки наличия выпота в полости перикарда использовался стандартный протокол оценки данного параметра во время проведения ЭхоКГ, включающий ежедневное исследование при наблюдении пациента в отделении интенсивной терапии и проведение УЗИ полости перикарда дважды в неделю после перевода в хирургическое отделение. По результатам проведенного анализа среднее значение количества жидкостного содержимого в полости перикарда составило 50–100 мл у 95% пациентов, что является допустимой нормой и не требует активного лечения. Лишь у одного пациента, несмотря на проведение хирургической профилактики, выявлен массивный перикардильный и плевральный выпот, потребовавший проведения дренирования полости перикарда на 27-е сутки после трансплантации и двух процедур дренирования плевральной полости, что было обусловлено гипоальбуминемией, дефицитом плазменных факторов свертывания крови, сниженным диурезом и гиподинамией пациента на фоне отечного синдрома. Также у данного пациента отмечалось образование сгустков фибрина в полости перикарда по контуру правого желудочка сердца и геморрагический характер отделяемого при выполнении дренирования, что может указывать на признаки отсроченного кровотечения, развившегося в результате нарушения процессов свертывания крови. Еще у двух пациентов отмечалось наличие значимого левостороннего плеврального выпота, что потребовало эвакуации жидкости из плевральной полости. Гидроторакс может являться одной из прогнозируемых особенностей метода и развиваться вследствие оттока жидкости через перикардиальное окно в плевральную полость [10]. Безусловно, плевральный выпот также относится к нежелательным событиям послеоперационного периода у пациентов данной группы, но это осложнение не влияет на гемодинамические характеристики трансплантата, и хирургическая манипуляция эвакуации значимого объема жидкости из плевральной полости по сравнению с дренированием полости перикарда является гораздо более щадящим вмешательством, не требующим седации пациента.

В группе пациентов, которым выполнялась трансплантация сердца без формирования плевро-перикардиального окна, выраженный перикардиальный выпот, потребовавший хирургической эвакуации жидкости, отмечался в 16,3% случаев, что показы-

вает преимущество представленного метода и разницу между группами на более чем на 10%, p > 0,05 (рис. 3).

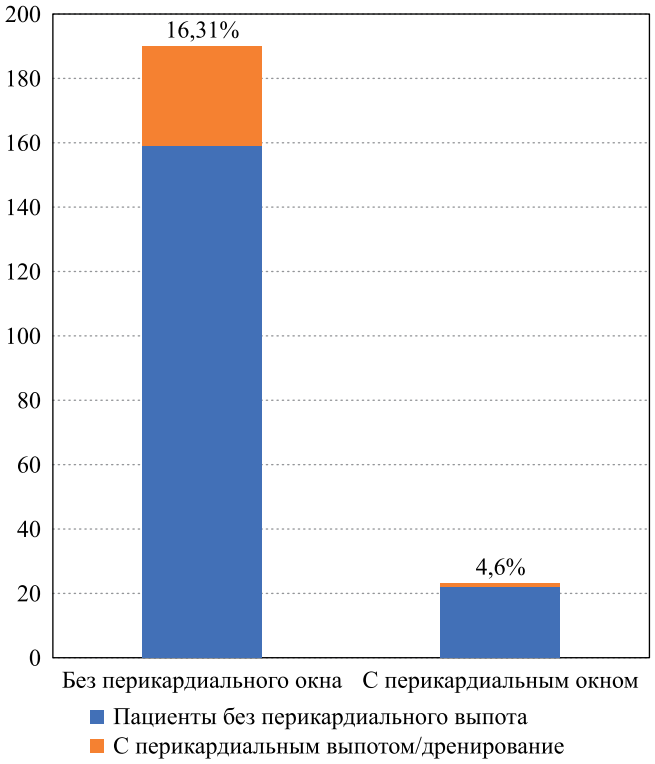


Рис. 3. Сравнение групп пациентов

Fig. 3. Comparison chart

## ОБСУЖДЕНИЕ

На первый взгляд, такое осложнение, как накопление жидкости в полости перикарда, не несет в себе явных негативных последствий для пациентов и порой не воспринимается клиницистами как серьезная проблема, требующая отдельного внимания. Однако, как показывает практика, увеличение объема свободной жидкости в полости перикарда в раннем послеоперационном периоде негативно сказывается на гемодинамических показателях пациента, может быть причиной развития нарушений ритма сердца, приводить к сдавлению камер сердца и тампонаде. У пациентов после трансплантации сердца развитие послеоперационного перикардиального выпота встречается в 6–35% случаев, по данным мировой статистики [16–22]. По статистике нашего учреждения за 2019–2022 годы, данное осложнение приводит к значимым нарушениям функции сердечного трансплантата и требует дополнительного хирургического вмешательства в 15–20% случаев. Отмечено, что именно пациенты после трансплантации сердца составляют в среднем 83% от числа всех пациентов, перенесших кардиохирургическое вмешательство и потребовавших выполнения дренирования полости перикарда в послеоперационном периоде в условиях операционной, что еще раз доказывает предрасположенность данной категории больных к накоплению патологического количества жидкости в полости перикарда.

С нашей точки зрения, наиболее оптимальным методом радикального лечения выраженного перикардиального выпота является дренирование полости перикарда через подмечевидный доступ. Данное вмешательство не требует дополнительных разрезов и выполняется путем распускания стернотомного шва в нижней трети на протяжении 5–6 сантиметров и эвакуации жидкости с последующей постановкой дренажа. Основным преимуществом подмечевидного доступа является возможность выполнения полной эвакуации перикардиальной эффузии, что не всегда представляется возможным при выполнении пункции полости перикарда, особенно при осумкованном характере накопления по задней поверхности сердца [23–25]. Пункция перикарда также используется как метод выбора во многих учреждениях и показывает эффективность в 97%. Однако обязательным условием является выполнение процедуры под контролем УЗИ, оптимального УЗИ-окна, либо в условиях рентгеноперационной [26]. Несмотря на то что процедуры дренирования либо пункции перикарда давно используются в качестве безопасной лечебной стратегии у пациентов с данным осложнением, стоит учитывать, что эти хирургические манипуляции являются причиной дополнительного эмоционального стресса для пациента, могут увеличивать сроки госпитализации пациентов ввиду необходимости продленного наблюдения и относятся к нежелательным событиям послеоперационного периода с точки зрения клинико-экономических факторов.

В мировой практике используются методы хирургической профилактики развития выраженного перикардиального выпота, которые получают все большее распространение в реконструктивной кардиохирургии благодаря выявленной эффективности в отношении постоперационной фибрилляции предсердий за счет уменьшения количества выпота, снижения воспалительного ответа [12–15]. Формирование плевроперикардиального соустья с помощью формирования перикардиального окна либо задней перикардиотомии способно значительно снизить риски гидроперикарда, что особенно актуально у пациентов после трансплантации сердца. Преимуществом формирования перикардиального окна во время основного этапа операции является профилактика накопления значимого перикардиального выпота за счет перераспределения эффузии, и как следствие, снижение частоты осложнений.

Учитывая полученные данные, можно сделать вывод об эффективности метода хирургической профи-

лактики перикардиального выпота у пациентов после трансплантации сердца с помощью формирования плевро-перикардиального соустья ввиду отсутствия признаков накопления патологического количества жидкости в 95% случаев, что на 10% превосходит показатель пациентов, которым не выполнялось формирование перикардиального окна во время операции. Данная методика может повысить эффективность оказания медицинской помощи пациентам с терминальной стадией хронической сердечной недостаточности, предотвратив развитие данного осложнения у пациентов после трансплантации сердца.

Вопрос показаний и противопоказаний к использованию метода в повседневной практике у реципиентов сердечного трансплантата является открытым ввиду необходимости выявления основных предрасполагающих факторов риска и определения вероятности развития таких осложнений, как формирование гидроторакса за счет распределения жидкости.

## ВЫВОД

Плевро-перикардиальное окно как метод хирургической профилактики значимого перикардиального выпота у пациентов после трансплантации сердца может позволить снизить риски повторных хирургических вмешательств, направленных на эвакуацию выраженного гидроперикарда, и улучшить течение ближайшего послеоперационного периода.

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Готье СВ, Хомяков СМ.* Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2021 году. XIV сообщение регистра Российского трансплантологического общества. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2022; 24 (3): 8–31. *Gautier SV, Khomyakov SM.* Organ donation and transplantation in the Russian Federation in 2021. 14th Report from the Registry of the Russian Transplant Society. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs.* 2022; 24 (3): 8–31. https://doi.org/10.15825/1995-1191-2022-3-8-31.
2. *Ashikhmina EA, Schaff HV, Sinak LJ, Li Z, Dearani JA, Suri RM et al.* Pericardial effusion after cardiac surgery: risk factors, patient profiles, and contemporary management. *Ann Thorac Surg.* 2010; 89: 112–118.
3. *Кирьяков КС, Захаревич ВМ, Халилулин ТА, Захаревич НЮ, Абрамова НН, Поздняков ОА.* Особенности развития и течения перикардиального выпота у пациентов после трансплантации сердца. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2021; 23 (1): 131–139. *Kiriakov KS, Zakharevich VM, Khalilulin TA, Zakharevich NY, Abramova NN, Pozdnyakov OA.* Postoperative pericardial effusion: peculiarities of the development and course. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs.* 2021; 23 (1): 131–139. https://doi.org/10.15825/1995-1191-2021-1-131-139.
4. *Pepi M, Muratori M, Barbier P, Doria E, Arena V, Berti M et al.* Pericardial effusion after cardiac surgery: incidence, site, size, and haemodynamic consequences. *Br Heart J.* 1994; 72: 327–331.
5. *Khassawneh M, Alfawaeer ZA, Attallah DM.* Incidence of Pericardial Effusion Post Pericardiotomy Diagnosis, Intervention and Treatment. *Int J Med Invest*. 2018; 7 (2): 39–46.
6. *Weitzman LB, Tinker WP, Kronzon I, Cohen ML, Glassman E, Spencer FC.* The incidence and natural history of pericardial effusion after cardiac surgery – an echocardiographic study. *Circulation.* 1984; 69: 506–511.
7. *Khan NK, Järvelä KM, Loisa EL, Sutinen JA, Laurikka JO, Khan JA.* Incidence, presentation and risk factors of late postoperative pericardial effusions requiring invasive treatment after cardiac surgery. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2017; 24 (6): 835–840. doi: 10.1093/icvts/ivx011.
8. *Sen O, Aydin U, Iyigun T, Reyhancan A, Timur B, Kadirogullari E et al.* Right pericardial window opening: a method of preventing pericardial effusion. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*. 2020 May; 68 (5): 485–491. doi: 10.1007/s11748-019-01213-4. Epub 2019 Sep 26. PMID: 31559587.
9. *Kaya M, Utkusavaş A, Erkanlı K, Güler S, Kyaruzi M, Birant A et al*. The Preventive Effects of Posterior Pericardiotomy with Intrapericardial Tube on the Development of Pericardial Effusion, Atrial Fibrillation, and Acute Kidney Injury after Coronary Artery Surgery: A Prospective, Randomized, Controlled Trial. *Thorac Cardiovasc Surg*. 2016 Apr; 64 (3): 217–224. doi: 10.1055/s-0035-1548737. Epub 2015 Apr 14. Erratum in: *Thorac Cardiovasc Surg*. 2016 Apr; 64 (3): e1–e2. PMID: 25875954.
10. *Ali-Hasan-Al-Saegh S, Mirhosseini SJ, Liakopoulos O, Sabashnikov A, Dehghan HR, Sedaghat-Hamedani F et al.* Posterior pericardiotomy in cardiac surgery: systematic review and meta-analysis. *Asian Cardiovasc Thorac Ann*. 2015 Mar; 23 (3): 354–362. doi: 10.1177/0218492314541132. Epub 2014 Jun 19. PMID: 24948784.
11. *Zhao J, Cheng Z, Quan X, Zhao Z.* Does posterior pericardial window technique prevent pericardial tamponade after cardiac surgery? *J Int Med Res.* 2014 Apr; 42 (2): 416–426. doi: 10.1177/0300060513515436. Epub 2014 Feb 19. PMID: 24553479.
12. *Gaudino M, Sanna T, Ballman KV, Robinson NB, Hameed I, Audisio K et al*. Posterior left pericardiotomy for the prevention of atrial fibrillation after cardiac surgery: an adaptive, single-centre, single-blind, randomised, controlled trial. *Lancet.* 2021 Dec 4; 398 (10316): 2075–2083. doi: 10.1016/S0140-6736(21)02490-9. Epub 2021 Nov 14. PMID: 34788640.
13. *Uzun K, Günaydın ZY, Tataroğlu C, Bektaş O.* The preventive role of the posterior pericardial window in the development of late cardiac tamponade following heart

valve surgery. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2016 May; 22 (5): 641–646. doi: 10.1093/icvts/ivv390. Epub 2016 Jan 26. PMID: 26819273; PMCID: PMC4892135.
14. *Ebaid HH, Emara AS, Emara MS, Elnaggar AE*. The value of pericardial window in preventing pericardial effusion after cardiac surgery. *The Egyptian Cardiothoracic Surgeon*. 2021; 3 (1): 28–34. https://doi.org/10.35810/ects.v3i1.167.
15. *Ezelsoy M, Oral MK, Saraçoğlu KT, Saraçoğlu A, Akpınar B*. Posterior Pericardial Window Technique to Prevent Postoperative Pericardial Effusion in Cardiac Surgery. *Kocaeli Med J*. 2019; 8 (2): 78–83.
16. *Vandenberg BF, Mohanty PK, Craddock KJ et al.* Clinical significance of pericardial effusion after heart transplantation. *J Heart Transplant*. 1988; 7 (2): 128–134.
17. *Valantine HA, Hunt SA, Gibbons R, Billingham ME, Stinson EB, Popp RL*. Increasing pericardial effusion in cardiac transplant recipients. *Circulation*. 1989; 79 (3): 603–609. doi: 10.1161/01.cir.79.3.603.
18. *Quin JA, Tauriainen MP, Huber LM, McIntire DD, Kaiser PA, Ring WS, Jessen ME*. Predictors of pericardial effusion after orthotopic heart transplantation. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2002 Nov; 124 (5): 979–983. doi: 10.1067/mtc.2002.124387.
19. *Hauptman PJ, Couper GS, Aranki SF, Kartashov A, Mudge GH Jr, Loh E*. Pericardial effusions after cardiac transplantation. *J Am Coll Cardiol*. 1994; 23 (7): 1625–1629. doi: 10.1016/0735-1097(94)90666-1.
20. *Ciliberto GR, Anjos MC, Gronda E, Bonacina E, Danzi G, Colombo P et al.* Significance of pericardial effusion after heart transplantation. *Am J Cardiol*. 1995; 76 (4): 297–300. doi: 10.1016/s0002-9149(99)80085-x.
21. *Yu Z, Kittleson M, Patel J, Liou F, Yabuno J, Piponniau L et al.* Moderate Pericardial Effusions After Heart Transplant: Do They Require Proactive Intervention?: Abstract# C1590. *Transplantation*. 2014 Jul 15; 98 (Issue): 427.
22. *Al-Dadah AS, Guthrie TJ, Pasque MK, Moon MR, Ewald GA, Moazami N*. Clinical course and predictors of pericardial effusion following cardiac transplantation. *Transplant Proc*. 2007; 39 (5): 1589–1592. doi: 10.1016/j.transproceed.2006.11.014.
23. *Moores DW, Allen KB, Faber LP, Dziuban SW, Gillman DJ, Warren WH et al.* Subxiphoid pericardial drainage for pericardial tamponade. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1995 Mar; 109 (3): 546–551; discussion 551-2. doi: 10.1016/S0022-5223(95)70287-3. PMID: 7877317.
24. *Petcu CP, Droc I*. The efficiency of surgical subxiphoid pericardial drainage and percutaneous pericardial drainage in pericardial effusions associated with cardiac tamponade. *Chirurgia (Bucur)*. 2013 Mar-Apr; 108 (2): 226–233. PMID: 23618573.
25. *Altıntaş G, Yaşar E, Kadiroğulları E, Hanedan MO, Diken Aİ, Çiçek ÖF et al.* A comparison of two surgical techniques for symptomatic pericardial effusion after cardiac surgery: subxiphoid open pericardial drainage and lateral thoracotomy. *Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi*. 2014; 22: 29–34.
26. *Tsang TSM, Enriquez-Sarano M, Freeman WK, Barnes ME, Sinak LJ, Gersh BJ et al.* Consecutive 1127 therapeutic echocardiographically guided pericardiocenteses: clinical profile, practice patterns, and outcomes spanning 21 years. *Mayo Clin Proc*. 2002 May; 77 (5): 429–436. doi: 10.4065/77.5.429. PMID: 12004992.

*Статья поступила в редакцию 24.01.2023 г.*
*The article was submitted to the journal on 24.01.2023*

DOI: 10.15825/1995-1191-2023-2-63-81

# ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ ИСКУССТВЕННЫХ ТКАНЕЙ И ОРГАНОВ ЧЕЛОВЕКА НА ОСНОВЕ МЕТОДА ТРЕХМЕРНОЙ БИОПЕЧАТИ

*Д.В. Булгин[1], А.Л. Ковтун[2], И.В. Решетов[3], Е.Ю. Радомская[1, 4]*

[1] Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии», Сочи, Российская Федерация

[2] Фонд перспективных исследований, Москва, Российская Федерация

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

[4] АНО ОВО «Университет «Сириус», Краснодарский край, пгт. Сириус, Российская Федерация

Трехмерная (3D) печать – это процесс послойного создания в пространстве материального объекта из виртуальной, математической модели. Метод 3D-печати основан на аддитивных технологиях – поэтапном формировании конструкции путем добавления материала на основу. 3D-биопечать – создание функциональных биологических структур, которые имитируют органы и ткани человека. Анализ научных публикаций показал, что в недалеком будущем возможно получение жизнеспособных и полноценно функционирующих искусственных копий отдельных органов и тканей человека.

*Ключевые слова: 3D-биопечать, аддитивные технологии, биофабрикация, тканеинженерные конструкции, искусственные органы, трансплантология.*

# PROSPECTS FOR FABRICATION OF ARTIFICIAL HUMAN TISSUES AND ORGANS BASED ON 3D BIOPRINTING

*D.V. Bulgin[1], A.L. Kovtun[2], I.V. Reshetov[3], E.Yu. Radomskaya[1, 4]*

[1] Kurchatov Institute, Sochi, Russian Federation

[2] Russian Foundation for Advanced Research Projects in the Defense Industry, Moscow, Russian Federation

[3] Sechenov University, Moscow, Russian Federation

[4] Sirius University, Krasnodar Krai, Russian Federation

Three-dimensional (3D) printing is a method of creating a material object layer-by-layer in space from a virtual, mathematical model. 3D printing is based on additive technologies – a step-by-step formation of a structure by adding material to the base. 3D bioprinting is the fabrication of functional biological structures that mimic human organs and tissues. Analysis of scientific publications showed that in the near future, viable and fully functional artificial copies of individual human organs and tissues can be obtained.

*Keywords: 3D bioprinting, additive technologies, biofabrication, tissue-engineered constructs, artificial organs, transplantology.*

## ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация органов и тканей является широко распространенным методом лечения тяжелой органной патологии, обширных, невосполнимых повреждений внутренних органов и тканей [1, 2]. К сожалению, у этого метода существуют серьезные недостатки – реакция отторжения трансплантата, нарушение функций донорского органа, внутреннее

**Для корреспонденции:** Булгин Дмитрий Викторович. Адрес: 354376, Краснодарский край, Сочи, Адлерский р-н, с. Веселое, ул. Мира, д. 177.
Тел. (862) 243-24-07. E-mail: bulgin@primatologia.ru

**Corresponding author:** Dmitry Bulgin. Address: 177, Mira str., Vesyoloye, Adlersky District, Sochi, Krasnodar Krai, 354376, Russian Federation.
Phone: (862) 243-24-07. E-mail: bulgin@primatologia.ru

кровотечение, послеоперационная инфекция, риск развития злокачественных новообразований, осложнения, связанные с применением неспецифических иммуносупрессоров [3, 4].

Другая нерешенная проблема в трансплантологии – глобальный дефицит донорского материала. Рабочая группа общероссийской общественной организации трансплантологов «Российское трансплантологическое общество» и ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Минздрава России ежегодно проводят сбор, обработку и анализ данных о донорстве и трансплантации органов в нашей стране. По оценкам отечественных экспертов, в России годовая потребность в пересадке органов удовлетворяется лишь для десятой части нуждающихся (потребность в трансплантации органов в РФ составляет в год не менее 11 000 пересадок почки; 2000 – печени; 1100 – сердца, включая комплекс «сердце–легкие»; 800 – легких; 300 – поджелудочной железы) [5–8].

Развитие аддитивных технологий, исследования в области регенеративной медицины, тканевой инженерии, иммунологии (поиск решения проблемы биосовместимости), криобиологии (технологии длительного хранения органов и тканей), материаловедения (биологические материалы, синтетические материалы, композитные / гибридные материалы) крайне необходимы для разработки современных методов компенсации функций поврежденных или утраченных органов и тканей [9–19].

Перспективность метода 3D-биопечати была впервые продемонстрирована в 1988 году. С использованием обычного офисного оборудования (струйный принтер) и программного обеспечения (стандартный графический редактор) показана возможность точного размещения клеток и белков клеточной адгезии в пространстве по заранее заданным координатам [20]. В настоящее время с помощью 3D-биопечати создаются функциональные биологические системы для *in vitro* исследований, анатомические биоэквиваленты различных тканей и органов человека со сложным, многокомпонентным строением [21]. В технологическом процессе используют высокоспециализированные (органоспецифичные) клетки, факторы роста, различные биосовместимые материалы [22], что обеспечивает адекватные условия для длительного функционирования созданной тканеинженерной конструкции [23, 24]. В мировой индустрии 3D-биопечати сформированы потребительские направления, определены основные научно-исследовательские группы разработчиков и производителей. На основе существующих «базисных» аддитивных технологий и метода 3D-биопечати активно разрабатываются способы получения искусственных органов и тканей, биосовместимых матриксов. Объем мирового рынка 3D-биопечати оценивается в 1,4 миллиарда долларов США и, как ожидается, достигнет 4,4 миллиарда к 2028 году [25].

Основные компании-лидеры в области 3D-биопечати представлены в табл. 1 [26, 27].

Китайская компания Sichuan Revotek и американская Organovo – две ведущие компании по количеству полученных патентов на изобретения, связанные с 3D-биопечатью [28].

Страной-лидером в этой области являются США, где создана своего рода «дорожная карта» – сценарий коммерциализации технологий регенеративной медицины в области тканевой инженерии и регенерации органов с 2000-го по 2060 г. (рис. 1) [29].

Данный сценарий состоит из следующих этапов [10]:

**2000–2015 гг**. – использование результатов исследований в области тканевой инженерии и регенеративной медицины для формирования нового мирового рынка технологий, оборудования и расходных материалов;

**2015 г**. – создание новых видов биологических полимеров для полного замещения ими синтетических биоразлагаемых матриксов;

**2025 г**. – создание производственных биотехнологических комплексов для культивирования ауто-

Таблица 1

**Основные компании-лидеры мирового рынка 3D-биопечати**

**Major companies leading the global 3D bioprinting market**

| Америка | Европа | Азия |
|---|---|---|
| Страны:<br>– США<br>– Канада<br>Компании:<br>– Aspect, Aether, SE3D, Organovo, Tevido, BIOLIFE 4D, Seraph Robotics, BioRobots, ASLS, nScrypt | Страны:<br>– Германия<br>– Франция<br>– Швейцария<br>– Швеция<br>Компании:<br>– Ourobotics, Poietis, 3Dynamic, EnvisionTEC, regenHU, REGEMAT 3D, GeSiM, CELLINK, and 3D Bio | Страны:<br>– Китай<br>– Япония<br>– Южная Корея<br>– Сингапур<br>Компании:<br>– Sichuan Revotek, Regenovo Biotech, ROKIT, Cyfuse, Pensees and Bio3D Tech |

логичных клеток и разработки технологий тканевой инженерии на их основе;

**2050 г.** – разработка технологий для преобразования аллогенного генотипа клетки в аутологичный;

**2060 г.** – открытие сети коммерческих репозиториев (банков тканей) для получения и длительного хранения персонализированных искусственных биоэквивалентов органов для конкретного реципиента.

## ОСНОВЫ ТЕХНОЛОГИИ 3D-БИОПЕЧАТИ

Главным компонентом любого 3D-биопринтера является трехосевое (X-Y-Z) позиционирующее устройство-манипулятор (рис. 2).

Программное обеспечение контролирует траекторию движения автоматизированной системы по осям X, Y, Z и дозированное поступление клеточных элементов, факторов роста и других биоматериалов в создаваемую 3D-конструкцию. Таким образом, данная технология превращает виртуальные компьютерные модели (прототипы) различных органов в реальные искусственные органы [30].

В настоящее время компании-производители предлагают широкий ассортимент биопринтеров для печати живыми клетками, которые имеют различные проектно-технические решения, но эти устройства сохраняют единый для всех моделей принцип работы – послойное нанесение из печатной головки на поверхность построения клеточных популяций, помещенных в биосовместимую поддерживающую основу (растворимые гидрогели) [31].

## ВОЗМОЖНЫЕ ВАРИАНТЫ 3D-БИОПЕЧАТИ

Методы 3D-биопечати можно разделить на три основные группы [32].

1. Непрерывный (экструзионный) метод – из шприца или специального диспенсера поступает постоянная струя. Биопринтеры на основе экструзии используют системы с механическим или пневматическим приводом, которые размещают клетки в форме нити.
2. Прерывистый (капельный) метод – поступление микрокапель. Биопринтеры на основе капель используют механизмы с тепловым, пьезо- или акустическим приводом для осаждения капель клеточной суспензии с высокой пропускной способностью.
3. В лазерных биопринтерах применяется бесконтактный метод нанесения биоматериала, где высокочастотная импульсная энергия лазерного луча переносит каплю гидрогеля, содержащую клетки, на принимающую поверхность. В англоязычной литературе этот метод биопечати обозначен термином *laser direct writing*. Данная технология позволяет с высокой скоростью создавать структуры плотностью $10^8$ клеток в 1 $см^3$ и разрешением в 1 клетку [33].

Рис. 1. «Дорожная карта» коммерциализации технологий регенеративной медицины в США [29]

Fig. 1. Roadmap for the commercialization of regenerative medicine technologies in the United States [29]

## БИОМАТЕРИАЛЫ ДЛЯ 3D-БИОПЕЧАТИ

Для получения функционирующей тканеинженерной конструкции необходимо использование носителей из биоматериалов с заранее определенными характеристиками – натуральные, синтетические или композитные материалы. При выборе наиболее подходящих материалов и методов их получения необходимо одновременно учитывать множество биологических, физических и химических параметров, от которых зависят внутренняя архитектоника, время резорбции, биосовместимость (*иммунологическая реактивность*), наличие в матриксе и контролируемое высвобождение биологически активных веществ (*специфичные белки внеклеточного матрикса, факторы роста, цитокины*), овечающих за пролиферацию и рост клеток, регулирующих паренхиматозно-стромальные и межклеточные взаимодействия [34–36]. Размер пор и общая пористость матрикса (рис. 3 и 4) оказывают влияние на скорость диффузии, дренаж и доставку кислорода, питательных веществ, различных регулирующих факторов, удаление продуктов метаболизма за счет формирования сосудов микроциркуляторного русла, прочих процессов гомеостаза, которые необходимы для предотвращения ишемического повреждения и долговременного сохранения полноценных биологических свойств и физиологических функций созданной тканеинженерной конструкции [36, 37].

Экспериментально доказано, что при диаметре пор, превышающем 500 мкм, миграция клеток невозможна, поскольку они не распознают поверхность. Матриксы с множественными, однородными и сообщающимися между собой порами (пористость до 70%), имеющими диаметр от 50 до 500 мкм, идеально подходят для создания тканеинженерных конструкций [38, 39].

В последние годы в качестве материалов для создания биоразлагаемых 3D-матриксов все чаще стали применять биополимеры (табл. 2). В отличие от биоразлагаемых синтетических полимеров биополимерные материалы или их композиты, содержащие биологически активные вещества, в наибольшей степени удовлетворяют основным требованиям, предъявляемым к матриксам в тканеинженерных конструкциях [40]:

- биосовместимость изделия и продуктов его разложения;
- наличие биостимулирующих свойств;
- возможность регулировать время биодеградации;
- способность к неоваскуляризации и неоиннервации;
- способность выдерживать нагрузки, обеспечивать прочность и устойчивость тканеинженерных конструкций, поддерживать жизнеспособность клеточных элементов;

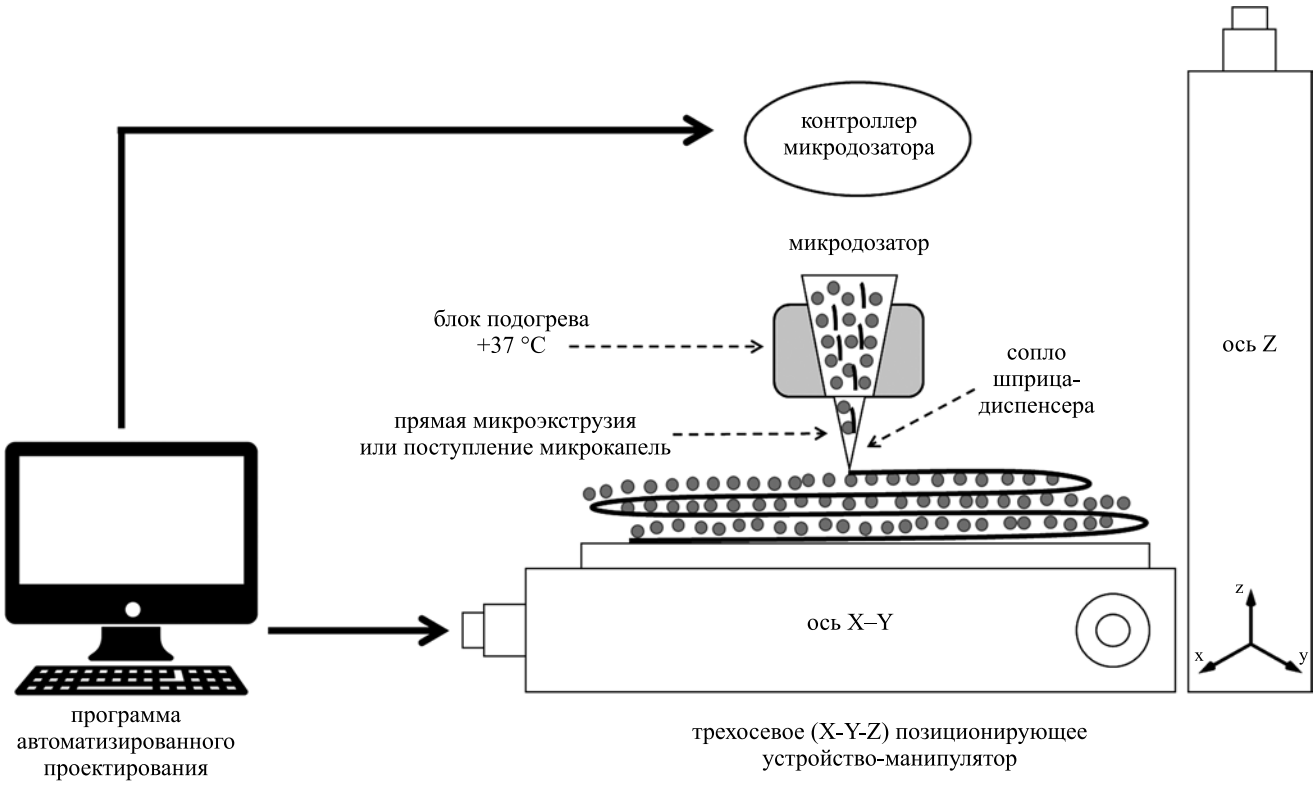


Рис. 2**.** Схематическое изображение устройства для 3D-биопечати

Fig. 2. Schematic representation of 3D bioprinting device

– полноценное соединение с клеточными популяциями, стимулирование и контроль их роста;
– стерилизация с сохранением биологических и медико-технических характеристик полученной структуры.

Окружение клеток полупроницаемым гидрогелем из биополимера – перспективная технология, позволяющая сохранить жизнеспособность клеточных популяций в процессе биопечати [41]. Шведские исследователи предложили использовать нановолокна целлюлозы в комбинации с клетками. Хондроциты, помещенные в наноцеллюлозу, сохраняли свою жизнеспособность (86% жизнеспособных клеток) в напечатанной конструкции до 7 суток [42]. Были созданы биоразлагаемые матриксы с объемной пористостью до 70% на основе алифатических полиэфиров, содержащие биоактивные компоненты – гидроксиапатит, энзимы, факторы роста и лекарственные препараты [43]. Важно учитывать влияние различных биологически активных веществ, продуцируемых организмом в ходе ответной реакции на имплантацию тканеинженерной конструкции – развитие оксидативного стресса, характеризующегося высоким содержанием соединений, вступающих в реакции по свободнорадикальному механизму [44]. Свободные радикалы способны разрушать клеточные мембраны, повреждать молекулы ДНК, вызывать окислительную деструкцию митохондрий.

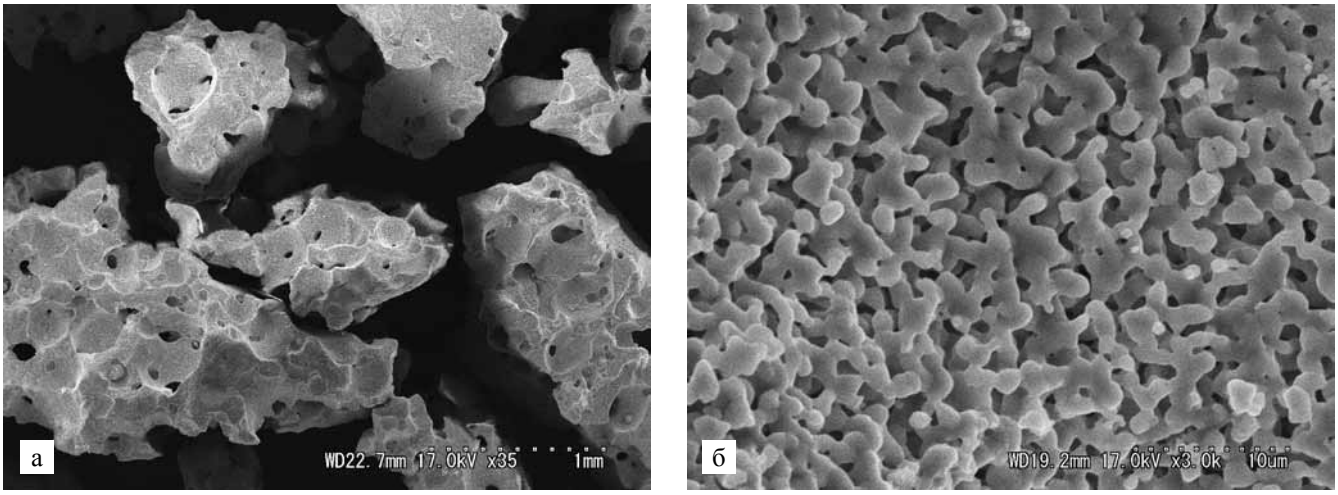


Рис. 3. Микрофотография матрикса на основе бета-трикальцийфосфата (β-TCP), полученная при помощи растровой электронной микроскопии: а – макроструктура; б – микроструктура. Гранулы β-TCP содержат множественные микропоры, имеющие размеры от 100 до 400 мкм, общая пористость матрикса – 75%

Fig. 3. Micrograph of a matrix based on beta-tricalcium phosphate (β-TCP) obtained by scanning electron microscopy: a – macrostructure; б – microstructure. β-TCP granules contain multiple micropores ranging in size from 100 μm to 400 μm; total matrix porosity 75%

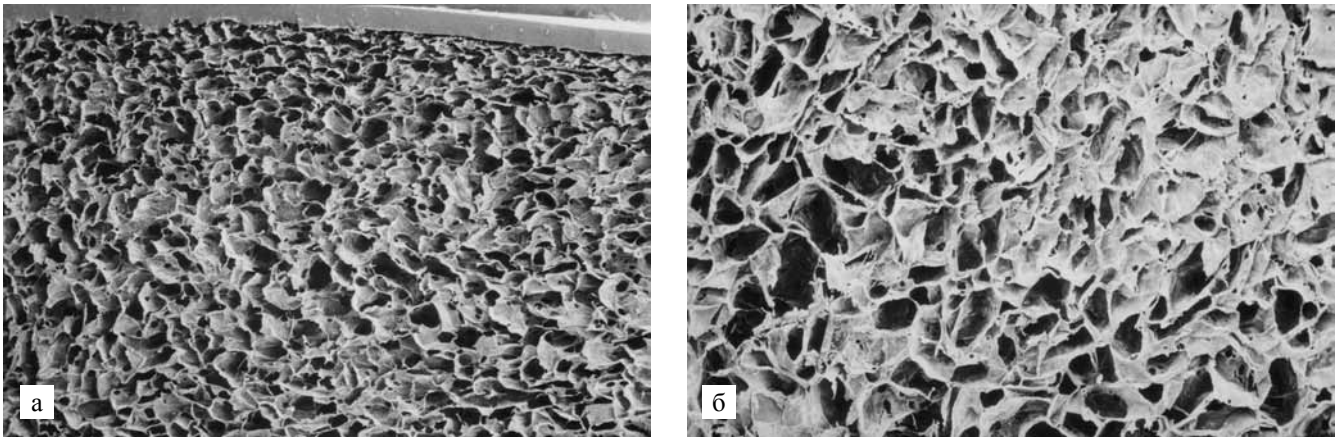


Рис. 4**.** Микрофотография матрикса на основе коллагена, полученная при помощи растровой электронной микроскопии: а – макроструктура; б – микроструктура, многочисленные микропоры имеющие размеры от 50 до 500 мкм

Fig. 4. Micrograph of collagen-based matrix obtained by scanning electron microscopy; a – macrostructure; б – microstructure, numerous micropores ranging in size from 50 μm to 500 μm

Представляется перспективным метод создания тканеинженерных конструкций на основе микроструктурированных биополимерных гидрогелевых матриксов с антиоксидантной и антирадикальной активностью [10, 45]. Преимущества, недостатки, а также перспективы использования некоторых изученных к настоящему времени материалов представлены в табл. 3 [35, 46].

Следует отметить, что упругость (эластичность) матрикса влияет на рост и дифференцировку клеток – это необходимо учитывать при выборе носителя. Однако мягкие полимеры не позволяют воссоздать структуру органа на микро- и нано-уровнях (рис. 5).

## СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОБЛАСТИ 3D-БИОПЕЧАТИ ОРГАНОВ

Многочисленные научные публикации подтверждают перспективность использования 3D-биопечати как в научно-исследовательских целях, так и в клинической практике [47]. Были созданы конструкции, имитирующие миокард [48], костную и хрящевую ткани [49], кровеносные сосуды с множественными разветвлениями [50], кожные покровы [51], периферические нервы [52]. Представлена модель печени для изучения фармакокинетических процессов (всасывание, экскреция, распределение и метаболизм)

Таблица 2

**Биополимерные материалы, наиболее часто используемые в тканевой инженерии и регенеративной медицине [10]**

**Biopolymer materials most commonly used in tissue engineering and regenerative medicine [10]**

| Наименование биополимера | Источник |
|---|---|
| Алгинаты | Полисахарид из бурых морских водорослей |
| Коллаген, эластин | Белок внеклеточного матрикса |
| Желатин | Термически денатурированный коллаген |
| Хитозан | Производное хитина (источник: раки, крабы, креветки) |
| Фиброин шелка | Белок кокона (тутовый шелкопряд) |
| Спидроин | Белок паутины |
| Гиалуроновая кислота | Компонент внеклеточного матрикса |

Таблица 3

**Основные группы материалов для 3D-биопечати (преимущества, недостатки и перспективы использования)**

**Main groups of materials for 3D bioprinting (advantages, disadvantages and prospects for use)**

| Материал | Преимущества | Недостатки | Сложности | Перспективы |
|---|---|---|---|---|
| Биологические материалы | Природное происхождение, биосовместимость, сохранены свойства натуральных тканей | Ограничения при создании материалов с заданными параметрами | Риск развития иммунного ответа, биодеградация, трудности при создании многокомпонентных матриксов с добавлением синтетических материалов | Разработка биоактивных матриксов с заданными характеристиками, получение новых композитных материалов |
| Синтетические материалы | Получение полимерных материалов с воспроизводимыми характеристиками | Риск развития иммунного ответа, химическая нестабильность, нарушение гомеостаза в окружающих тканях | Создание материалов (биомиметиков) на основе принципов, реализованных в живой природе | Создание композитных биоматериалов с заданными характеристиками, разработка биоактивных матриксов |
| Гибридные материалы | Идеальное сочетание свойств природных и синтетических полимеров | Нет | Получение неиммуногенных матриксов со свойствами натуральных тканей и возможностью биодеградации | Разаработка биоактивных матриксов с заданными свойствами |
| Материалы, полученные из децеллюляризированных тканей и органов | Природное происхождение, сохранение структурной архитектоники ткани, имевшейся до децеллюляризации | Необходимо наличие донорского материала | Риск возникновения реакции отторжения как следствие возможных нарушений в технологии децеллюляризации органа; получение носителя с сохранением всех характеристик натуральной ткани | Получение органоидов и функциональных моделей биоинженерных органов |

*in vitro* [53]. Японские исследователи использовали для 3D-биопечати сфероиды – клеточные агрегаты сферической формы, состоящие из хондроцитов, фибробластов, мезенхимальных стволовых клеток костного мозга для создания миниатюрной модели трахеи [54]. Учеными из Швейцарии создана функционирующая модель альвеолярно-капиллярной мембраны, состоящая из эндотелиальных клеток, базальной мембраны и клеток альвеолярного эпителия [55]. Выполнены успешные эксперименты на моделях лабораторных приматов по вживлению отдельных структурно-функциональных компонентов бронхо-легочного комплекса [56]. Разработана технология создания однослойных моделей из клеток альвеолярного, бронхиального и кишечного эпителия как основы для сложных конструкций дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта, которые возможно использовать для оценки токсичности фармакологических препаратов [57]. Предложен метод печати кровеносных сосудов с использованием тканевых сфероидов, имеющих просветы, которые при слиянии друг с другом формируют полноценную сосудистую сеть [58]. Показано, что сосуды, выполненнные только из клеток, без использования каких-либо плотных поддерживающих каркасов, могут быстро созревать в биореакторе и приобретать свойства, сопоставимые со свойствами натуральных кровеносных сосудов [59]. Многокомпонентные сфероиды, состоящие из эндотелитальных клеток пупочной вены человека (40% от всех клеточных популяций), гладкомышечных клеток из стенки аорты человека (10%) и человеческих фибробластов кожи

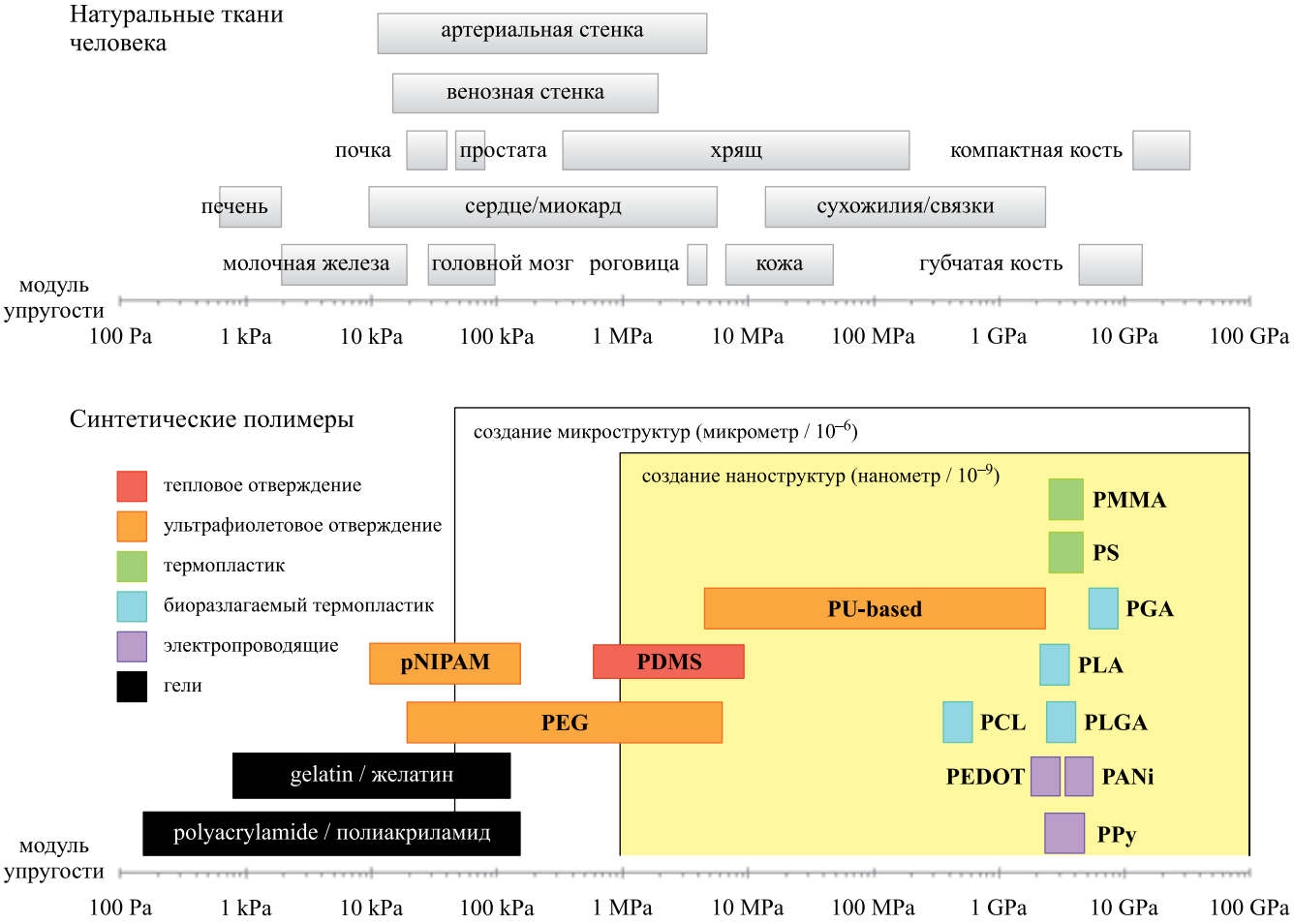


Рис. 5. Механические свойства натуральных тканей человека и синтетических полимеров. PDMS – полидиметилсилоксан; PU – полиуретан; PEG – полиэтиленгликоль; pNIPAM – поли-N-изопропилакриламид; PMMA – полиметилметакрилат; PS – полистирол; PLGA – поли-d,l-лактид-ко-гликолид; PGA – полигликолиевая кислота; PLA – полилактид; PCL – поликапролактон; PANi – полианилин; PPy – полипиррол; PEDOT – поли-3,4-этилендиокситиофен. Источник: Annals of Biomedical Engineering, 2012; 40 (6), 1339–1355

Fig. 5. Mechanical properties of natural human tissues and synthetic polymers. PDMS – polydimethylsiloxane; PU – polyurethane; PEG – polyethylene glycol; pNIPAM – poly-N-isopropylacrylamide; PMMA – polymethylmethacrylate; PS – polystyrene; PLGA – polylactic-co-glycolic acid; PGA – polyglycolic acid; PLA – polylactide; PCL – polycaprolactone; PANi – polyaniline; PPy – polypyrrole; PEDOT – poly-3,4-ehtylenedioxythiophene. Source: Annals of Biomedical Engineering, 2012; 40 (6), 1339–1355

человека (50%), использовались для 3D-биопечати модели кровеносного сосуда. После культивирования в перфузионном биореакторе полученная модель в виде трубчатой конструкции диаметром 1,5 мм была успешно имплантирована в брюшной отдел аорты у крысы [60]. Учеными из Университета Карнеги-Меллон (Carnegie Mellon University, Pittsburgh, USA) разработан метод биопечати сердца и кровеносных сосудов с использованием в качестве поддерживающих материалов коллагена, альгината и фибрина. Так как структуры из выбранных исследователями материалов во время 3D-печати разрушались под собственным весом, было решено использовать при создании органов особый каркас на основе желатина. Затем температуру готовой модели повышали до 37 °C, и желатиновый каркас растворялся, не повреждая полученную структуру. Данный метод получил название FRESH (Freeform Reversible Embedding of Suspended Hydrogels) [61]. С использованием однокомпонентных сфероидов из мезенхимальных стволовых клеток человека была создана модель уретры, полученную конструкцию поместили в биореактор для последующей дифференцировки стволовых клеток в клетки уроэпителия. Через 10 суток созревания в биореакторе тканеиженерная конструкция была успешно пересажена крысе [62]. Результаты недавно выполненных доклинических исследований свидетельствуют о возможности пересадки 3D-конструкций из аллогенных β-клеток поджелудочной железы человека в лечении сахарного диабета 1-го типа [63]. На животных моделях острой печеночной недостаточности проводятся доклинические исследования возможности применения аллогенных 3D-конструкций, состоящих из комбинации первичных гепатоцитов и мезенхимальных стволовых клеток человека, в лечении пациентов, страдающих от приобретенных или генетических заболеваний печени [64]. Разработана технология создания нервной ткани с использованием человеческих индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (hiPSC), полученных из нейральных клеток-предшественников (NPC) [65].

Получены кольцевые модели гладкомышечной ткани дыхательных путей и кишечника человека, которые реагировали на химическое раздражение в виде сокращения и расслабления гладкомышечных волокон. Волокна сокращались при воздействии физиологических концентраций гистамина (0,01–100 мкМ) и расслаблялись от действия сальбутамола – препарата, используемого для купирования приступов бронхиальной астмы. Добавление трансформирующего фактора роста бета (TGFβ) к мышечным кольцам дыхательных путей вызывало увеличение нестимулированного сокращения мышц и снижение ответа на сальбутамол, явление, которое также наблюдается при хронических заболеваниях легких. Результаты показывают, что трехмерная биопечатная гладкая мышца является физиологически значимой моделью *in vitro*, которую можно использовать для изучения путей развития заболеваний и влияния новых терапевтических средств на острое сокращение и хронический стеноз тканей [66]. Исследователи из Корнелльского Университета, США (*Cornell University, USA*) разработали метод индивидуальной 3D-биопечати межпозвоночных дисков, который идеально подходит для конкретного пациента [67]. Заслуживает внимания сообщение о создании бионического уха на основе хондроцитов теленка, гидрогеля (*алгината*) и наночастиц серебра. Созданная конструкция повторяет анатомическую форму человеческого уха, имеет встроенную индуктивную антенну для улавливания электромагнитных колебаний в *Hz*- и *GHz*-диапазонах [68].

## ПРИМЕРЫ УСПЕШНОЙ КОММЕРЦИАЛИЗАЦИИ МЕТОДОВ 3D-БИОПЕЧАТИ

**Organovo** (*Сан-Диего, Калифорния, США*). Компания Organovo первая разработала и представила на рынок оборудование для 3D-биопечати – NovoGen Bioprinter® Platform. Технологические параметры платформы позволяют создавать функциональные модели костной ткани, тканей печени, почки, кишечника, кожи, кровеносных сосудов, скелетной мышцы, тканей глаза, злокачественных опухолей молочной железы и поджелудочной железы [69, 70]. Для фармацевтических компаний создаются многокомпонентные тканеинженерные конструкции с заранее заданными функциями [71–73]. Значимым успехом компании явилось создание *in vitro* функционирующей 3D-модели ткани печени (ExVive™ Human Liver Tissue). В создании модели использованы первичные человеческие гепатоциты, клетки Купфера, звездчатые клетки (клетки Ито), эндотелиоциты [74]. Полученная модель стабильно функционировала в течение 40 суток [75, 76]. Специалисты компании представили трехслойную модель стенки сосуда человека. Все клеточные популяции в составе созданной конструкции были функционально активны [77, 78]. Компания активно разрабатывает технологию для создания биоэквивалента почки [79].

**TeVido Biodevices** (*Аустин, Техас, США*). Компания специализируется на изготовлении персонализированного искусственного комплекса «сосок–ареола» (*nipple areola complex*), использующегося на заключительной стадии реконструкции молочной железы после радикальной мастэктомии [80]. Другое направление деятельности – разработка васкуляризированных заменителей кожных покровов для лечения витилиго, хронических ран и ожогов. В процессе создания биоконструкций используются аутологичные

стволовые клетки, выделенные из жировой ткани и дермы пациента [81].

**Nano 3D Biosciences** (*Хьюстон, Техас, США*). Компания разрабатывает технологию создания тканевых сфероидов в магнитном поле (*magnetic* 3D *bioprinting*) для последующего использования для биопечати. Данная технология в кратчайшие сроки позволяет получать модели тканей для исследований *in vitro* [82–84].

**Tissue Regeneration Systems** (*Плимут, Мичиган, США*). Компания разрабатывает и производит полимерные имплантаты для замещения дефектов костной ткани. Продукция компании сертифицирована Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов Министерства здравоохранения и социальных служб США (Food and Drug Administration) и широко используется в стоматологии, челюстно-лицевой хирургии, травматологии и ортопедии, нейрохирургии [85].

**nScrypt** (*Орландо, Флорида, США*). Разработка программного обеспечения, производство биосовместимых материалов и оборудования для 3D-биопечати – комплекс BFF (BioFabrication Facility). В процессе печати возможно одновременно использовать до 4 разных видов биосовместимых материалов, включая живые клеточные популяции. Возможности комплекса позволяют создавать заданные структуры до 10 микрон в диаметре (диаметр человеческого эритроцита от 7 до 10 микрон), с минимальным рабочим объемом материала в диспенсере 100 пиколитров. В 2019 году на борту Международной космической станции в условиях невесомости совместно с исследовательской биотехнологической (космические биотехнологии) компанией Techshot (США) была выполнена 3D-биопечать ткани миокарда человека. Земная гравитация не позволяет печатать биологические объекты крупных размеров – гидрогелевые основы не держат форму, растекаются под собственным весом. Эксперимент доказал работоспособность в условиях невесомости специально сконструированной аддитивной системы [86].

Эти же компании (nScrypt и Techshot), при финансовой поддержке Женевского фонда (The Geneva Foundation – некоммерческая организация, финансирующая исследования в области военной медицины), совместно с Военной академией США (U.S. Military Academy at West Point), Военно-медицинским университетом США (Uniformed Services University) в рамках исследовательской программы 4D Bio3 (4-Dimensional Bioprinting, Biofabrication and Biomanufacturing – междисциплинарная программа биомедицинских исследований и практического внедрения перспективных биотехнологий для нужд армии США) [87] провели испытания ударопрочной версии комплекса BFF – nRugged bioprinter. Оборудование было размещено на базе военно-медицинского подразделения армии США в пустынной местности Северной Африки, в непосредственной близости от зоны ведения активных боевых действий [88, 89].

Во время полевых испытаний комплекса BFF были изготовлены различные инструменты и расходные материалы медицинского назначения, необходимые как для медицинской службы войскового звена, так и для крупных многопрофильных военных госпиталей:

- ручки-держатели для одноразовых лезвий;
- гемостатические средства;
- перевязочный материал с использованием антибактериального гидрогеля;
- функциональная модель мениска на основе мезенхимальных стволовых клеток человека и гидрогеля в качестве матрикса;
- хирургическая модель 9-го грудного позвонка (Th 9) [90].

Выбор мениска как объекта эксперимента обусловлен высокой частотой травм коленного сустава среди военнослужащих (повреждения мениска у военнослужащих встречаются в 10 раз чаще по сравнению с гражданскими лицами) [91]. Цифровая модель, использованная для печати мениска, была отправлена в виде электронного файла с территории США – это была первая демонстрация киберпроизводства, при котором информация о сложных конструкциях передается через спутниковую связь в отдаленное место для производства функциональной модели [90].

**Advanced Solutions Life Sciences** (*Луисвилл, Кентукки, США*). Компания занимается разработкой программного обеспечения для 3D-биопечати. С использованием этих программ создаются трехмерные компьютерные модели для последующего изготовления сложных тканеинженерных конструкций [92]. Оборудование для биопечати собственной разработки *BioAssemblyBot* – сертифицированное, полностью роботизированное многофункциональное устройство на базе 6-осевой (6 осей движения руки) роботизированной руки EPSON [93] для печати функциональных моделей различных тканей и органов, имплантатов сложных геометрических форм [94]. Конструктивные особенности оборудования позволяют печатать васкуляризированные тканеинженерные конструкции для клинического применения непосредственно в операционной – биопечать *in situ* в асептических условиях [95].

**MicroFabTechnologiesInc** (*Плейно, Техас, США*). Компания является пионером в области разработки метода жидкой биопечати (*ink-jet dispensing*). В настоящее время совместно с Институтом регенеративной медицины Министерства обороны США (*Armed Forces Institute of Regenerative Medicine*) и с одним из ведущих научно-исследовательских медицинских центров *Wake Forest Institute of Regenerative Medicine* разрабатывает технологию ускоренной ре-

генерации ожоговых ран кожи. Основная цель данного проекта – разработать метод биопечати кожи непосредственно на поврежденный участок [96]. Еще одним перспективным направлением деятельности компании является создание специальных оболочек-проводников (*bioabsorbable nerve guidance conduits*), используемых для роста периферических нервов. Данная конструкция помещается между поврежденными участками нерва. Дистальный и проксимальные концы поврежденного нерва соединяются с оболочкой-проводником, процессы роста и регенерации нерва идут внутри проводника. В дальнейшем оболочка-проводник полностью резорбируется [97].

**ETEC** (*Дирборн, Мичиган, США)*. Производит оборудование 3D Bioplotter, с использованием технологий, разработанных в Центре исследования материалов Фрейбурга (Freiburg Materials Research Center). Изготавливают сложные тканеинженерные конструкции из различных биосовместимых материалов [98–100]. 3D Bioplotter может одновременно выполнять печать с использованием пяти различных материалов и их смесей (живые клеточные популяции, полимерные гидрогели, керамика, металлы) различной консистенции (*от пастообразных до жидких*), возможно использовать материалы любого происхождения, разной концентрации и с любыми добавками (табл. 4). Каждый пользователь может использовать свои параметры печати [101].

В основе технологии лежит метод экструзии (*выдавливания*) из шприца. Преимущество использования системы подачи материала на основе шприцов – в возможности 3D-печати при комнатной температуре, что позволяет включать в печатные конструкции живой клеточный материал. В комплекте 3D Bioplotter имеются 4 вида печатающих головок:

– низкотемпературная (от 2 до 70 °C);
– высокотемпературная (от 30 до 250 °C);
– ультравысокотемпературная (от 30 до 500 °C);
– УФ-излучаемая (при использовании для печати фотополимерных материалов).

**Cyfuse Biomedical** (*Токио, Япония*). На оборудовании собственной разработки *Regenova Bio 3D Printer* с использованием бескаркасного метода (scaffold-free tissues biofabrication method) создаются тканеинженерные конструкции. В процессе создания используются сфероиды – клеточные агрегаты сферической формы, образованные из аутологичных или аллогенных клеточных популяций различного происхождения. В основе метода – способность живых клеток образовывать агрегаты сферической формы при культивировании на неадгезивных поверхностях. Тканевой сфероид – это группа от 15 до 20 тысяч клеток, которые сцеплены между собой, образуют пространственную трехмерную структуру в форме сферы. Сфероиды размером от 400 до 600 микрон могут быть однокомпонентными – состоять из одного вида клеток – или многокомпонентными – образованными из различных типов клеток и биоматериалов. Во время печати тканевые сфероиды «нанизываются» на металлическую основу, образованную из тончайших игл (напоминает основу для крепления цветов при составлении икебаны – KENZAN). Каждая игла имеет длину 1 см и диаметр 170 микрон, иглы расположены в строго определенной последовательности (9 × 9 или 26 × 26) с интервалом 400 микрон друг от друга) [102]. Возможности технологии Micro Needle Array Technology (MNAT) позволяют изготавливать тканевые конструкции из различных типов клеточных популяций. Далее полученная конструкция инкубируется до тех пор, пока сфероиды не соединятся между собой, образовав крупные клеточные ассоциаты, способные самостоятельно синтезировать компоненты внеклеточного матрикса и формировать заданную структуру. Эта технология открывает широкие возможности для биоинженерии тканей и органов [103]. В перспективе возможна печать островков поджелудочной железы, миокарда, кожи [104, 105].

**Regenovo Biotechnology** (*Ханчжоу, КНР*). Разрабатывает и производит оборудование для 3D-биопечати – *Regenovo 3D bioprinter*, BIO-ARCHITECT X. Отличительной особенностью устройства является высокая скорость изготовления моделей. Специальные насадки позволяют одновременно создавать раз-

Таблица 4

**Материалы, используемые при работе с 3D Bioplotter**

**Materials used when working with 3D Bioplotter**

| Регенерация костной ткани | Направленный транспорт лекарственных веществ (drug release) | Биофабрикация мягких тканей, биопечать органов | Прототипирование 3D-моделей |
|---|---|---|---|
| Гидроксиапатит (HA) | Поликапролактон (PCL) | Суспензии живых клеточных популяций | Полиуретан (PU) |
| Трикальцийфосфат (TCP) | Поли-D,L-лактид-ко-гликолид (PLGA) | Агар, хитозан, альгинаты, гиалуроновая кислота | Силикон |
| Титан (паста) | Поли-L-лактид (PLLA) | Желатин, фибрин, агароза, коллаген | Акрилаты |

личные типы тканей с высоким уровнем разрешения. Наличие высокоточного инфракрасного лазера дает возможность проверять качество внутренней структуры ткани во время производства. В 3D-биопринтере используется инновационная система микрокомпьютерной томографии, позволяющая печатать широкий ассортимент тканей и органов (включая кожу, мышечную, хрящевую и костную ткани, сухожилия, ткань печени). По прогнозам специалистов компании, массовое «производство» искусственных тканей и органов для трансплантации возможно осуществить через 15–20 лет. Кроме производства оборудования компания производит биоматериалы для трехмерной печати. В настоящее время компания предлагает более 20 наименований биоматериалов из органических и неорганических полимеров. Выживаемость клеток в материалах Regenovo составляет 90%, они функционируют до четырех месяцев [106].

**RegenHU** (*Швейцария*). Разработчик программного обеспечения и производитель оборудования (биопринтеры) и расходных материалов на основе коллагеновых гидрогелей. В процессе 3D-биопечати функционально активных биологических эквивалентов кожи, костной и хрящевой тканей человека одновременно используется до 9 различных компонентов (клетки, тканевые сфероиды, различные биоматериалы) [107, 108]. Создана персонализированная 3D-модель медиального мениска человека на основе коллагенового гидрогеля и аутологичных мезенхимальных стволовых клеток, выделенных из костного мозга пациента. Полученный прототип явился отправной точкой для последующих разработок технологий изготовления индивидуальных имплантатов, предназначенных для замены поврежденных менисков [109]. Разработана технология создания биоэквивалента кожи, который морфологически и функционально сопоставим с нативной кожей человека [110]. Предложена новая концепция создания персонализированной ткани миокарда. Из жировой ткани (сальника) пациентов выделяли клеточные популяции и внеклеточный матрикс. Клетки были перепрограммированы в плюрипотентные стволовые клетки, а внеклеточный матрикс был трансформирован в персонализированный коллагеновый гидрогель. После смешивания клеток с гидрогелем их дифференцировали в кардиомиоциты для создания иммуносовместимой и васкуляризированной ткани миокарда, специфичной для конкретного пациента [111].

**Osteopore International**, *Сингапур*. Производство персонализированных имплантатов для нейрохирургии, травматологии, челюстно-лицевой хирургии и стоматологии из биорезорбируемого полимера поликапролактона (polycaprolactone / PLC). PLC представляет собой биоразлагаемый полимер, который полностью распадается и резорбируется *in vivo* путем гидролиза. Пористая микроструктура материала, которая имитирует строение натуральной губчатой кости человека, обеспечивает заселение клеточными популяциями костного мозга, развитие сети сосудов микроциркуляторного русла. Полное замещение (биорезорбция) имплантата на основе PLC собственной костной тканью пациента происходит в течение 18–24 месяцев [112–114].

**OxSyBio**, *Великобритания*. Технологии 3D-биопечати основаны на использовании микрокапель гидрогеля (полимеросом), покрытых липидным слоем. Живые клетки помещают в полимеросомы, что предохраняет клеточный материал от повреждения в процессе печати. Каждая капля имеет такой же размер, как и клетка, и ее можно расположить с точностью до 1 микрона. При печати данным методом можно формировать конструкции различных геометрических форм. Созданные конструкции проводят электрические импульсы, как нервные клетки, в определенном направлении. Значительные успехи достигнуты в области разработки биоматериалов для лечения раневых поверхностей. Планируется создание сложных органов путем комбинации синтетических материалов с живыми клеточными культурами для создания органов и тканей для трансплантаций [115, 116].

## ПЕРСПЕКТИВЫ БУДУЩЕГО И ТЕХНОЛОГИИ ДВОЙНОГО НАЗНАЧЕНИЯ

Анализ отечественных и зарубежных научных публикаций по данной теме указывает на возможность получения технологий для создания полноценно функционирующих искусственных органов с использованием метода 3D-биопечати до конца следующего десятелетия [117]. Однако в настоящее время использование биопечатных тканей и органов в доклинических исследованиях и в клинической практике весьма ограничено [118, 119]. Для этого необходимо решить целый ряд существенных технологических проблем. Получаемые трехмерные печатные конструкции статичны, они не способны воспроизводить натуральную динамическую природу ткани – процессы естественной регенерации и восстановления, которые включают конформационные изменения в структуре [120]. Предстоит совершенствовать характеристики биоматериалов, способных поддерживать пролиферацию и дифференциацию клеток [121–123]. Перспективное направление – создание биосовместимых матриксов из биоматериалов и клеточных элементов, реагирующих на стимулы, такие как температура, pH, влажность, электричество, магнитное поле, свет, звуковые волны, или на сочетание этих раздражителей [124]. Уже начаты разработки моделей, меняющих свою морфологию с течением времени, в соответствии с заданными

стимулами из окружающей среды [125]. Крайне сложная задача – создание васкуляризированных моделей [126, 127]. Для человеческих тканей и органов нормальной анатомической формы и величины необходимо разработать технологии, позволяющие интегрировать в создаваемую модель кровеносные сосуды. Существующие методы 3D-биопечати не позволяют одновременно формировать кровеносные сосуды и остальные элементы, образующие парехиму и строму органа [128]. Полноценная васкуляризация обеспечивает длительное, адекватное функционирование биопечатной конструкции [129]. Для создания сосудистого компонента в печатной модели необходимы более совершенные биопринтеры, разрешение и скорость у современного оборудования недостаточны [130, 131]. Ниже представлены оптимальные технические характеристики оборудования для 3D-биопечати будущего [132]:

– высокая степень свободы и скорость движения в пространстве, позволяющие наносить биоматериалы на неровные поверхности поврежденного органа и восстанавливать утраченные ткани *ex tempore*;

Таблица 5

**Потенциал использования метода трехмерной биопечати**

**Potential for 3D bioprinting**

| Применение | Описание |
|---|---|
| Средства маскировки | Использование гибридных биоматериалов с характеристиками технологии stealth при создании одежды и покрытий, малозаметных в радиолокационном, инфракрасном и других областях спектра |
| Идентификация в боевых условиях | Биологические маркеры для опознавания собственных солдат и солдат союзников (биологический аналог системы опознавания «свой–чужой») |
| Компьютеры, базы данных | Компьютеры с использованием ДНК-технологий, биологические модели для компьютерных алгоритомов. Ассоциативная память, вычислительные приборы с использованием биоматериалов. Искусственный разум – белки как средство работы с информацией и энергией |
| Продукты питания | Пищевые добавки для защиты пищеварительной системы от воздействия неблагоприятных факторов окружающей среды |
| Удаленный контроль за состоянием здоровья военнослужащего | Создание имплантируемых биосенсоров, позволяющих в режиме реального времени проводить дистанционный мониторинг жизненных функций организма в боевых условиях, контроль окружающей среды на предмет своевременного оповещения о применении противником оружия массового поражения |
| Облегченная броня | Защита солдат и боевых систем, защитные покрытия с характеристиками живых тканей, создание самовосстанавливающейся брони для защиты тела |
| Защита боевых электронных систем от воздействия ионизирующей радиации и электромагнитного излучения | Включение гибридных биомолекул в состав компонентов электронных систем, диоды и транзисторы на биомолекулярной основе |
| Боевая робототехника | Биологические конструкции-прототипы для создания самодвижущихся бионических платформ, создание антропоморфного робота |
| Уменьшение размеров и веса оборудования | Молекулярная электроника, биочипы, нанотехнологии |
| Системы мониторирования окружающей среды в зоне ведения боевых действий | Создание миниатюрных диагностических систем (*мини-лаборатория на чипе*) для обнаружения и распознавания химических, биологических и радиоактивных веществ |
| Военно-полевая терапия, военно-полевая хирургия | Ускорение сроков регенерации ран, создание искусственных тканей и органов |
| Искусственная иммунная система (создание трехмерной иммунной системы человека), разработка вакцин, генные и клеточные технологии | Вакцины с укороченным сроком возникновения иммунитета, создание средств защиты на основе генных и клеточных технологий от оружия массового поражения, новые методы лечения пораженных военнослужащих.<br>Биологический подход к сохранению боеспособности в экстремальных условиях:<br>– возможность проектирования принципиально нового сложного белка (белковой машины), который сможет нейтрализовать патогенный организм в течение 24 часов;<br>– изучение механизмов регуляции и экспрессии новых генов и веществ, создаваемых организмом при входе и выходе из экстремальных условий;<br>– редактирование ДНК в живом организме;<br>– биомолекулы, которые способны нейтрализовать последствия длительного отсутствия сна |

– высокое разрешение и точность печати, позволяющие наносить биоматериалы с точностью, соответствующей строению нативной ткани;
– возможность одновременного использования различных типов биоматериалов для изготовления гетероклеточных тканей, максимально схожих по строению и функциям нативной ткани;
– компактность для работы в стерильных условиях (ламинарный бокс);
– возможность стерилизации биомиатериалов в процессе биопечати;
– полная автоматизация, облегчающая биопечать без вмешательства пользователя;
– универсальность, которая позволяет пользователям модифицировать и расширять технические возможности оборудования для многоцелевого использования;
– простота использования, позволяющая пользователям с минимальными навыками и опытом работать с оборудованием.

Следует отметить, что любая революционная технология всегда имеет потенциал двойного назначения [133, 134]. Возможности использования метода 3D-биопечати в создании новых классов вооружения, средств обеспечения боевых действий, продукции специального и двойного назначения представлены в табл. 5 [135, 136].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дальнейшее совершенствование технологий 3D-биопечати позволит решить проблему дефицита донорского материала и значительно расширит возможности практической трансплантологии [137–140]. Открываются широкие перспективы для разработки новых медицинских изделий и фармакологических препаратов, проведение *in vitro* исследований воздействия на организм человека различных бактериологических, химических и физических факторов: бактериология, иммунология (*ex vivo* создание искусственной иммунной системы), токсикология, радиационная биология, радиационная медицина [141–143]. Применение 3D-печати для предоперационного планирования и производства органов-фантомов для учебных целей будет способствовать повышению профессиональной квалификации хирургов, даст возможность многократно оттачивать технику операции, тем самым на проведение операции понадобится меньше времени. Использование моделей органов может полностью заменить эксперименты на лабораторных животных, значительно снизить стоимость разработки препаратов и сократить сроки проведения лабораторных исследований [144–146].

Мы надеемся, что информация, представленная в данном обзоре, будет информативной для создания полнофункциональных анатомических биоэквивалентов человеческих органов с использованием аддитивных технологий на основе 3D-биопечати. Недалекое будущее подтвердит или опровергнет наши ожидания и прогнозы.

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Готье СВ.* Клиническая трансплантология как самостоятельное направление медицины. *Медицинский альманах*. 2008; 5: 14–19. *Gautier SV.* Klinicheskaja transplantologija kak samostojatel'noe napravlenie mediciny. *Medicinskij al'manah.* 2008; 5: 14–19.
2. *Готье СВ.* Трансплантология 2008–2018: десять лет развития. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2018; 20 (4): 6–7. *Gautier SV*. Transplantology 2008–2018: a decade of advancement. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2018; 20 (4): 6–7.
3. *Хубутия МШ, Чжао АВ, Шадрин КБ.* Послеоперационные осложнения у реципиентов при трансплантации печени: современные представления о патогенезе и основных направлениях профилактики и лечения. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2009; 11 (2): 60–66. *Khubutia MSh, Zhao AV, Shadrin KB*. Postoperative complications in liver transplant recipients: modern cconsiderations of pathogenesis and main areas of prophylaxis and treatment. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs.* 2009; 11 (2): 60–66. (In Russ.). doi: 10.15825/1995-1191-2009-2-60-66.
4. *Климушева НФ*. Трансплантация солидных органов: пути оптимизации и повышения эффективности: дис. … докт. мед. наук. М., 2016; 48. *Klimusheva NF*. Transplantacija solidnyh organov: puti optimizacii i povyshenija jeffektivnosti. [Dissertation]. M., 2016; 48.
5. *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. doi: 10.23873/2074-0506-2017-9-3-192-210.
6. *Готье СВ, Хомяков СМ*. Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2017 году. X сообщение регистра Российского трансплантологического общества. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2018; 20 (2): 6–28. *Gautier SV, Khomyakov SM.* Organ donation and transplantation in Russian Federation in 2017. 10th report of the national registry. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs.* 2018; 20 (2): 6–28. (In Russ.). doi: 10.15825/1995-1191-2018-2-6-28.
7. *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. doi: 10.15825/1995-1191-2020-2-8-34.

8. *Готье СВ, Хомяков СМ*. Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2020 году XIII сообщение регистра Российского трансплантологического общества. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2021; 23 (3): 8–34. *Gautier SV, Khomyakov SM*. Organ donation and transplantation in the Russian Federation in 2020 13th Report from the Registry of the Russian Transplant Society. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2021; 23 (3): 8–34. doi: 10.15825/1995-1191-2021-3-8-34.
9. *Ma PX*. Biomimetic materials for tissue engineering. *Adv Drug Deliv Rev*. 2008; 60 (2): 184–198. doi: 10.1016/j.addr.2007.08.041.
10. *Севастьянов ВИ*. Технологии тканевой инженерии и регенеративной медицины. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2014; 16 (3): 93–108. *Sevastianov VI*. Technologies of tissue engineering and regenerative medicine. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2014; 16 (3): 93–108. (In Russ.). doi: 10.15825/1995-1191-2014-3-93-108.
11. *Kim JA, Kim HN, Im SK, Chung S, Kang JY, Choi N*. Collagen-based brain microvasculature model *in vitro* using three-dimensional printed template. *Biomicrofluidics*. 2015; 9 (2) : 024115. doi: 10.1063/1.4917508.
12. *Mori H, Gupta A, Torii S, Harari E, Jinnouchi H, Virmani R, Finn AV*. Clinical implications of blood-material interaction and drug eluting stent polymers in review. *Expert Rev Med Devices*. 2017; 14 (9): 707–716. doi: 10.1080/17434440.2017.1363646.
13. *Куевда ЕВ, Губарева ЕА, Гуменюк ИС, Карал-оглы ДД*. Изучение биосовместимости ацеллюлярных матриксов легких приматов и возможностей их использования в качестве тканеинженерных конструкций. *Современные технологии в медицине*. 2017; 9 (4): 82–88. *Kuevda EV, Gubareva EA, Gumeniuk IS, Karal-ogly DD*. A Study of Biocompatibility of Acellular Matrices of Primate Lungs and the Potential for Their Application as Tissue-Engineering Constructions. *Sovremennye tehnologii v medicine*. 2017; 9 (4): 82–88. doi: 10.17691/stm2017.9.4.10.
14. *Репин ВС, Сабурина ИН*. От трансплантации органов к репаративным сфероидам и «микротканям» в суспензионной 3D-культуре. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2012; 7 (1): 106–108. *Repin VS, Saburina IN*. Ot transplantacii organov k reparativnym sferoidam i «mikrotkanjam» v suspenzionnoj 3D-kul'ture. *Kletochnaja transplantologija i tkanevaja inzhenerija*. 2012; 7 (1): 106–108.
15. *Готье СВ, Шагидулин МЮ, Онищенко НА, Крашенинников МЕ, Ильинский ИМ, Можейко НП и др*. Коррекция хронической печеночной недостаточности при трансплантации клеток печени в виде суспензии и клеточно-инженерных конструкций (экспериментальное исследование). *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2013; 68 (4): 44–51. *Gautier SV, Shagidulin MYu, Onishchenko NA, Krasheninnikov ME, Il'inskii IM, Mozheiko NP et al*. Correction of cronic liver failure by transplantation of liver cells suspension and cell-engineering designs (experimental investigation). *Annals Of The Russian Academy Of Medical Sciences*. 2013; 68 (4): 44–51. doi: 10.15690/vramn.v68i4.610.
16. *Layek B, Lipp L, Singh J*. Cell Penetrating Peptide Conjugated Chitosan for Enhanced Delivery of Nucleic Acid. *Int J Mol Sci*. 2015; 16 (12): 28912–28930. doi: 10.3390/ijms161226142.
17. *Резник ОН, Кузьмин ДО, Скворцов АЕ, Резник АО*. Биобанки – неоценимый ресурс трансплантации. История, современное состояние, перспективы. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2016; 18 (4): 123–132. *Reznik ON, Kuzmin DO, Skvortsov AE, Reznik AO*. Biobanks are an essential tool for transplantation. history, current state, perspectives. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2016; 18 (4): 123–132. doi: 10.15825/1995-1191-2016-4-123-132.
18. *Уграицкая СВ, Шишова НВ, Гагаринский ЕЛ, Швирст НЭ, Каурова СА, Гольтяев МВ и др*. Влияние гелия на криоконсервацию клеток линий Hela и L929. *Биофизика*. 2018; 63 (3): 510–517. *Ugraitskaya SV, Shishova NV, Gagarinskiy EL, Shvirst NE, Kaurova SA, Goltyaev MV et al*. Effect of Helium on Cryopreservation of HeLa and L929 Cells. *Biophysics*. 2018; 63 (3): 510–517.
19. *Hasan M, Fayter AER, Gibson MI*. Ice Recrystallization Inhibiting Polymers Enable Glycerol-Free Cryopreservation of Microorganisms. *Biomacromolecules*. 2018; 19 (8): 3371–3376. doi: 10.1021/acs.biomac.8b00660.
20. *Klebe RJ*. Cytoscribing: a method for micropositioning cells and the construction of two- and three-dimensional synthetic tissues. *Exp Cell Res*. 1988; 179 (2): 362–373. doi: 10.1016/0014-4827(88)90275-3.
21. *Thayer P, Martinez H, Gatenholm E*. History and Trends of 3D Bioprinting. *Methods Mol Biol*. 2020; 2140: 3–18. doi: 10.1007/978-1-0716-0520-2_1.
22. *Mota FB, Braga LAM, Cabral BP, Conte Filho KG*. Future of Bioprinted Tissues and Organs: A Two-Wave Global Survey. *Foresight and STI Governance*. 2022; 16 (1): 6–20. doi: 10.17323/2500-2597.2022.1.6.20.
23. *Балясин МВ, Барановский ДС, Демченко АГ, Файзуллин АЛ, Красильникова ОА, Клабуков ИД и др*. Экспериментальная ортотопическая имплантация тканеинженерной конструкции трахеи, созданной на основе заселенного мезенхимальными и эпителиальными клетками девитализированного матрикса. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2019; 21 (4): 96–107. *Balyasin MV, Baranovsky DS, Demchenko AG, Fayzullin AL, Krasilnikova OA, Klabukov ID et al*. Experimental orthotopic implantation of tissue-engineered tracheal graft created based on devitalized scaffold seeded with mesenchymal and epithelial cells. *Russian Journal of Transplanto-*

*logy and Artificial Organs*. 2019; 21 (4): 96–107. doi: 10.15825/1995-1191-2019-4-96-107.

24. *Кокорев ОВ*. Саногенетическое обоснование применения тканеинженерных конструкций на основе пористого никелида титана при патологии различного генеза: дис. … докт. мед. наук. Томск, 2019. 44 с. *Kokorev OV*. Sanogeneticheskoe obosnovanie primenenija tkaneinzhenernyh konstrukcij na osnove poristogo nikelida titana pri patologii razlichnogo geneza. [Dissertation]. Tomsk, 2019. 44.
25. Grand View Research (2021) 3D Bioprinting Market Size, Share and Trends Analysis Report by Technology (Magnetic Levitation, Inkjet-based), by Application (Medical, Dental, Biosensors, Bioinks), by Region, and Segment Forecasts, 2021–2028, San Francisco, CA: Grand View Research. Available from: https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/3d-bioprinting-market.
26. *Choudhury D, Anand S, Naing MW*. The arrival of commercial bioprinters – Towards 3D bioprinting revolution! *Int J Bioprint*. 2018; 4 (2): 139. doi: 10.18063/IJB.v4i2.139.
27. *Mota C, Camarero-Espinosa S, Baker MB, Wieringa P, Moroni L*. Bioprinting: From Tissue and Organ Development to *in vitro* Models. *Chem Rev*. 2020; 120 (19): 10547–10607. doi: 10.1021/acs.chemrev.9b00789.
28. *Mota F, Braga L, Rocha L, Cabral B*. 3D and 4D bioprinted human model patenting and the future of drug development. *Nat Biotechnol*. 2020; 38 (6): 689–694. doi: 10.1038/s41587-020-0540-1.
29. Advances in replacement organs and tissue engineering. Technical Insights, Frost & Sullivan. 2008. Available from: https://store.frost.com/advances-in-tissue-engineering-and-organ-regeneration-technical-insights.html.
30. *Ozbolat IT, Bashirul Khoda AKM*. Design of a New Parametric Path Plan for Additive Manufacturing of Hollow Porous Structures With Functionally Graded Materials. *J Comput Inf Sci Eng*. 2014; 14 (4) doi: 10.1115/1.402841831.
31. *Коровин АЕ, Нагибович ОА, Пелешок СА, Копыленкова ТИ, Шилин ВП, Ольховик АЮ и др*. 3D-моделирование и биопрототипирование в военной медицине. *Клиническая патофизиология*. 2015; 3: 17–23. *Korovin AE, Nagibovich OA, Peleshok SA, Kopylenkova TI, Shilin VP, Ol'hovik AYu* i dr. 3D-modelirovanie i bioprototipirovanie v voennoj medicine. *Klinicheskaja patofiziologija*. 2015; 3: 17–23.
32. *Ozbolat IT, Yu Y*. Bioprinting toward organ fabrication: challenges and future trends. *IEEE Trans Biomed Eng*. 2013; 60 (3): 691–699. doi: 10.1109/TBME.2013.2243912.
33. *Schiele NR, Corr DT, Huang Y, Raof NA, Xie Y, Chrisey DB*. Laser-based direct-write techniques for cell printing. *Biofabrication*. 2010; 2 (3): 032001. doi: 10.1088/1758-5082/2/3/032001.33.
34. *Богородский СЭ, Василец ВН, Кротова ЛИ, Минаева СА, Миронов АВ, Немец ЕА и др*. Формирование биоактивных высокопористых полимерных матриксов для тканевой инженерии. *Перспективные материалы*. 2013; 5: 44–54. *Bogorodskij SJe, Vasilec VN, Krotova LI, Minaeva SA, Mironov AV, Nemec EA i dr*. Formirovanie bioaktivnyh vysokoporistyh polimernyh matriksov dlja tkanevoj inzhenerii. *Perspektivnye materialy*. 2013; 5: 44–54.
35. *Гулай ЮС, Крашенинников МЕ, Шагидулин МЮ, Онищенко НА*. Тканевая инженерия печени (современное состояние проблемы по данным зарубежных источников). *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2014; 16 (2): 103–113. *Gulay YuS, Krasheninnikov ME, Shagidulin MYu, Onishchenko NA*. Hepatic tissue engineering (modern state of this problem). *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2014; 16 (2): 103–113. doi: 10.15825/1995-1191-2014-2-103-113.
36. *Онищенко НА, Гулай ЮС, Шагидулин МЮ, Никольская АО, Башкина ЛВ*. Разработка имплантируемых клеточно- и тканеинженерных конструкций вспомогательной печени для лечения печеночной недостаточности. *Гены и клетки*. 2015; 10 (1): 6–17. *Onishchenko NA, Gulay YuS, Shagidulin MYu, Nikolskaya AO, Bashkina LV*. Development of implantable cell-tissue-engineering designs of auxiliary liver for the treatment of liver failure. *Genes & Cells*. 2015; 10 (1): 6–17.
37. *Murua A, Portero A, Orive G, Hernández RM, de Castro M, Pedraz JL*. Cell microencapsulation technology: towards clinical application. *J Control Release*. 2008; 132 (2): 76–83. doi: 10.1016/j.jconrel.2008.08.010.
38. *Wu C, Pan J, Bao Z, Yu Y*. Fabrication and characterization of chitosan microcarrier for hepatocyte culture. *J Mater Sci Mater Med*. 2007; 18 (11): 2211–2214. doi: 10.1007/s10856-007-3071-0.
39. *Zhao S, Zhang J, Zhu M, Zhang Y, Liu Z, Tao C et al*. Three-dimensional printed strontium-containing mesoporous bioactive glass scaffolds for repairing rat critical-sized calvarial defects. *Acta Biomater*. 2015; 12: 270–280. doi: 10.1016/j.actbio.2014.10.015.
40. *Кириллова АД*. Тканеспецифические матриксы из децеллюляризованных фрагментов печени и суставного хряща для тканевой инженерии: дис. … канд. биол. наук. М., 2021. 27 с. *Kirillova AD*. Tkanespecificheskie matriksy iz decelljuljarizovannyh fragmentov pecheni i sustavnogo hrjashha dlja tkanevoj inzhenerii. [Dissertation]. M., 2021. 27.
41. *Gasperini L, Mano JF, Reis RL*. Natural polymers for the microencapsulation of cells. *J R Soc Interface*. 2014; 11 (100): 20140817. doi: 10.1098/rsif.2014.0817.
42. *Markstedt K, Mantas A, Tournier I, Martínez Ávila H, Hägg D, Gatenholm P*. 3D Bioprinting Human Chondrocytes with Nanocellulose-Alginate Bioink for Cartilage Tissue Engineering Applications. *Biomacromolecules*. 2015; 16 (5): 1489–1496. doi: 10.1021/acs.biomac.5b00188.
43. *Moisenovich MM, Pustovalova OL, Arhipova AY, Vasiljeva TV, Sokolova OS, Bogush VG et al. In vitro* and *in vivo* biocompatibility studies of a recombinant analogue of spidroin 1 scaffolds. *J Biomed Mater Res A*. 2011; 96 (1): 125–131. doi: 10.1002/jbm.a.32968.

44. *Rhodes CJ.* Toxicology of the Human Environment – the critical role of free radicals. London: Taylor and Francis; 2000.
45. *Mahmood A, Patel D, Hickson B, DesRochers J, Hu X.* Recent Progress in Biopolymer-Based Hydrogel Materials for Biomedical Applications. *International Journal of Molecular Sciences.* 2022; 23 (3): 1415. doi: 10.3390/ijms23031415.
46. *Chistiakov DA.* Liver regenerative medicine: advances and challenges. *Cells Tissues Organs.* 2012; 196 (4): 291–312. doi: 10.1159/000335697.
47. *Murphy SV, Atala A.* 3D bioprinting of tissues and organs. *Nat Biotechnol.* 2014; 32 (8): 773–785. doi: 10.1038/nbt.2958.
48. *Gaetani R, Doevendans PA, Metz CH, Alblas J, Messina E, Giacomello A et al.* Cardiac tissue engineering using tissue printing technology and human cardiac progenitor cells. *Biomaterials.* 2012; 33 (6): 1782–1790. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.11.003.
49. *Fedorovich NE, Schuurman W, Wijnberg HM, Prins HJ, van Weeren PR, Malda J et al.* Biofabrication of osteochondral tissue equivalents by printing topologically defined, cell-laden hydrogel scaffolds. *Tissue Eng Part C Methods.* 2012; 18 (1): 33–44. doi: 10.1089/ten.TEC.2011.0060.
50. *Norotte C, Marga FS, Niklason LE, Forgacs G.* Scaffold-free vascular tissue engineering using bioprinting. *Biomaterials.* 2009t; 30 (30): 5910–5917. doi: 10.1016/j.biomaterials.2009.06.034.
51. *Lee W, Debasitis JC, Lee VK, Lee JH, Fischer K, Edminster K et al.* Multi-layered culture of human skin fibroblasts and keratinocytes through three-dimensional freeform fabrication. *Biomaterials.* 2009; 30 (8): 1587–1595. doi: 10.1016/j.biomaterials.2008.12.009.
52. *Owens CM, Marga F, Forgacs G, Heesch CM.* Biofabrication and testing of a fully cellular nerve graft. *Biofabrication.* 2013; 5 (4): 045007. doi: 10.1088/1758-5082/5/4/045007.
53. *Chang R, Emami K, Wu H, Sun W.* Biofabrication of a three-dimensional liver micro-organ as an *in vitro* drug metabolism model. *Biofabrication.* 2010; 2 (4): 045004. doi: 10.1088/1758-5082/2/4/045004.
54. *Taniguchi D, Matsumoto K, Tsuchiya T, Machino R, Takeoka Y, Elgalad A et al.* Scaffold-free trachea regeneration by tissue engineering with bio-3D printing. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2018; 26 (5): 745–752. doi: 10.1093/icvts/ivx444.
55. *Horváth L, Umehara Y, Jud C, Blank F, Petri-Fink A, Rothen-Rutishauser B.* Engineering an *in vitro* air-blood barrier by 3D bioprinting. *Sci Rep.* 2015; 5: 7974. doi: 10.1038/srep07974.
56. *Gilevich IV, Sotnichenko AS, Karal-Ogly DD, Gubareva EA, Kuevda EV, Polyakov IS et al. In vivo* Experimental Study of Biological Compatibility of Tissue Engineered Tracheal Construct in Laboratory Primates. *Bull Exp Biol Med.* 2018; 164 (6): 770–774. doi: 10.1007/s10517-018-4077-y.
57. *Estermann M, Bisig C, Septiadi D, Petri-Fink A, Rothen-Rutishauser B.* Bioprinting for Human Respiratory and Gastrointestinal *in vitro* Models. *Methods Mol Biol.* 2020; 2140: 199–215. doi: 10.1007/978-1-0716-0520-2_13.
58. *Visconti RP, Kasyanov V, Gentile C, Zhang J, Markwald RR, Mironov V.* Towards organ printing: engineering an intra-organ branched vascular tree. *Expert Opin Biol Ther.* 2010; 10 (3): 409–420. doi: 10.1517/14712590903563352.
59. *Marga F, Jakab K, Khatiwala C, Shepherd B, Dorfman S, Hubbard B et al.* Toward engineering functional organ modules by additive manufacturing. *Biofabrication.* 2012; 4 (2): 022001. doi: 10.1088/1758-5082/4/2/022001.
60. *Itoh M, Nakayama K, Noguchi R, Kamohara K, Furukawa K, Uchihashi K et al.* Scaffold-Free Tubular Tissues Created by a Bio-3D Printer Undergo Remodeling and Endothelialization when Implanted in Rat Aortae. *PLoS One.* 2015; 10 (9): e0136681. doi: 10.1371/journal.pone.0136681.
61. *Hinton TJ, Jallerat Q, Palchesko RN, Park JH, Grodzicki MS, Shue HJ et al.* Three-dimensional printing of complex biological structures by freeform reversible embedding of suspended hydrogels. *Sci Adv.* 2015; 1 (9): e1500758. doi: 10.1126/sciadv.1500758.
62. *Yamamoto T, Funahashi Y, Mastukawa Y, Tsuji Y, Mizuno H, Nakayama K et al.* MP19-17 Human urethra-engineered with human mesenchymal stem cell with maturation by rearrangement of cells for self-organization – newly developed scaffold-free three-dimensional bio-printer. *The Journal of Urology.* 2015; 193 (4): e221–e222. doi: 10.1016/j.juro.2015.02.1009.
63. *Lemaire F, Moeun BN, Champion KS, Getsios S, Wadsworth S, Russo V et al.* P.170: Preliminary Results on the Development of a Perfusion Device to Study the Function of 3D Bioprinted Pancreatic Tissue *In Vitro*. *Transplantation.* 2021; 105 (12 Suppl 2): S72. doi: 10.1097/01.tp.0000804724.41562.ec.
64. *Dickman C, Campbell S, Tong H, Jalili R, Beyer S, Mohamed T et al.* 3D bioprinted hepatocyte and mesenchymal stem cell spheroids as a cell therapy for liver disease. *Journal of Hepatology.* 2022; 77 (S1): S764.
65. *Sharma R, Smits IPM, De La Vega L, Lee C, Willerth SM.* 3D Bioprinting Pluripotent Stem Cell Derived Neural Tissues Using a Novel Fibrin Bioink Containing Drug Releasing Microspheres. *Front Bioeng Biotechnol.* 2020; 8: 57. doi: 10.3389/fbioe.2020.00057.
66. *Dickman CTD, Russo V, Thain K, Pan S, Beyer ST, Walus K et al.* Functional characterization of 3D contractile smooth muscle tissues generated using a unique microfluidic 3D bioprinting technology. *FASEB J.* 2020; 34 (1): 1652–1664. doi: 10.1096/fj.201901063RR.
67. *Bowles RD, Gebhard HH, Härtl R, Bonassar LJ.* Tissue-engineered intervertebral discs produce new matrix, maintain disc height, and restore biomechanical function to the rodent spine. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011; 108 (32): 13106–13111. doi: 10.1073/pnas.1107094108.
68. *Mannoor MS, Jiang Z, James T, Kong YL, Malatesta KA, Soboyejo WO et al.* 3D printed bionic ears. *Nano Lett.* 2013; 13 (6): 2634–2639. doi: 10.1021/nl4007744.
69. *Madden LR, Nguyen TV, Garcia-Mojica S, Shah V, Le AV, Peier A et al.* Bioprinted 3D Primary Human

Intestinal Tissues Model Aspects of Native Physiology and ADME/Tox Functions. *iScience*. 2018; 2: 156–167. doi: 10.1016/j.isci.2018.03.015.

70. *Langer EM, Allen-Petersen BL, King SM, Kendsersky ND, Turnidge MA, Kuziel GM et al.* Modeling Tumor Phenotypes *In Vitro* with Three-Dimensional Bioprinting. *Cell Rep.* 2019; 26 (3): 608–623.e6. doi: 10.1016/j.celrep.2018.12.090.
71. *Nguyen DG, Pentoney SL Jr.* Bioprinted three dimensional human tissues for toxicology and disease modeling. *Drug Discov Today Technol.* 2017; 23: 37–44. doi: 10.1016/j.ddtec.2017.03.001.
72. *Hardwick RN, Viergever C, Chen AE, Nguyen DG.* 3D bioengineered tissues: From advancements in *in vitro* safety to new horizons in disease modeling. *Clin Pharmacol Ther*. 2017; 101 (4): 453–457. doi: 10.1002/cpt.569.
73. *Ma X, Liu J, Zhu W, Tang M, Lawrence N, Yu C et al.* 3D bioprinting of functional tissue models for personalized drug screening and *in vitro* disease modeling. *Adv Drug Deliv Rev.* 2018; 132: 235–251. doi: 10.1016/j.addr.2018.06.011.
74. *Norona LM, Nguyen DG, Gerber DA, Presnell SC, LeCluyse EL.* Editor's Highlight: Modeling Compound-Induced Fibrogenesis *In Vitro* Using Three-Dimensional Bioprinted Human Liver Tissues. *Toxicol Sci.* 2016; 154 (2): 354–367. doi: 10.1093/toxsci/kfw169.
75. Organovo Synthesizes Human Liver Tissue With 3D Bioprinting. Available from: https://www.bioprocessonline.com/doc/organovo-synthesizes-human-liver-tissue-with-d-bioprinting-0001/.
76. Architecture of ExVive™ 3D Bioprinted Human Liver Tissue with distinct hepatocellular (HC) and non-parenchymal cell (NPC) compartments. Available from: https://organovo.com/technology-platform/.
77. *Maina RM, Barahona MJ, Finotti M, Lysyy T, Geibel P, D'Amico F, Mulligan D et al.* Generating vascular conduits: from tissue engineering to three-dimensional bioprinting. *Innov Surg Sci.* 2018; 3 (3): 203–213. doi: 10.1515/iss-2018-0016.
78. *Fazal F, Raghav S, Callanan A, Koutsos V, Radacsi N.* Recent advancements in the bioprinting of vascular grafts. Biofabrication. 2021; 13 (3). doi: 10.1088/1758-5090/ac0963.
79. *Lawlor KT, Vanslambrouck JM, Higgins JW, Chambon A, Bishard K, Arndt D et al.* Cellular extrusion bioprinting improves kidney organoid reproducibility and conformation. *Nat Mater.* 2021; 20 (2): 260–271. doi: 10.1038/s41563-020-00853-9.
80. *Moroni S, Casettari L, Lamprou DA.* 3D and 4D Printing in the Fight against Breast Cancer. *Biosensors (Basel)*. 2022; 12 (8): 568. doi: 10.3390/bios12080568.
81. TeVido BioDevices: Recuperating Lost Skin Pigmentation Through Advanced Cellular Therapy. Available from: http://tevidobiodevices.com.
82. Nano3D Biosciences Makes Major 3D Bioprinting Breakthrough in Breast Cancer Research. Available from: https://3dprint.com/22681/nano3d-rbcc-3d-print-cancer.
83. 3D Cell Culture Technologies Global Market Report 2021: COVID-19 Growth and Change to 2030 provides strategists, marketers and senior management with the critical information they need to assess the global 3d cell culture technologies market. Available from: https://www.researchandmarkets.com/reports/5446076/3d-cell-culture-technologies-global-market-report.
84. Rainbow Coral and Nano3D Biosciences Pursue New 3D Bioprinting Opportunities, Partnerships. Available from: http://www.rainbowbiosciences.com.
85. 3-D Printed Implants Hit The Market, Pave The Way For More Personalized Devices. Available from: http://tissuesys.com/trs_media/publications/The_Gray_Sheet_3D_Printer.pdf.
86. New NASA video shows how nScrypt's BFF bioprinter will be used in space. Available from: https://www.3dprintingmedia.network/spacex-launches-nscrypts-bff-bioprinter-space.
87. 4D Bio3 – The Geneva Foundation. Available from: https://genevausa.org/wp-content/uploads/2019/03/4d-bio3-with-dr.-ho.pdf.
88. Ruggedized 3D printers for medical use in harsh military environments. Available from: https://www.eetimes.com/ruggedized-3d-printers-for-medical-use-in-harsh-military-environments/.
89. Cadets research bioprinting to improve soldier care in the future. Available from: https://www.army.mil/article/232736/cadets_research_bioprinting_to_improve_soldier_care_in_the_future.
90. Bandages, Knee Cartilage, Surgical Tools Successfully 3D Printed in Desert Deployment Zone. Available from: https://www.odtmag.com/contents/view_breaking-news/2019-10-08/bandages-knee-cartilage-surgical-tools-successfully-3d-printed-in-desert-deployment-zone.
91. *Donohue MA, Zhou L, Haley CA.* Meniscus Injuries in the Military Athlete. *J Knee Surg.* 2019; 32 (2): 123–126. doi: 10.1055/s-0038-1676959.
92. *Strobel HA, Schultz A, Moss SM, Eli R, Hoying JB.* Quantifying Vascular Density in Tissue Engineered Constructs Using Machine Learning. *Front Physiol.* 2021; 12: 650714. doi: 10.3389/fphys.2021.650714.
93. Explore 6-Axis Robots by Series. Available from: https://epson.com/6-axis-robots-product-family.
94. A Robot That Prints Tissue. Available from: https://www.asme.org/topics-resources/content/a-robot-that-prints-tissue.
95. *Strobel HA, Gerton T, Hoying JB.* Vascularized adipocyte organoid model using isolated human microvessel fragments. *Biofabrication.* 2021; 13 (3). doi: 10.1088/1758-5090/abe187.
96. Bio-printed Constructs for Battlefield Burn Repairs. Available from: https://www.microfab.com/3-d-printing.
97. *Onode E, Uemura T, Takamatsu K, Yokoi T, Shintani K, Hama S et al.* Bioabsorbable nerve conduits three-dimensionally coated with human induced pluripotent stem cell-derived neural stem/progenitor cells promote peripheral nerve regeneration in rats. *Sci Rep.* 2021; 11 (1): 4204. doi: 10.1038/s41598-021-83385-9.

98. Digital fabricaton by multi-materials additive manufacturing 4D-Printing. Available from: https://www.fmf.uni-freiburg.de/de/projects/the-freiburg-3d-printing-alliance-f3d/the-freiburg-3d-printing-alliance-f3d.
99. *Ligon SC, Liska R, Stampfl J, Gurr M, Mülhaupt R.* Polymers for 3D Printing and Customized Additive Manufacturing. *Chem Rev.* 2017; 117 (15): 10212–10290. doi: 10.1021/acs.chemrev.7b00074.
100. *Ozbolat IT, Moncal KK, Gudapati H.* Evaluation of bioprinter technologies. *Additive Manufacturing.* 2017; 13: 179–200. doi: 10.1016/j.addma.2016.10.003.
101. EnvisionTEC: 3D-Bioplotter. Available from: https://3dsman.com/envisiontec-3d-bioplotter.
102. *Shudo Y, MacArthur JW, Kunitomi Y, Joubert L, Kawamura M, Ono J et al.* Three-Dimensional Multilayered Microstructure Using Needle Array Bioprinting System. *Tissue Eng Part A.* 2020; 26 (5–6): 350–357. doi: 10.1089/ten.TEA.2019.0313.
103. *Moldovan NI, Hibino N, Nakayama K.* Principles of the Kenzan Method for Robotic Cell Spheroid-Based Three-Dimensional Bioprinting. *Tissue Eng Part B Rev.* 2017; 23 (3): 237–244. doi: 10.1089/ten.TEB.2016.0322.
104. *Moldovan L, Barnard A, Gil CH, Lin Y, Grant MB, Yoder MC et al.* iPSC-Derived Vascular Cell Spheroids as Building Blocks for Scaffold-Free Biofabrication. *Biotechnol J.* 2017; 12 (12). doi: 10.1002/biot.201700444.
105. *Aguilar IN, Smith LJ, Olivos DJ 3rd, Chu TG, Kacena MA, Wagner DR.* Scaffold-free Bioprinting of Mesenchymal Stem Cells with the Regenova Printer: Optimization of Printing Parameters. *Bioprinting*. 2019; 15: e00048. doi: 10.1016/j.bprint.2019.e00048.
106. *Cui Y, Jin R, Zhang Y, Yu M, Zhou Y, Wang LQ.* Cellulose Nanocrystal-Enhanced Thermal-Sensitive Hydrogels of Block Copolymers for 3D Bioprinting. *Int J Bioprint.* 2021; 7 (4): 397. doi: 10.18063/ijb.v7i4.397.
107. *Daly AC, Pitacco P, Nulty J, Cunniffe GM, Kelly DJ.* 3D printed microchannel networks to direct vascularisation during endochondral bone repair. *Biomaterials.* 2018; 162: 34–46. doi: 10.1016/j.biomaterials.2018.01.057.
108. *Daly AC, Kelly DJ.* Biofabrication of spatially organised tissues by directing the growth of cellular spheroids within 3D printed polymeric microchambers. *Biomaterials.* 2019; 197: 194–206. doi: 10.1016/j.biomaterials.2018.12.028.
109. *Filardo G, Petretta M, Cavallo C, Roseti L, Durante S, Albisinni U et al.* Patient-specific meniscus prototype based on 3D bioprinting of human cell-laden scaffold. *Bone Joint Res.* 2019; 8: 101–106. doi: 10.1302/2046-3758.82.BJR-2018-0134.R1.
110. *Derr K, Zou J, Luo K, Song MJ, Sittampalam GS, Zhou C et al.* Fully Three-Dimensional Bioprinted Skin Equivalent Constructs with Validated Morphology and Barrier Function. *Tissue Eng Part C Methods.* 2019; 25 (6): 334–343. doi: 10.1089/ten.TEC.2018.0318.
111. *Noor N, Shapira A, Edri R, Gal I, Wertheim L, Dvir T.* 3D Printing of Personalized Thick and Perfusable Cardiac Patches and Hearts. *Adv Sci (Weinh).* 2019; 6 (11): 1900344. doi: 10.1002/advs.201900344.
112. *Rai B, Oest ME, Dupont KM, Ho KH, Teoh SH, Guldberg RE.* Combination of platelet-rich plasma with polycaprolactone-tricalcium phosphate scaffolds for segmental bone defect repair. *J Biomed Mater Res A.* 2007; 81 (4): 888–899. doi: 10.1002/jbm.a.31142.
113. *Seen S, Young S, Lang SS, Lim TC, Amrith S, Sundar G.* Orbital Implants in Orbital Fracture Reconstruction: A Ten-Year Series. *Craniomaxillofac Trauma Reconstr.* 2021; 14 (1): 56–63. doi: 10.1177/1943387520939032.
114. *Laubach M, Suresh S, Herath B, Wille ML, Delbrück H, Alabdulrahman H et al.* Clinical translation of a patient-specific scaffold-guided bone regeneration concept in four cases with large long bone defects. *J Orthop Translat.* 2022; 34: 73–84. doi: 10.1016/j.jot.2022.04.004.
115. *Villar G, Graham AD, Bayley H.* A tissue-like printed material. *Science (New York, N.Y.).* 2013; 340 (6128): 48–52. doi: 10.1126/science.1229495.
116. *Li J, Baxani DK, Jamieson WD, Xu W, Rocha VG, Barrow DA et al.* Formation of Polarized, Functional Artificial Cells from Compartmentalized Droplet Networks and Nanomaterials, Using One-Step, Dual-Material 3D-Printed Microfluidics. *Adv Sci (Weinh).* 2019; 7 (1): 1901719. doi: 10.1002/advs.201901719.
117. *Tibbetts JH.* The Future of Bioprinting: Multidisciplinary teams seek to create living human organs. *BioScience.* 2021; 71 (6): 564–570. doi: 10.1093/biosci/biab046.
118. *Vijayavenkataraman S, Yan WC, Lu WF, Wang CH, Fuh JYH.* 3D bioprinting of tissues and organs for regenerative medicine. *Adv Drug Deliv Rev.* 2018; 132: 296–332. doi: 10.1016/j.addr.2018.07.004.
119. *Murphy SV, De Coppi P, Atala A.* Opportunities and challenges of translational 3D bioprinting. *Nat Biomed Eng.* 2020; 4 (4): 370–380. doi: 10.1038/s41551-019-0471-7.
120. *Xiao Y, Ahadian S, Radisic M.* Biochemical and Biophysical Cues in Matrix Design for Chronic and Diabetic Wound Treatment. *Tissue Eng Part B Rev.* 2017; 23 (1): 9–26. doi: 10.1089/ten.TEB.2016.0200.
121. *Park SH, Jung CS, Min BH.* Advances in three-dimensional bioprinting for hard tissue engineering. *Tissue Eng Regen Med.* 2016; 13 (6): 622–635. doi: 10.1007/s13770-016-0145-4.
122. *Huang Y, Zhang XF, Gao G, Yonezawa T, Cui X.* 3D bioprinting and the current applications in tissue engineering. *Biotechnol J.* 2017; 12 (8): 1600734. doi: 10.1002/biot.201600734.
123. *Heinrich MA, Liu W, Jimenez A, Yang J, Akpek A, Liu X et al.* 3D Bioprinting: from Benches to Translational Applications. *Small*. 2019; 15 (23): e1805510. doi: 10.1002/smll.201805510.
124. *Ashammakhi N, Ahadian S, Zengjie F, Suthiwanich K, Lorestani F, Orive G et al.* Advances and Future Perspectives in 4D Bioprinting. *Biotechnol J.* 2018; 13 (12): e1800148. doi: 10.1002/biot.201800148.
125. *Mao S, Pang Y, Liu T, Shao Y, He J, Yang H et al.* Bioprinting of *in vitro* tumor models for personalized cancer treatment: a review. *Biofabrication.* 2020; 12 (4): 042001. doi: 10.1088/1758-5090/ab97c0.
126. *Gao G, Cui X.* Three-dimensional bioprinting in tissue engineering and regenerative medicine. *Biotechnol Lett.* 2016; 38 (2): 203–211. doi: 10.1007/s10529-015-1975-1.

127. *Zhu W, Yu C, Sun B, Chen S.* Bioprinting of Complex Vascularized Tissues. *Methods Mol Biol*. 2021; 2147: 163–173. doi: 10.1007/978-1-0716-0611-7_14.
128. *Yu J, Park SA, Kim WD, Ha T, Xin YZ, Lee J et al.* Current Advances in 3D Bioprinting Technology and Its Applications for Tissue Engineering. *Polymers (Basel)*. 2020; 12 (12): 2958. doi: 10.3390/polym12122958.
129. *de Vries RB, Leenaars M, Tra J, Huijbregtse R, Bongers E, Jansen JA et al.* The potential of tissue engineering for developing alternatives to animal experiments: a systematic review. *J Tissue Eng Regen Med*. 2015; 9 (7): 771–778. doi: 10.1002/term.1703.
130. *Zhang J, Wehrle E, Rubert M, Müller R.* 3D Bioprinting of Human Tissues: Biofabrication, Bioinks, and Bioreactors. *Int J Mol Sci.* 2021; 22 (8): 3971. doi: 10.3390/ijms22083971.
131. *Dias JR, Ribeiro N, Baptista-Silva S, Costa-Pinto AR, Alves N, Oliveira AL*. *In situ* Enabling Approaches for Tissue Regeneration: Current Challenges and New Developments. *Front Bioeng Biotechnol.* 2020; 8: 85. doi: 10.3389/fbioe.2020.00085.
132. *Dababneh AB, Ozbolat IT.* Bioprinting Technology: A Current State-of-the-Art Review. *ASME J Manuf Sci Eng.* 2014; 136 (6): 061016. doi: 10.1115/1.4028512.
133. *Бобылов ЮА*. Об угрозах нового биологического оружия и биобезопасности России. *Качественная клиническая практика.* 2008; (3): 94–99. *Bobylov JuA*. Ob ugrozah novogo biologicheskogo oruzhija i biobezopasnosti Rossii. *Kachestvennaja klinicheskaja praktika*. 2008; (3): 94–99.
134. *Буренок ВМ, Ивлев АА, Корчак ВЮ.* Аналитический обзор деятельности Управления перспективных исследовательских проектов МО США. *Развитие военных технологий XXI века: проблемы, планирование, реализация*. Тверь: Купол, 2009: 93; 624. *Burenok VM, Ivlev AA, Korchak VJu*. Analiticheskij obzor dejatel'nosti Upravlenija perspektivnyh issledovatel'skih proektov MO SShA. *Razvitie voennyh tehnologij XXI veka: problemy, planirovanie, realizacija*. Tver': Kupol, 2009: 93; 624.
135. A Compendium of DARPA Programs. Available from: www.darpa.mil/body/strategic.html.
136. *Клабуков ИД.* Исследовательская программа DARPA на 2015 год. М.: Исследовательское сообщество, 2014; 96. *Klabukov ID*. Issledovatel'skaja programma DARPA na 2015 god. M.: Issledovatel'skoe soobshhestvo, 2014; 96. doi: 10.2139/ssrn.2439081.
137. *Wang Z, Kapadia W, Li C, Lin F, Pereira RF, Granja PL et al.* Tissue-specific engineering: 3D bioprinting in regenerative medicine. *J Control Release.* 2021; 329: 237–256. doi: 10.1016/j.jconrel.2020.11.044.
138. *Jamee R, Araf Y, Naser IB, Promon SK*. The promising rise of bioprinting in revolutionalizing medical science: Advances and possibilities. *Regen Ther.* 2021; 18: 133–145. doi: 10.1016/j.reth.2021.05.006.
139. *Unagolla JM, Jayasuriya AC.* Hydrogel-based 3D bioprinting: A comprehensive review on cell-laden hydrogels, bioink formulations, and future perspectives. *Appl Mater Today.* 2020; 18: 100479. doi: 10.1016/j.apmt.2019.100479.
140. *Bea S.* Opt-out policy and the organ shortage problem: Critical insights and practical considerations. *Transplant Rev (Orlando)*. 2021; 35 (1): 100589. doi: 10.1016/j.trre.2020.100589.
141. *Gardin C, Ferroni L, Latremouille C, Chachques JC, Mitrečić D, Zavan B.* Recent Applications of Three Dimensional Printing in Cardiovascular Medicine. *Cells.* 2020; 9 (3): 742. doi: 10.3390/cells9030742.
142. *Mota F, Braga LAM, Cabral BP, Conte Filho CG*. What is the future of lab-on-a-chip diagnostic devices? Assessing changes in experts' expectations over time. *Foresight*. 2021; 23 (6): 640–654. doi: 10.1108/FS-05-2021-0101.
143. *Li R, Ting YH, Youssef SH, Song Y, Garg S*. Three-Dimensional Printing for Cancer Applications: Research Landscape and Technologies. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2021; 14 (8): 787. doi: 10.3390/ph14080787.
144. *Giacomini KM, Krauss RM, Roden DM, Eichelbaum M, Hayden MR, Nakamura Y.* When good drugs go bad. *Nature.* 2007; 446 (7139): 975–977. doi: 10.1038/446975a.
145. *Niu SY, Xin MY, Luo J, Liu MY, Jiang ZR.* DSEP: A Tool Implementing Novel Method to Predict Side Effects of Drugs. *J Comput Biol.* 2015; 22 (12): 1108–1117. doi: 10.1089/cmb.2015.0129.
146. *Bandyopadhyay A, Dewangan VK, Vajanthri KY, Poddar S, Mahto SK*. Easy and affordable method for rapid prototyping of tissue models *in vitro* using three-dimensional bioprinting. *Biocybern Biomed Eng.* 2018; 38 (1): 158–169. doi: 10.1016/j. bbe.2017.12.001.

*Статья поступила в редакцию 05.03.2023 г.*
*The article was submitted to the journal on 05.03.2023*

DOI: 10.15825/1995-1191-2023-2-82-98

# ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗОВАННАЯ СТРОМА ПУПОВИНЫ В ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ И РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ: СИСТЕМАТИЧЕСКИЙ ОБЗОР

*Ю.Б. Басок[1], А.А. Кондратенко[2], Л.И. Калюжная[2], Е.А. Волкова[1], К.А. Воробьев[2], В.И. Севастьянов[1]*

[1] ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация
[2] ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Несмотря на большой прогресс в области создания биоматериалов для тканевой инженерии и регенеративной медицины, высокие требования, предъявляемые к искусственным матриксам (матрицам, носителям, скаффолдам), являются причиной продолжающегося поиска природных или синтетических миметиков внеклеточного матрикса. Среди таких материалов многообещающим представляется децеллюляризованная строма пуповины благодаря высокому содержанию гиалуроновой кислоты, цитокинов и факторов роста, а также отсутствию этических ограничений для ее получения. Описано, что децеллюляризованная строма пуповины способствует восстановлению хряща, печеночной ткани, нервной ткани и заживлению ран. В обзоре дан критический анализ и обобщены опубликованные данные, касающиеся способности децеллюляризованной стромы пуповины поддерживать необходимые условия для адгезии, миграции, дифференцировки и функциональной активности адгезированных клеток, стимулируя, таким образом, внутренний (физиологический) регенеративный потенциал тканей. Поиск литературы проводился в электронных базах данных Medline/PubMed (www/ncbi.nlm.nih.gov/pubmed), Cochrane library (https://www.cochrane.org), eLIBRARY / Российский индекс научного цитирования (https://www.elibrary.ru). Критериями включения было присутствие биоматериалов, полученных из децеллюляризованной стромы пуповины. Критериями исключения статей были такие объекты исследования, как децеллюляризованные сосуды (вены и артерии) пуповины, а также культуры клеток пуповины. Для анализа получаемых продуктов, областей их применения, методов децеллюляризации и результатов исследований были выбраны 25 оригинальных статей на английском и русском языках. Также в обзоре обсуждаются перспективы использования децеллюляризованной пуповины в медицине.

*Ключевые слова: строма пуповины, децеллюляризация, внеклеточный матрикс, регенеративная медицина, тканевая инженерия.*

# DECELLULARIZED UMBILICAL CORD STROMA IN TISSUE ENGINEERING AND REGENERATIVE MEDICINE: A SYSTEMATIC REVIEW

*Yu.B. Basok[1], A.A. Kondratenko[2], L.I. Kalyuzhnaya[2], E.A. Volkova[1], K.A. Vorobyov[2], V.I. Sevastianov[1]*

[1] Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation
[2] Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russian Federation

Despite great progress in the field of biomaterials for tissue engineering and regenerative medicine, the high requirements placed on artificial matrices (matrices, carriers, scaffolds) are the reason for the ongoing search for

**Для корреспонденции:** Басок Юлия Борисовна. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1.
Тел. (499) 190-45-90. E-mail: bjb2005@mail.ru

**Corresponding author:** Yulia Basok. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation.
Phone: (499) 190-45-90. E-mail: bjb2005@mail.ru

natural or synthetic extracellular matrix mimetics. Among such materials, decellularized umbilical cord (UC) stroma appears to be very attractive – it has a high content of hyaluronic acid, cytokines, and growth factors, and there are no ethical restrictions for its production. Decellularized UC stroma has been found to promote cartilage, liver tissue and nerve tissue repair, as well as wound healing. The review critically analyzes and summarizes published data on the ability of decellularized UC stroma to maintain the necessary conditions for adhesion, migration, differentiation and functional activity of adherent cells, thus stimulating the internal (physiological) regenerative potential of tissues. Literature was searched for in the following electronic databases: Medline/PubMed (www/ncbi.nlm.nih.gov/pubmed), Cochrane library (https://www.cochrane.org), and eLIBRARY/Russian Science Citation Index (https://www.elibrary.ru). Inclusion criteria were the presence of biomaterials obtained from decellularized human UC stroma. Exclusion criteria for papers included research objects as decellularized umbilical cord vessels (veins and arteries) and umbilical cord cell cultures. Twenty-five original articles in English and Russian were selected for analysis of the products obtained, their applications, decellularization methods and research results. The review also discusses the prospects for decellularized umbilical cord in medicine.

*Keywords: umbilical cord stroma, decellularization, extracellular matrix, regenerative medicine, tissue engineering.*

Концепция тканевой инженерии заключается в создании функционально активных клеточно-инженерных конструкций (КИК) для стимулирования физиологической регенерации поврежденных тканей или сформированных *in vitro* или *in vivo*, тканеинженерных конструкций (ТИК) / тканевых эквивалентов, предназначенных для временной/постоянной замены необратимо поврежденных органов и тканей [1–3].

Основными компонентами КИК/ТИК являются клетки и клеточный носитель (*синонимы:* каркас, скаффолд, матрица или искусственный матрикс), функцией которого является доставка и удержание клеток в месте имплантации [4]. Наибольший интерес представляют миметики внеклеточного матрикса (ВКМ), имитирующие по составу естественный ВКМ и способные длительное время поддерживать жизнеспособность и функциональную активность клеток, создавая для них необходимое микроокружение [1, 5, 6].

При создании КИК/ТИК *in vitro* важным условием для достижения высокой степени их сходства с естественной тканью является воспроизведение не только биохимических, но и биомеханических стимулов, обеспечивающих жизнедеятельность клеток в организме [7]. Для имитации *in vitro* биомеханических сил, таких как сжатие, растяжение, сила сдвига, гидростатическое давление, используют специальные устройства – биореакторы, причем для каждого органа комплекс таких воздействий индивидуален [6–8].

Альтернативным путем является формирование КИК/ТИК в организме при имплантации в организм бесклеточного искусственного матрикса, задачей которого является обеспечить миграцию к нему собственных клеток реципиента и стимуляцию их пролиферации с последующим замещением повреждения функционально активной тканью [9]. Бесклеточные продукты, созданные методами децеллюляризации из биоматериала органов и тканей животных или человека, показали высокую биологическую активность. К тому же такой продукт может быть изготовлен заранее и применен без предварительной подготовки, что потенциально ускоряет его внедрение в клиническую практику и имеет особое значение для военной медицины [10–11].

Среди них многообещающей представляется децеллюляризованная строма пуповины (Вартонов студень – ВС) [12]. ВС представляет собой соединительную ткань, которая образует основную массу пупочного канатика у человека и других млекопитающих. ВКМ ВС содержит структурные компоненты (коллагены I, II, III, IV, V, VI, XII, XIV типов, фибронектин, фибриллин и гиалуроновую кислоту высокого молекулярного веса и сульфатированные гликозаминогликаны (ГАГ), такие как хондроитинсульфаты, гепарансульфат, дерматансульфат) и многочисленные факторы роста: инсулиноподобный фактор роста (IGF-1) и белки, связывающие инсулиноподобный фактор роста (IGFBP) 1, 2, 3, 4 и 6, трансформирующий фактор роста альфа (TGF-α) и тромбоцитарный фактор роста (PDGF), факторы роста фибробластов (αFGF, βFGF), эпидермальные факторы роста (EGFs), различные изоформы трансформирующиго фактора роста бета (TGF-β1, 2, 3), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), цитокины (с преобладанием противовоспалительных), матриксные металлопротеиназы (MMPs) и ингибиторы матриксных металлопротеиназ (TIMPs). Также была обнаружена экспрессия нескольких иммуномодулирующих цитокинов, таких как RANTES (регулирует активацию, экспрессию нормальных Т-клеток и секрецию), рецептор интерлейкина 6 (IL-6R), интерлейкин 16 (IL-16) и интерферон гамма (IFN-γ), а также провоспалительных цитокинов, таких как макрофагальный колониестимулирующий фактор (MCSF), макрофагостимулирующий белок 1-альфа (MIP1α), суперсемейство рецепторов фактора некроза опухоли 1α и 1β (TNF-RI и TNF-RII), антагониста рецепторов интерлейкина 1 (IL1RA) и цитокины, связанные с заживлением ран, включая молекулу межклеточной адгезии 1 (ICAM-1), гранулоцитарный стимулирующий фактор (G-CSF) [13–17]. Кроме того, ВКМ ВС предположительно обладает иммуномодулиру-

ющим и некоторым бактериостатическим эффектами [16, 17]. Описано, что децеллюляризованная строма ВС способствует восстановлению хряща [17], печеночной ткани [19], нервной ткани [20] и заживлению ран [21–23].

Тем не менее, насколько известно авторам, до сих пор ни в одном обзоре не предпринималась попытка критически оценить и обобщить фактические данные, касающиеся регенеративного потенциала децеллюляризованной стромы пуповины.

## РАССМОТРЕННЫЕ БАЗЫ ДАННЫХ И РЕЗУЛЬТАТЫ ПОИСКА

Поиск литературы проводился в электронных базах данных Medline/PubMed (www/ncbi.nlm.nih.gov/pubmed), Cochrane library (https://www.cochrane.org), eLIBRARY / Российский индекс научного цитирования (https://www.elibrary.ru).

В качестве поискового запроса в Medline/PubMed были использованы термины: (umbil*[title] AND decell*[title]) OR (whart*[title] AND decell*[title]) OR (umbil*[title] AND acell*[title]) OR (whart*[title] AND acell*[title]) OR (umbil*[title] AND extracel*[title] AND matr*[title]) OR (whart*[title] AND extracel*[title] AND matr*[title]). Дата последнего поиска 19.03.2023.

В качестве поискового запроса в Cochrane library были использованы термины (extracell* AND umbil*) OR (decell* AND umbil*). Дата последнего поиска 25.03.2023.

В качестве поисковых запросов в eLIBRARY были использованы термины decell* umbil* (поисковый запрос 1), extracell* matrix* umbil* (поисковый запрос 2), децеллюляризация и пуповина (поисковый запрос 3), «внеклеточный матрикс» и пуповина (поисковый запрос 4). Дата последнего поиска 25.03.2023.

Критериями включения было присутствие в исследовании материалов, полученных из децеллюляризованной стромы пуповины человека. В анализе литературы были использованы полнотекстовые оригинальные статьи на английском и русском языках. Критериями исключения статей было использование децеллюляризованных сосудов (вен и артерий) пуповины, а также изучение культур клеток пуповины без использования ее ВКМ. Кроме того, в исследование не были включены материалы конференций, обзоры и препринты статей.

Процесс поиска литературы представлен на рис. 1.

Первоначальный поиск привел к обнаружению 425 публикаций. Прежде всего в результатах поиска публикаций в каждой из выбранных баз данных вручную были исключены статьи, посвященные децеллюляризации сосудов пуповины, использованию мезенхимальных клеток пуповины и их везикул. Далее были исключены обзоры литературы и 2 клинических исследования, в которых не было описания продукта, полученного из пуповины (не был подтвержден факт децеллюляризации). На последнем этапе были исключены 4 повтора: 3 публикации дуб-

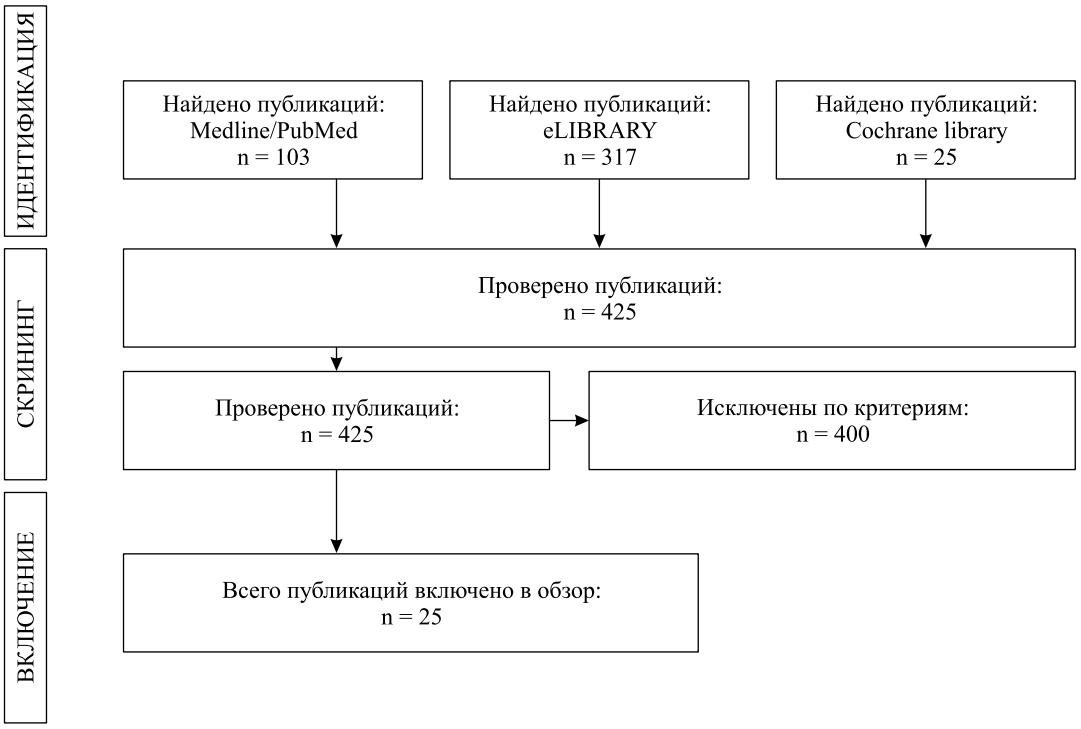


Рис. 1. Блок-схема поиска литературы, использованная для обзора

Fig 1. Flow diagram of the literature search employed for this review

лировались в базах данных PubMed и eLIBRARY [17, 24, 25], одна публикация была дважды отражена в результате поискового запроса в PubMed (публикация [26] и ее корректировка [27]). В 3 публикациях авторы использовали в качестве обработки ВС лишь центрифугирование. При этом количественного контроля содержания генетического материала представлено не было. Это послужило поводом для их исключения из рассмотрения в обзоре [10, 28, 29]. Результаты еще одного исследования также было решено не рассматривать, так как продукт, полученный исследователями, представлял собой фракцию супернатанта, полученную после воздействия трипсина на ВС [30]. Таким образом, в исследование было включено 25 статей [11, 12, 16–21, 24–26, 31–44]. В 8 публикациях были описаны только исследования *in vitro* [18, 19, 24, 25, 31–33, 37], в 4 – только исследование *in vivo* (на животных) [34, 41, 43, 44], и в 10 исследованиях были проведены оба типа доклинических испытаний [11, 16, 17, 20, 21, 26, 35, 36, 38, 42]. Клинических исследований, отвечающих критериям включения, найдено не было.

## ОСНОВНЫЕ ПАРАМЕТРЫ И РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ВКЛЮЧЕННЫХ ПУБЛИКАЦИЙ

Результаты опубликованных работ демонстрируют, что децеллюляризованный ВС (ДВС) относится к биосовместимому материалу, способному стимулировать пролиферацию клеточных культур и положительно влиять на процессы регенерации поврежденных органов и тканей (табл.).

P. Gupta et al. при создании матрикса для тканевой инженерии сосудов из фиброина шелка для улучшения свойств ремоделирования и иммуномодуляции ответа реципиента на внедрение полимерного материала функционализировали его ДВС. Порошок лиофилизованного ДВС смешивали с фиброином шелка (5 мг ДВС на 1 мл раствора шелка) перед формованием матрицы. После лиофилизации пористый протез сосуда был покрыт нановолокнистым слоем. Раствор для получения материала методом электроспиннинга состоял из фиброина шелка и поликапролактона в гексафтор-2-пропаноле. После сшивания с использованием этил(диметиламинопропил)карбодиимид/N-гидроксисукцинимида в 80% этаноле в течение 12 ч каркасы промывали в стерильной воде на шейкере 12 ч и хранили при 4 °С до дальнейшего использования [11]. A. Basiri et al. добавляли ДВС, полученный по схожей технологии, в гидрогель из фиброина шелка перед гелеобразованием. Полученный таким образом биоматериал проявлял механические свойства, подобные свойствам хряща [31].

Исследователи (D. Li et al.) использовали ДВС в качестве клеточного носителя, поддерживающего фенотипы и дифференцировочный потенциал гемопоэтических клеток-предшественников [24]. M. Kehtari et al. продемонстрировали способность такого матрикса обеспечивать микроокружение, которое способствует гепатоцитарной дифференцировке плюрипотентных клеток, путем активации факторов транскрипции [19]. N. Azarbarz et al. представили результаты применения ДВС, конъюгированного с желатином, для 3D-системы культивирования клеток. При этом была показана дифференцировка мезенхимальных стромальных клеток (МСК) в инсулин-продуцирующие клетки, подтвержденная усилением экспрессии инсулин-специфических генов и увеличением высвобождения инсулина в ответ на стимуляцию глюкозой [32].

ВС богат пептидными факторами роста, участвующими в хондрогенезе. T. Xiao et al. показали, что ДВС человека может быть хорошим альтернативным биоматериалом для тканевой инженерии хряща [33]. Биомеханические свойства ДВС и его однородная пористая структура были достаточными для поддержки культивируемых на них хондроцитов кролика. Была продемонстрирована продукция клетками ГАГ, коллагена I и II типов и аггрекана [33]. В то же время в исследовании K. Foltz et al. при замещении дефекта трахеи не было обнаружено рекрутирования хондроцитов в биосовместимый ДВС и индукции выработки ими коллагена. При этом структура и физические характеристики биоматериала обеспечили необходимое поддержание проходимости трахеи [34]. Исследование, проведенное L. Penolazzi et al., показало терапевтический потенциал ДВС и его влияние на функционирование клеток дегенерирующего межпозвонкового диска. Авторами было выдвинуто предположение, что имплантация ДВС может быть достаточной для функционального восстановления дегенерирующих межпозвонковых дисков [25].

В исследовании S. Jadalannagari et al. отметили на 2-е сутки миграцию МСК ВС в толщу ДВС. При этом авторы наблюдали пролиферацию клеток при культивировании на ДВС, которая, однако, была ниже, чем при культивировании на культуральном пластике. На модели дефекта плоской кости было показано, что ДВС человека способствовал адгезии и проникновению в биоматериал жизнеспособных остеоцитов [26]. Z. Yuan et al. использовали децеллюляризованную строму пуповины для заживления сухожилий. После удаления клеток ДВС сохранял значительное количество ГАГ и коллагена, сохранял микроструктуру и прочность на разрыв. Трехмерная пористая структура ДВС способствовала миграции, прикреплению и пролиферации теноцитов. В исследовании *in vivo* децеллюляризованный продукт способствовал регенерации сухожилий [35].

Интересно исследование L. Mann et al., в котором было установлено стимулирующее действие криоконсервированного ДВС человека на восстановление целостности позвоночника крысы после внутриутробной коррекции его расщепления.

Таблица

**Основные параметры и результаты исследований включенных публикаций**

**General characteristics and results of studies included in this review**

| Исследование (фамилия, год) | Область применения | Описание продукта | Методы децеллюляризации | Исследования *in vitro* | | Исследования *in vivo* | | Результаты |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Объект | Методы | Объект | Методы | |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| Basiri, 2019 [31] | Восстановление хрящевой ткани | Гидрогель на основе ДВС и фиброина шелка | ВС смешивали с деионизированной водой 16 ч, центрифугировали при 4 °С, надосадочную жидкость хранили при –80 °С | Клетки эндометрия человека | Жизнеспособность клеток | – | – | Продукт улучшал жизнеспособность изученных клеток |
| Gupta, 2021 [11] | Тканевая инженерия сосудов | Трубчатый двухслойный каркас, включающий фиброин и лиофилизованный ДВС | ВС 1–2 см в деионизированной воде 4 °С 16 ч, удаляли фрагменты крупнее 70 мкм, центрифугировали 5000 об./мин, 10 мин, 4 °С, лиофилизовали | Эндотелиоциты, макрофаги человека | Цитотоксичность продукта | Подкожная имплантация кролику (n = 6), имплантаты яремной вены кролика (n = 3) | Гистологические исследования, анализ экспрессии генов, доплеровская визуализация | Биосовместимый продукт вызывал рекрутирование клеток спустя месяц подкожной имплантации с экспрессией противовоспалительных генов. Проходимость сосудистых имплантатов через 3 месяца |
| Li, 2019 [24] | Трансплантация гемопоэтических клеток | Фрагменты толщиной 3 мм | Удаляли сосуды пуповины, строму пуповины децеллюляризировали растворами ПАВ, криоконсервировали | Клетки CD34+ | Проточная цитофлуориметрия, анализ экспрессии генов | – | – | Присутствие продукта способствует мегакариоцитарной дифференцировке и поддерживает примитивные фенотипы гемопоэтических клеток |
| Kehtari, 2018 [19] | Тканевая инженерия печени | Пористый матрикс | Пуповина в трис-буфере/ЭДТА при 4 °С 16 ч, децеллюляризировали 0,03% SDS 24 ч при встряхивании, промывали, помещали в гипертонический раствор при 37 °С 3 ч, промывали, сшивали уксусной кислотой, лиофилизовали | Плюрипотентные стволовые клетки человека | Жизнеспособность, дифференцировка в гепатоциты | – | – | Способность бесклеточного продукта поддерживать дифференциацию в гепатоциты |

Продолжение табл.

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Azarbarz, 2022 [32] | Дифференцировка МСК в ИПК | Лиофилизованный ДВС, конъюгированный с желатином | Пуповину инкубировали в NaCl (1 М) 1 неделю, децеллюляризировали 0,25% трипсин/ЭДТА 24 ч, 1% Triton X-100 5 суток. 24 ч, промывали PBS, лиофилизовали. ДВС конъюгировали с желатином в течение 1 ч 37 °C | МСК ВС | МСК ВС дифференцировали в ИПК. ИПК окрашивали дитизоном. Исследовали секрецию С-пептида и экспрессию генов, связанных с инсулином | – | – | Секреция клетками инсулина выше, чем в контроле. Присутствие продукта ассоциировано с увеличением дитизон-позитивных клеток и усилением экспрессии генов PDX-1, GLUT-2 и INS в ИСК |
| Xiao, 2017 [33] | Тканевая инженерия хряща | Цилиндры диаметром 8 мм, толщиной 2 мм | Гомогенезированный ВС замораживали в воде (4–5 раз), центрифугировали при 3000 об./мин. 30 мин, 5000 об./мин 30 мин, 7000 об./мин 30 мин, отбирали надосадочную жидкость, центрифугировали 10 000 об./мин 30 мин, осадок лиофилизовали | Хондроциты кролика | Жизнеспособность клеток, анализ экспрессии генов, продукция гликозаминогликанов и коллагена | – | – | Биосовместимый, биоактивный бесклеточный продукт способствовал активности хондроцитов *in vitro* |
| Foltz, 2022 [34] | Регенерация хрящевой ткани трахеи | ДВС | Удаляли амниотическую оболочку, промывали PBS, децеллюляризировали 0,01% SDS и дезоксихолатом натрия, центрифугировали при 100 об./мин, промывали PBS 37 °C 24 ч, хранили при 4 °C | – | – | Дефект трахеи кролика размером 10 × 20 мм, (n = 10) | Гистологические исследования, определение относительного содержания коллагенов I и III типов, аггрекана | Реакций отторжения продукта обнаружено не было. Индукции выработки коллагена и рекрутирования хондроцитов не было обнаружено. На 30-е сутки не наблюдали значимых различий в содержании коллагенов I и III типов и аггрекана |
| Penolazzi, 2020 [25] | Восстановление межпозвонковых дисков | ДВС | Пуповину помещали в деионизированную воду 4 °C 24 ч, децеллюляризировали 4% дезоксихолатом натрия 4 ч, обрабатывали ДНКазой 3 ч (трижды) | МСК, клетки дегенерированного межпозвонкового диска человека | Жизнеспособность и пролиферация клеток, анализ экспрессии генов | – | – | Поддержка жизнеспособности клеток дегенерированного межпозвонкового диска и экспрессии критических регуляторов гомеостаза |

Продолжение табл.

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Jadalannagari, 2017 [26] | Тканевая инженерия | ДВС | Децеллюляризировали 0,005% Triton X-100, SDS, сукцинатом натрия, обрабатывали ДНКазой 16 ч, удаляли ПАВ | МСК ВС, HUVEC | Цитотоксичность продукта, ПЦР | Полной толщины дефект теменной кости (5,0 мм в диаметре) мыши (n = 4) | Гистологические исследования, визуализация живых клеток | Биосовместимый продукт, стимулирующий миграцию остеоцитов через 24 ч, а через 2 недели *in vivo* |
| Yuan, 2022 [35] | Восстановление сухожилий | Лиофилизованный ДВС, 20 × 10 × 2 мм | Децеллюляризировали 1% SDS 24 ч, 1% Triton X-100 24 ч, обрабатывали нуклеазами 12 ч, промывали, лиофилизовали | Теноциты кролика | Цитотоксичность продукта, пролиферация, миграция клеток | Дефект сухожилия кролика (n = 54) | Гистологические исследования, анализ экспрессии генов | Биосовместимость с клетками на 7-е сутки, стимуляция созревания сухожилия на 12-ю неделю после операции |
| Mann, 2020 [36] | Восстановление после коррекции расщепления позвоночника | Пластырь из ДВС | – | Первичные менингеальные клетки, неонатальные кератиноциты человека | Пролиферация клеток | Индуцированное ретиноидами расщепление позвоночника у плодов крыс | Гистологические исследования | Применение пластыря снижало острое воспаление и апоптоз клеток, усиливало пролиферацию клеток |
| Lu, 2023 [21] | Заживление ран | ДВС, фрагмент 3 × 5–8 см | Децеллюляризировали 0,1% SDS, промывали PBS и средой 199 48 ч, 100 об./мин, 37 °C | МСК жировой ткани крысы | Жизнеспособность, пролиферация клеток | Крысы (n = 15) | Гистологические исследования, измерения объема хвоста | Продукт стимулировал пролиферацию клеток к 14-м суткам и ускорял заживление ран хвоста крысы с уменьшением его объема к 5-й неделе наблюдения |
| Dubus, 2022 [16, 17] | Регенеративная медицина | Лиофилизованный ДВС | Удаляли сосуды и амниотическую оболочку, децеллюляризировали 1% Triton X-100 1 ч, обрабатывали ДНКазой 24 ч 37 °C при перемешивании, промывали, лиофилизовали | МСК ВС, фибробласты, остеоциты, нейтрофилы и моноциты человека | Цитотоксичность, пролиферация, проточная цитометрия, продукция цитокинов | Подкожная имплантация крысам (n = 4), регенерация кости свода черепа (n = 2) | Гистологические исследования | Биосовместимый продукт не вызывал активирования метаболической активности нейтрофилов, способствовал противовоспалительной поляризации макрофагов *in vitro*, не вызывал улучшения регенерации кости |

Продолжение табл.

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Converse, 2017 [37] | Тканевая инженерия | Фрагменты ДВС | Пуповину помещали в гипертонический раствор 1 ч, децеллюляризировали Triton X-100 1 ч, помещали в гипертонический раствор 1 ч, деионизированную воду 1 ч, обрабатывали ферментом 12–16 ч, обрабатывали N-лауроилсаркозином 2 ч, этанолом 10 мин, удаляли остатки детергентов, криоконсервировали | МСК костного мозга, гемопоэтические и прогениторные клетки пуповины, линии клеток лейкемии человека HL-60, Kasumi I, MV 411 | Заселение фрагментов ДВС клетками | – | – | Рецеллюляризированный продукт |
| Koci, 2017 [20] | Восстановление нервной ткани | Гидрогель на основе ДВС | Обрабатывали 0,02% трипсином/0,05% ЭДТА, 0,1% надуксусной кислотой, 4% этанолом, лиофилизовали, солюбилизировали пепсином и нейтрализовывали | МСК костного мозга человека | Пролиферация и миграция клеток | Фокальная церебральная ишемия крыс (n = 4) | Гистологические исследования | Цитосовместимость *in vitro*, наблюдали активное заселение гидрогеля клетками реципиента *in vivo* (преобладающей клеточной популяцией были противовоспалительные макрофаги) |
| Ramzan, 2022 [18] | Тканевая инженерия хряща | Гидрогель на основе ДВС | Пуповину подвергали осмотическому шоку, обрабатывали 0,05% трипсином 2 ч при 37 °C, 1% Triton X-100 24 ч при перемешивании, промывали, лиофилизовали, измельчали, солюбилизировали пепсином 48 ч при перемешивании, нейтрализовали, подвергали гелеобразованию | МСК ВС | Пролиферация и жизнеспособность клеток, анализ экспрессии генов | – | – | На 7-е сутки гидрогель на основе ДВС обеспечивал каркасную поддержку для пролиферации клеток и их дифференцировки в хондрогенном направлении на 28-е сутки культивирования |

Окончание табл.

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Výborný, 2019 [38] | Восстановление нерва | Гидрогель на основе ДВС, сшитый с использованием генипина | Пуповину обрабатывали 0,02% трипсином/0,05% ЭДТА, 0,1% надуксусной кислотой, 4% этанолом, лиофилизовали, солюбилизировали пепсином, нейтрализовали, сшивали генипином | МСК ВС, фетальные нейрональные стволовые клетки человека | Жизнеспособность, пролиферация и дифференцировка клеток | Фотохимическое поражение коры | Гистологические исследования | Гидрогель на основе ДВС, сшитый с использованием генипина, удерживался *in situ* до 2 недель без неблагоприятного тканевого ответа и воспаления |
| Калюжная, 2019; Болгарчук 2020; Чеботарев 2020; Кондратенко 2021 [12, 39–44] | Регенеративная медицина | Лиофилизаты ДВС и гидрогеля из ДВС, влажная форма гидрогеля | Удаление сосудов, гомогенаты децеллюляризировали SDS, промывали, лиофилизовали, солюбилизировали пепсином и получали жидкую форму. Лиофилизовали жидкую форму | Фибробласты человека, крыс, мышей, свиньи, морской свинки | Жизнеспособность | Полнослойные раны кожи мышей и свиньи, дефект хряща кролика | Гистологические исследования | Биосовместимые продукты способствуют формированию грануляционной ткани и эпителизации, заживлению гиалинового хряща |

*Примечание.* SDS – додецилсульфат натрия; PBS – фосфатно-солевой буфер; HUVEC – эндотелиальные клетки пупочной вены; ВС – Вартонов студень; ДВС – децеллюляризованный Вартонов студень; ИПК – инсулин-продуцирующие клетки; МСК – мезенхимальные стромальные клетки; ПАВ – поверхностно-активные вещества; ЭТС – эмбриональная телячья сыворотка; ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота.

*Note.* SDS – sodium dodecyl sulfate; PBS – phosphate-buffered saline; HUVEC – human umbilical vein endothelial cells; ВС – Wharton's Jelly; ДВС – decellularized Wharton's jelly; ИПК – insulin-producing cells; МСК – mesenchymal stem cells; ПАВ – surface active agents; ЭТС – fetal bovine serum; ЭДТА – ethylenediaminetetraacetic acid.

Полученный биомиметик ВКМ улучшал организованный рост клеток и уменьшал острое воспаление [36]. В другом исследовании тканеинженерное покрытие, состоящее из МСК жировой ткани крысы и ДВС человека, ускоряло заживление раны хвоста крысы. Регистрировали уменьшение объема хвоста, улучшение ангиогенеза и лимфангиогенеза [21].

Некоторые исследователи подчеркивают применимость продуктов из пуповины человека для стимулирования регенерации разных тканей. M. Dubus et al. методом масс-спектрометрии в изготовленном лиофилизированном ДВС показали присутствие структурных и адгезивных белков, участвующих в процессе заживления ран, таких как коллаген, фибронектин, тенасцин, люмикан, периостин, кератин типа I и II, фибулин и бета-цепь фибриногена [16, 17]. В культуральной среде после инкубации в ней ДВС были выявлены высокие уровни факторов роста. Подобный эффект для нативной пуповины обнаружен не был. При этом высвобождение биоактивных молекул из бесклеточного продукта не приводило к активации фагоцитов и накопления ими активных форм кислорода. Стромальные клетки ВС и фибробласты человека, культивированные в присутствии ДВС, сохраняли высокую жизнеспособность. При подкожной имплантации крысам не было обнаружено воспалительной реакции и образования соединительно-тканной капсулы или реакции на «инородное тело» с присутствием многоядерных гигантских клеток. Имплантированный подкожно продукт, изготовленный из пуповины человека, полностью подвергался ремоделированию в течение трех недель. Макрофаги мыши после 72 ч контакта с ДВС продуцировали противовоспалительные медиаторы в значимо большем количестве по сравнению с контролем. Действие нативной пуповины человека на макрофаги мышей в аналогичных условиях приводило к доминирующей секреции ими провоспалительных медиаторов [16, 17]. В этих же работах установлена антибактериальная активность ДВС, проявляющаяся наличием зоны ингибирования роста микроорганизмов и снижением адгезии бактерий. A G. Converse et al. подробно описали процедуры изготовления ТИК из ДВС в виде пластин с последующей их рецеллюляризацией [37].

В 4 публикациях описано изготовление и свойства солюбилизированных форм ДВС. Z. Koci et al. для приготовления гидрогеля бесклеточный порошкообразный ВС солюбилизировали соляно-кислым пепсином. Полученная форма продукта содержала большее количество сульфатированных ГАГ по сравнению с продуктом, приготовленным по аналогичной технологии из мочевого пузыря, спинного и головного мозга свиньи. Продукты из ДВС демонстрировали короткое время гелеобразования, что свидетельствует о быстрой самосборке структурных молекул. Они поддерживали клеточный рост, пролиферацию и миграцию клеток *in vitro*. А спустя 24 часа после введения инъекционной формы ДВС в очаговое ишемическое поражение в двигательной зоне коры головного мозга крысы в пределах участка поражения формировалась компактная гелевая структура, заселенная плотным слоем эндогенных клеток. Макрофаги были преобладающим типом клеток, присутствующим внутри дефекта, при этом фенотип макрофагов M2 (CD 206) составил 77,1 ± 6,5% от всех макрофагов, содержащихся в геле [20].

F. Ramzan et al. получали гидрогелевую форму ферментативным перевариванием с использованием пепсина в соляной кислоте с последующим гелеобразованием. Полученный таким образом гель из ДВС функционировал как трехмерный матрикс, который обеспечивал необходимое микроокружение для адгезии, миграции, пролиферации и дифференцировки МСК в хондрогенную линию *in vitro* [18].

K. Vyborny et al. для восстановления поражения коры головного мозга крысы использовали солюбилизированную форму гидрогеля из химически сшитого ДВС. В экспериментах *in vitro* было показано отсутствие цитотоксических свойств полученного продукта, а в эксперименте *in vivo* было показано гелеобразование *in situ* без неблагоприятных воспалительных реакций [38].

Группой исследователей из ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» под руководством И.К. Калюжной были запатентованы изделия/продукты из ДВС в лиофилизированной и солюбилизированной гидрогелевой (которая может быть лиофилизирована) формах (рис. 2). Процедура децеллюляризации при этом может быть проведена с использованием додецилсульфата натрия или 0,1 N гидроксидом натрия [12, 39–44]. Биосовместимые продукты показали биоактивность относительно заживления дефектов суставного хряща и кожи [41–44].

Таким образом, в проанализированных публикациях показана возможность использования биосовместимых и биоактивных продуктов на основе ДВС в различных областях регенеративной медицины и клеточных технологий: источник биоактивных молекул при культивировании клеток человека, клеточная иммунотерапия, заживление ран, трансплантация гемопоэтических клеток, дифференцировка МСК в ИПК, восстановление хрящевой ткани, межпозвоночных дисков, сухожилий и нервной ткани, тканевая инженерия сосудов, печени и хряща, а также восстановление после коррекции расщепления позвоночника.

## ПЕРСПЕКТИВЫ И ВОЗМОЖНЫЕ ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗОВАННОЙ СТРОМЫ ПУПОВИНЫ В ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ И РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ

Поиск биоматериалов для тканевой инженерии и регенеративной медицины сосредоточен в основном на разработке биомиметиков, способных индуцировать специфические клеточные реакции и формирование тканевых эквивалентов. Для оптимального воссоздания естественной клеточной ниши идеальный биомиметик должен быть биосовместимым, т. е. он должен легко интегрироваться в окружающую ткань и образовывать с ней единое целое, при этом продукты его деградации также должны иметь высокую биосовместимость. Биомиметик должен поддерживать клеточную адгезию, пролиферацию, дифференцировку и секрецию собственного ВКМ. Скорость деградации матрикса должна соответствовать скорости регенерации ткани реципиента. Для интеграции в организм биоматериал должен обладать способностью к неоваскуляризации и иннервации [46]. В некоторых случаях биоматериал должен выдерживать механическую нагрузку, характерную для области его имплантации, т. е. необходима специфическая механическая прочность и пластичность [47]. Кроме того, стерилизация и хранение не должны изменять свойства матриксов, а применение биоматериала должно быть максимально удобным. Наиболее точным воспроизведением клеточной ниши за счет сохранения специфического состава и морфологии обладают децеллюляризованные ткани. Благодаря этому децеллюляризацию рассматривают как один из наиболее перспективных методов создания миметиков ВКМ [1].

Неиммуногенность децеллюляризованного продукта, как один из основных параметров биосовместимости, обусловлена главным образом отсутствием генетического материала исходной ткани [48]. Применение различных методов и протоколов децеллюляризации обеспечивает надежное очищение от генетического материала донора, но в то же время может приводить к потере биоактивных компонентов и изменению структуры белков ВКМ. Эффективное удаление клеток при сохранности микроструктуры и состава ВКМ обеспечивает способность готового бесклеточного продукта стимулировать регенерацию, а также поддерживать активность клеток [48]. Заметим, что в изученных публикациях нет сравнения эффективности различных протоколов децеллюляризации стромы пуповины. Так, например, оптимизация протокола децеллюляризации позволила повысить функциональные свойства бесклеточных кровеносных сосудов и суставного хряща и печени [49–51].

Аллогенный биоматериал для изготовления из него бесклеточных продуктов часто ограниченно доступен и не является оптимальным по нескольким причинам. Состав, структура тканей взрослого донора подвергаются влияниям внешних и внутренних факторов в течение жизни донора. Пороки развития, перенесенные болезни, возрастные изменения, последствия стрессов, приема лекарств, влияния вредных условий труда или среды обитания существенно изменяют компоненты и архитектуру соединительной ткани. Потеря компонентов ВКМ вместе с увеличением поперечных сшивок коллагена приводит к ухудшению биомеханических свойств тканей. Уровни фибронектина изменяются с возрастом, ухудшая связывание клеток через интегриновые рецепторы с ВКМ [52]. Возрастные изменения донорских тканей неизбежно ухудшают свойства изготовленных из них бесклеточных миметиков и снижают их регенеративный потенциал.

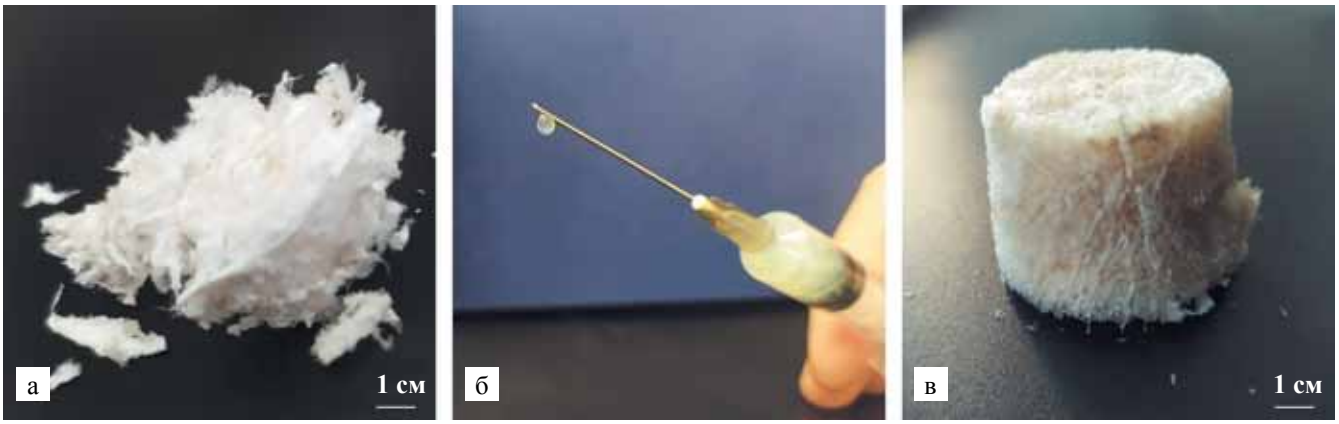


Рис. 2. Внешний вид различных форм децеллюляризованного Вартонова студня (ДВС) человека: а – лиофилизат ДВС [42]; б – солюбилизированная форма ДВС; в – лиофилизат солюбилизированной формы ДВС [45]

Fig. 2. View of various forms of decellularized human Wharton's jelly (DWJ): a – lyophilized DWJ [42]; б – solubilized form of DWJ; в – lyophilized solubilized form of DWJ [45]

С возрастом неизбежно ухудшаются свойства ВКМ, что побудило многих исследователей пренебречь рисками применения для тканевой инженерии ксеногенных биологических материалов. В мире ведутся исследования по созданию бесклеточных продуктов из органов и тканей животного происхождения при условии разработки протоколов, обеспечивающих полное удаление клеток, включая генетический материал [49–51, 53].

Для нужд тканевой инженерии и регенеративной медицины на сегодняшний день существуют предложения коммерческих продуктов на основе децеллюляризованного ВКМ аллогенного и ксеногенного происхождений [54, 55]. Тем не менее биоматериал человека для создания таких продуктов предпочтительнее доступных ксеногенных материалов из-за наличия потенциальной опасности возникновения нежелательных иммунных реакций при их имплантации реципиенту. Углеводный остаток α-1,3-галактозы (эпитоп α-Gal), называемый еще главным ксеноантигеном, является составной частью мембранных гликопротеинов и гликолипидов клеток многих млекопитающих, кроме человека и некоторых видов обезьян. В крови человека содержится высокий титр анти-α-Gal антител. Есть предположение, что стенка бактерий *Enterobacteriaceae* нормальной кишечной микрофлоры, содержащая галактозные остатки, стимулирует иммунную систему человека на выработку этих антител [56].

Избежать полностью реакции иммунной системы реципиента на имплантацию децеллюляризованной ткани невозможно. Однако вид возникающего иммунного ответа при ее имплантации определяет возможность благоприятного результата заживления [57]. A B.M. Sikari et al. и L. Huleichel et al. показали связь между продуктами деградации биоматериалов и фенотипом тканевых макрофагов, экспрессией ими противовоспалительных генов и производством белков [58, 59].

Технологии сшивания коллагена способствуют устойчивости продукта к ферментативному расщеплению, но снижают влагопоглощающие свойства материала [60]. К тому же химические сшивающие агенты изменяют ультраструктуру, состав и топологию поверхности продукта [60]. Однако в случае необходимости длительного функционирования искусственного матрикса в организме использование сшивающих агентов представляется необходимым. Это указывает на возможность их применения для децеллюляризованной стромы пуповины, учитывая выявленную в исследовании [16, 17] быструю деградацию (около 3 недель).

Интерес к использованию экстраэмбриональных тканей (включая плаценту, амниотическую оболочку и пуповину) в качестве сырья для применения в регенеративной медицине объясняется их уникальным составом и свойствами [61]. Состав эмбриональных и неонатальных тканей заметно отличается от тканей взрослых особей, имеет больший регенеративный потенциал, поскольку играет важную роль в морфогенезе тканей [62]. В отличие от ран взрослых покровные раны плода у человека и других млекопитающих спонтанно заживают за счет регенерации без сопутствующего рубцевания, при условии что травма была нанесена в период до третьего триместра беременности, после чего происходит переход к постнатальному типу заживления ран с образованием нежного эластичного рубца [63]. Уникальная особенность тканей фетального фенотипа к ранозаживлению без рубцевания может быть ассоциирована с более высоким содержанием в них противофибротической изоформы TGF-β3 относительно изоформ TGF-β1 и TGF-β2, присущих постнатальным тканям [62].

В то время как клиническое применение плодных оболочек хорошо описано, использование ткани пуповины является относительно новым. Пуповина человека широко используется для получения МСК и эндотелиальных клеток, а также может служить источником гиалуроновой кислоты. В то же время ВС состоит в основном из коллагена (более 500 мг/г ткани), протеогликанов и ГАГ, таких как гиалуроновая кислота и гепарансульфат, иммобилизованных и встроенных в коллагеновую сеть. Пропорциональное соотношение коллагенов в составе ВС составляет: I тип – 47%, III – 40%, V – 12%. До 70% содержания ГАГ в пуповине составляет гиалуроновая кислота (приблизительно 4 мг/мл), что придает ткани особую гидрофильность [61, 64, 65]. Уникальные структурные характериатики и присутствие факторов роста делают пуповину привлекательным источником биоматериала для нужд регенеративной медицины и тканевой инженерии.

Отметим, что среди найденных публикаций, к удивлению авторов, не было ни одного исследования с использованием ксеногенной пуповины. Учитывая свойство низкой иммуногенности провизорных органов и допустимые трудности в обеспечении постоянного поступления биоматериала при трансфере технологии в производство, использование данного вида биоматериала может быть оправдано.

Как показал анализ публикаций, децеллюляризованная строма пуповины человека может быть успешно применена для стимулирования регенеративных процессов разных органов и тканей. Бесклеточная строма пуповины может быть применена как самостоятельный продукт, также она может быть использована для улучшения биологических свойств других материалов. Для простоты транспортировки и хранения децеллюляризованную строму пуповины подвергают лиофилизации. Из ВКМ ВС могут быть изготовлены различные формы продуктов, включая пористые матриксы, гидрогелевые композиции,

трубчатые каркасы и т. д. Возможно дополнение композиции амниотическим материалом или ВКМ минерализованной или деминерализованной кости. Могут быть созданы комбинации биоматериала пуповины с фармацевтическими носителями. В некоторых случаях инъекционные формы гидрогелей ВКМ ВС, обладающие способностью к *in situ* полимеризации, считаются более целесообразными, так как эти материалы могут легко подстраиваться под рельеф поверхности и объем поврежденного участка, а осмотические силы способствуют растяжению полимерной сетки гидрогеля при его набухании. Для этого децеллюляризованную строму пуповины ферментативно солюбилизируют.

В целом работы в области получения биоматериала из децеллюляризованной пуповины начались сравнительно недавно: первая публикации в англоязычной литературе появилась в 2016 году. В России исследования, посвященные описываемой теме, проводятся лишь одной группой ученых ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова», Санкт-Петербург [12, 39–44, 66]. Вероятно, это служит причиной отсутствия клинических работ, отвечающих критериям включения в обзор. При этом в 2022 году в Иране инициированы 2 клинических исследования, посвященных лечению морщин с использованием пуповины [67, 68]. Однако информации о том, является ли применяемая в этих исследованиях пуповина децеллюляризованной, нет.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате анализа работ, опубликованных в электронных базах данных, можно заключить, что научные исследования возможностей применения ДВС являются весьма перспективным направлением регенеративной медицины и тканевой инженерии. Исследователи применяют разные методы удаления клеток и создания удобных форм для применения бесклеточных продуктов из стромы пуповины. Однако для окончательного определения прогноза использования технологии в медицине необходимо получение более убедительных доказательств, а именно дополнительных исследований, клинических и доклинических.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-15-00251, https://rscf.ru/project/21-15-00251/.*

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Севастьянов ВИ.* Технологии тканевой инженерии и регенеративной медицины. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2014; 16 (3): 93–108. *Sevast'yanov VI.* Tekhnologii tkanevoy inzhenerii i regenerativnoy meditsiny. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov.* 2014; 16 (3): 93–108. doi: 10.15825/1995-1191-2014-3-93-108.
2. *Мелешина АВ, Быстрова АС, Роговая ОС, Воротеляк ЕА, Васильев АВ, Загайнова ЕВ*. Тканеинженерные конструкты кожи и использование стволовых клеток для создания кожных эквивалентов. *Современные технологии в медицине*. 2017; 9 (1): 198–220. *Meleshina AV, Bystrova AS, Rogovaya OS, Vorotelyak YeA, Vasil'yev AV, Zagaynova YeV*. Tkaneinzhenernyye konstrukty kozhi i ispol'zovaniye stvolovykh kletok dlya sozdaniya kozhnykh ekvivalentov. *Sovremennyye tekhnologii v meditsine*. 2017; 9 (1): 198–220. doi: 10.17691/stm2017.9.1.24.
3. *Фоминых ЕМ, Митрофанов НВ, Живцов ОП, Стручков АА, Зубрицкий ВФ, Лебедева ЮН и др.* Трансплантация тканевых эквивалентов в лечении некоторых повреждений кожи. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2020; 22 (1): 165–173. *Fominykh YeM, Mitrofanov NV, Zhivtsov OP, Struchkov AA, Zubritskiy VF, Lebedeva YuN i dr.* Transplantatsiya tkanevykh ekvivalentov v lechenii nekotorykh povrezhdeniy kozhi. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2020; 22 (1): 165–173. doi: 10.15825/1995-2020-1-165-173.
4. *Севастьянов ВИ, Григорьев АМ, Басок ЮБ, Кирсанова ЛА, Василец НВ, Малкова АП и др.* Биосовместимые и матриксные свойства полилактидных губок. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2018; 20 (2): 82–90. *Sevast'yanov VI, Grigor'yev AM, Basok YuB, Kirsanova LA, Vasilets NV, Malkova AP i dr.* Biosovmestimyye i matriksnyye svoystva polilaktidnykh gubok. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov.* 2018; 20 (2): 82–90. doi: 10.15825/1995-1191-2018-2-82-90.
5. *Liu H, Gong Y, Zhang K, Ke S, Wang Y, Wang J, Wang H.* Recent Advances in Decellularized Matrix-Derived Materials for Bioink and 3D Bioprinting. *Gels*. 2023*;* 9 (3): 195. doi: 10.3390/gels9030195.
6. *Басок ЮБ, Севастьянов ВИ.* Технологии тканевой инженерии и регенеративной медицины в лечении дефектов хрящевой ткани суставов. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2016; 18 (4): 102–122. *Basok YuB, Sevast'yanov VI.* Tekhnologii tkanevoy inzhenerii i regenerativnoy meditsiny v lechenii defektov khryashchevoy tkani sustavov. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov.* 2016; 18 (4): 102–122. doi: 10.15825/1995-1191-2016-4-102-122.
7. *Sevastianov VI, Basok YB, Grigor'ev AM, Kirsanova LA, Vasilets VN.* Formation of tissue-engineered construct of human cartilage tissue in a flow-through bioreactor. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2017; 164: 269–273. doi: 10.1007/s10517-017-3971-z.
8. *Севастьянов ВИ, Басок ЮБ, Григорьев АМ, Кирсанова ЛА, Василец НВ.* Перфузионный биореактор для создания тканеинженерных конструкций. *Меди-*

*цинская техника*. 2017; 303 (3): 9–11. *Sevast'yanov VI, Basok YuB, Grigor'yev AM, Kirsanova LA, Vasilets NV.* Perfuzionnyy bioreaktor dlya sozdaniya tkaneinzhenernykh konstruktsiy. *Meditsinskaya tekhnika*. 2017; 303 (3): 9–11.

9. *Badylak SF*. Decellularized allogeneic and xenogeneic tissue as a bioscaffold for regenerative medicine: factors that influence the host response. *Annals of Biomedical Engineering*. 2014; 42 (7): 1517–1527. doi: 10.1007/s10439-013-0963-7. PMID: 24402648.
10. *Bakhtyar N, Jeschke MG, Mainville L, Herer E, Amini-Nik S.* Acellular gelatinous material of human umbilical cord enhances wound healing: a candidate remedy for deficient wound healing. *Frontiers in Physiology.* 2017; 8: 200. doi: 10.3389/fphys.2017.00200. PMID: 28421003.
11. *Gupta P, Chaudhuri GR, Janani G, Agarwala M, Ghosh D, Nandi SK, Mandal BB.* Functionalized silk vascular grafts with decellularized human Wharton's jelly improves remodeling via immunomodulation in rabbit jugular vein. *Advanced Healthcare Materials.* 2021; 10 (19): e2100750. doi: 10.1002/adhm.202100750. PMID: 34378360.
12. *Калюжная ЛИ, Чернов ВЕ, Фрумкина АС, Чеботарев СВ, Земляной ДА, Товпеко ДВ, Косулин АВ.* Изготовление тканеинженерного бесклеточного матрикса пуповины человека. *Вестник Российской военно-медицинской академии*. 2020; 69 (1): 124–130. *Kalyuzhnaya LI, Chernov VE, Frumkina AS, Chebotarev SV, Zemlyanoy DA, Tovpeko DV, Kosulin AV.* Izgotovleniye tkaneinzhenernogo beskletochnogo matriksa pupoviny cheloveka. *Vestnik Rossiyskoy voyenno-meditsinskoy akademii.* 2020; 69 (1): 124–130. doi: 10.17816/brmma25980.
13. *Sobolewski K, Małkowski A, Bańkowski E, Jaworski S.* Wharton's jelly as a reservoir of peptide growth factors. *Placenta.* 2005; 26 (10): 747–752. doi: 10.1016/j.placenta.2004.10.008. PMID: 16226124.
14. *Gupta A, El-Amin SF, Levy HJ, Sze-Tu R, Ibim SE, Maffulli N.* Umbilical cord-derived Wharton's jelly for regenerative medicine applications. *Journal of Orthopaedic Surgery*. 2020; 15. doi: 10.1186/s13018-020-1553-7. PMID: 32054483.
15. *Fayon A, Helle D, Francius G*. Characterization of an innovative biomaterial derived from human Wharton's jelly as a new promising coating for tissue engineering applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2022; 10: 884069. doi: 10.3389/fbioe.2022.884069. PMID: 35769101.
16. *Dubus M, Scomazzon L, Chevrier J, Ledouble C, Baldit A, Braux J et al.* Antibacterial and immunomodulatory properties of acellular Wharton's jelly matrix. *Biomedicines*. 2022; 10 (2): 227. doi: 10.3390/biomedicines10020227. PMID: 35203437.
17. *Dubus M, Scomazzon L, Chevrier J, Montanede A, Baldit A, Terryn C et al.* Decellularization of Wharton's jelly increases its bioactivity and antibacterial properties. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2022; 10: 828424. doi: 10.3389/fbioe.2022.828424. PMID: 35360386.
18. *Ramzan F, Ekram S, Frazier T, Salim A, Mohiuddin OA, Khan I.* Decellularized human umbilical tissue derived hydrogels promote proliferation and chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Bioengineering.* 2022; 9: 239. doi: 10.3390/bioengineering9060239.
19. *Kehtari M, Beiki B, Zeynali B*. Decellularized Wharton's jelly extracellular matrix as a promising scaffold for promoting hepatic differentiation of human induced pluripotent stem cells. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2019; 120 (4): 6683–6697. doi: 10.1002/jcb.27965. PMID: 30417406.
20. *Kočí Z, Výborný K, Dubišová J.* Extracellular matrix hydrogel derived from human umbilical cord as a scaffold for neural tissue repair and its comparison with extracellular matrix from porcine tissues. *Tissue Engineering Part C Methods*. 2017; 23 (6): 333–345. doi: 10.1089/ten.TEC.2017.0089. PMID: 28471271.
21. *Lu J-H, Hsia K, Su CK, Pan YH, Ma H, Chiou SH, Lin CH.* A novel dressingcomposed of adipose stem cells and decellularized Wharton's jelly facilitatedwound healing and relieved lymphedema by enhancing angiogenesis and lymphangiogenesis in a rat model. *Journal of functional biomaterials*. 2023; 14 (2): 104. doi: 10.3390/jfb14020104. PMID: 36826903.
22. *Beiki B, Zeynali B, Seyedjafari E.* Fabrication of a three dimensional spongy scaffold using human Wharton's jelly derived extra cellular matrix for wound healing. *Materials Science and Engineering C-Materials for Biological Applications*. 2017; 78: 627–638. doi: 10.1016/j.msec.2017.04.074. PMID: 28576031.
23. *Bullard JD, Lei J, Lim JJ, Massee M, Fallon AM, Koob TJ.* Evaluation of dehydrated human umbilical cord biological properties for wound care and soft tissue healing. *Journal of Biomedical Materials Research Part B Applied Biomaterials.* 2019; 107 (4): 1035–1046. doi: 10.1002/jbm.b.34196. PMID: 30199609.
24. *Li D, Chiu G, Lipe B, Hopkins RA, Lillis J, Ashton JM et al.* Decellularized Wharton jelly matrix: a biomimetic scaffold for *ex vivo* hematopoietic stem cell culture. *Blood Advances.* 2019; 3 (7): 1011–1026. doi: 10.1182/bloodadvances.2018019315. PMID: 30940636.
25. *Penolazzi L, Pozzobon M, Bergamin LS, D'Agostino S, Francescato R, Bonaccorsi G et al.* Extracellular matrix from decellularized Wharton's jelly improves the behavior of cells from degenerated intervertebral disc. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology.* 2020; 8: 262. doi: 10.3389/fbioe.2020.00262. PMID: 32292779.
26. *Jadalannagari S, Converse G, McFall C, Buse E, Filla M, Villar MT et al.* Decellularized Wharton's jelly from human umbilical cord as a novel 3d scaffolding material for tissue engineering applications. *PLoS One*. 2017; 12 (2): e0172098. doi: 10.1371/journal.pone.0172098. PMID: 28222169.
27. *PLOS ONE Staff*. Correction: Decellularized Wharton's Jelly from human umbilical cord as a novel 3D scaffolding material for tissue engineering applications. *PLoS*

*One*. 2017 Mar 7; 12 (3): e0173827. doi: 10.1371/journal.pone.0173827. Erratum for: *PLoS One*. 2017 Feb 21; 12 (2): e0172098. PMID: 28267774.

28. *Jalili Z, Emamgolizadeh B, Abbaszadeh H, Jalili S, Derakhshani M, Yousefi M et al.* Effect of replacement of Wharton acellular jelly with fbs on the expression of megakaryocyte linear markers in hematopoietic stem cells CD34. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention.* 2022; 23 (10): 3281–3286. doi: 10.31557/APJCP.2022.23.10.3281. PMID: 36308350.
29. *Talebi M, Nozad Charoudeh H, Movassaghpour Akbari AA, Baradaran B, Kazemi T.* Acellular Wharton's jelly, potentials in t-cell subtypes differentiation, activation and proliferation. *Advanced Pharmaceutical Bulletin.* 2020; 10 (4): 617–622. doi: 10.34172/apb.2020.074. PMID: 33072540.
30. *Dan P, Velot É, Francius G, Menu P, Decot V.* Human-derived extracellular matrix from Wharton's jelly: An untapped substrate to build up a standardized and homogeneous coating for vascular engineering. *Acta Biomaterialia.* 2017; 48: 227–237. doi: 10.1016/j.actbio.2016.10.018. PMID: 27769940.
31. *Basiri A, Farokhi M, Azami M, Ebrahimi-Barough S, Mohamadnia A, Rashtbar M et al.* A silk fibroin/decellularized extract of Wharton's jelly hydrogel intended for cartilage tissue engineering. *Progress in Biomaterials.* 2019; 8 (1): 31–42. doi: 10.1007/s40204-019-0108-7. PMID: 30706299.
32. *Azarbarz N, Khorsandi L, Nejaddehbashi F, Neisi N, Nejad DB.* Decellularized Wharton's jelly scaffold enhances differentiation of mesenchymal stem cells to insulin-secreting cells. *Tissue Cell.* 2022; 79: 101938. doi: 10.1016/j.tice.2022.101938. PMID: 36152380.
33. *Xiao T, Guo W, Chen M, Hao C, Gao S, Huang J et al.* Fabrication and In Vitro study of tissue-engineered cartilage scaffold derived from Wharton's jelly extracellular matrix. *BioMed Research International*. 2017; 2017: 5839071. doi: 10.1155/2017/5839071. PMID: 29214173.
34. *Foltz KM, Neto AE, Francisco JC, Simeoni RB, Miggiolaro AFRDS, do Nascimento TG et al.* Decellularized Wharton jelly implants do not trigger collagen and cartilaginous tissue production in tracheal injury in rabbits. *Life (Basel)*. 2022; 12 (7): 942. doi: 10.3390/life12070942. PMID: 35888031.
35. *Yuan Z, Cao F, Gao C, Yang Z, Guo Q, Wang Y.* Decellularized human umbilical cord Wharton jelly scaffold improves tendon regeneration in a rabbit rotator cuff tendon defect model. *The American Journal of Sports Medicine.* 2022; 50 (2): 371–383. doi: 10.1177/03635465211055722. PMID: 34739346.
36. *Mann LK, Won JH, Trenton NJ, Garnett J, Snowise S, Fletcher SA et al.* Cryopreserved human umbilical cord versus acellular dermal matrix patches for in utero fetal spina bifida repair in a pregnant rat model. *Journal of neurosurgery. Spine*. 2019; 32 (2): 321–331. doi: 10.3171/2019.7.SPINE19468. PMID: 31675701.
37. *Converse GL, Li D, Buse EE, Hopkins RA, Aljitawi OS.* Wharton's jelly matrix decellularization for tissue engineering applications. *Methods in Molecular Biology*. 2018; 1577: 25–33. doi: 10.1007/7651_2017_61. PMID: 28786033.
38. *Výborný K, Vallová J, Kočí Z, Kekulová K, Jiráková K, Jendelová P et al.* Genipin and EDC crosslinking of extracellular matrix hydrogel derived from human umbilical cord for neural tissue repair. *Scientific Reports*. 2019; 9 (1): 10674. doi: 10.1038/s41598-019-47059-x. PMID: 31337821.
39. *Болгарчук ОО, Калюжная ЛИ, Чернов ВЕ, Чеботарев СВ, Симанов АГ, Чернуцкий АМ.* Оптимизация процедуры децеллюляризации соединительной ткани пуповины человека для создания тканеинженерного раневого покрытия. *Известия Российской военно-медицинской академии*. 2020; 39 (S3-1): 13–18. *Bolgarchuk OO, Kalyuzhnaya LI, Chernov VE, Chebotarev SV, Simanov AG, Chernutskiy AM.* Optimizatsiya protsedury detsellyulyarizatsii soyedinitel'noy tkani pupoviny cheloveka dlya sozdaniya tkaneinzhenernogo ranevogo pokrytiya. *Izvestiya Rossiyskoy voyenno-meditsinskoy akademii*. 2020; 39 (S3-1): 13–18.
40. *Кондратенко АА, Калюжная ЛИ, Соколова МО, Чернов ВЕ.* Сохранность важнейших структурных компонентов пуповины человека после децеллюляризации как этапа изготовления высокорегенеративного раневого покрытия. *Биотехнология*. 2021; 37 (5): 61–65. *Kondratenko AA, Kalyuzhnaya LI, Sokolova MO, Chernov VE.* Sokhrannost' vazhneyshikh strukturnykh komponentov pupoviny cheloveka posle detsellyulyarizatsii kak etapa izgotovleniya vysokoregenerativnogo ranevogo pokrytiya. *Biotekhnologiya*. 2021; 37 (5): 61–65. doi: 10.21519/0234-2758-2021-37-5-61-65.
41. *Чеботарев СВ, Калюжная ЛИ, Хоминец ВВ, Чернов ВЕ, Фрумкина АС, Земляной ДА и др.* Регенеративные эффекты гидрогеля из биоматериала пуповины человека в восстановлении повреждений суставного хряща. *Клиническая и экспериментальная хирургия. Журнал имени академика Б.В. Петровского*. 2020; 8 (4): 119–125. *Chebotarev SV, Kalyuzhnaya LI, Khominets VV, Chernov VE, Frumkina AS, Zemlyanoy DA i dr.* Regenerativnyye effekty gidrogelya iz biomateriala pupoviny cheloveka v vosstanovlenii povrezhdeniy sustavnogo khryashcha. *Klinicheskaya i eksperimental'naya khirurgiya. Zhurnal imeni akademika B.V. Petrovskogo.* 2020; 8 (4): 119–125. doi: 10.33029/2308-1198-2020-8-4-119-125.
42. *Кондратенко АА, Товпеко ДВ, Калюжная ЛИ.* Биологические эффекты бесклеточного тканеинженерного продукта из пуповины человека. *Патогенез*. 2022; 20 (4): 53–62. *Kondratenko AA, Tovpeko DV, Kalyuzhnaya LI.* Biologicheskiye effekty beskletochnogo tkaneinzhenernogo produkta iz pupoviny cheloveka. *Patogenez.* 2022; 20 (4): 53–62. doi: 10.25557/2310-0435.2022.04.53-62.
43. *Калюжная ЛИ, Чеботарев СВ.* Гидрогель из пуповины человека в лечении дефектов суставного

хряща в эксперименте. *Известия Российской военно-медицинской академии*. 2020; 39 (S3-1): 37–40. *Kalyuzhnaya LI, Chebotarev SV.* Gidrogel' iz pupoviny cheloveka v lechenii defektov sustavnogo khryashcha v eksperimente. *Izvestiya Rossiyskoy voyenno-meditsinskoy akademii.* 2020; 39 (S3-1): 37–40.

44. *Калюжная ЛИ, Хоминец ВВ, Чеботарев СВ, Харкевич ОН, Кудяшев АЛ, Чернов ВЕ и др*. Применение биоматериала из пуповины человека для восстановления повреждений суставного хряща. *Профилактическая и клиническая медицина*. 2019; 4 (73): 45–52. *Kalyuzhnaya LI, Khominets VV, Chebotarov SV, Kharkevich ON, Kudyashev AL, Chernov VE i dr.* Primeneniye biomateriala iz pupoviny cheloveka dlya vosstanovleniya povrezhdeniy sustavnogo khryashcha. *Profilakticheskaya i klinicheskaya meditsina*. 2019; 4 (73): 45–52.
45. *Кондратенко АА, Калюжная-Земляная ЛИ, Товпеко ДВ, Шевелева ВС, Глушаков РИ.* Биологические и функциональные свойства лиофилизированных форм тканеинженерных матриксов из пуповины человека. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2023; 25 (1): 113–122. *Kondratenko AA, Kalyuzhnaya-Zemlyanaya LI, Tovpeko DV, Sheveleva VS, Glushakov RI.* Biologicheskiye i funktsional'nyye svoystva liofilizirovannykh form tkaneinzhenernykh matriksov iz pupoviny cheloveka. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov.* 2023; 25 (1): 113–122. doi: 10.15825/1995-1191-2023-1-113-122.
46. *Shin H, Jo S, Mikos AG.* Biomimetic materials for tissue engineering. *Biomaterials.* 2003; 24 (24): 4353–4364. doi: 10.1016/s0142-9612(03)00339-9. PMID: 12922148.
47. *Немец ЕА, Лажко АЭ, Григорьев АМ, Басок ЮБ, Кириллова АД, Севастьянов ВИ.* Биосовместимые и функциональные свойства тканеспецифической мелкодисперсной 3D-матрицы из децеллюляризованного хряща свиньи. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2022; 24 (4): 73–84. *Nemets YeA, Lazhko AE, Grigor'yev AM, Basok YuB, Kirillova AD, Sevast'yanov VI.* Biosovmestimyye i funktsional'nyye svoystva tkanespetsificheskoy melkodispersnoy 3D-matritsy iz detsellyulyarizovannogo khryashcha svin'i. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2022; 24 (4): 73–84. doi: 10.15825/1995-1191-2022-4-73-84.
48. *Crapo PM, Gilbert TW, Badylak SF.* An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomaterials.* 2011; 32 (12): 3233–3243. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.01.057. PMID: 21296410.
49. *Simsa R, Padma AM, Heher P, Hellström M, Teuschl A, Jenndahl L et al.* Systematic *in vitro* comparison of decellularization protocols for blood vessels. *PLoS One.* 2018; 13 (12): e0209269. doi: 10.1371/journal.pone.0209269. PMID: 30557395.
50. *Sevastianov VI, Basok YuB, Grigoriev AM, Nemets EA, Kirillova AD, Kirsanova LA et al.* Decellularization of cartilage microparticles: Effects of temperature, supercritical carbon dioxide and ultrasound on biochemical, mechanical, and biological properties. *Journal of Biomedical Materials Research A*. 2023; 111 (4): 543–555. doi: 10.1002/jbm.a.37474. PMID: 36478378.
51. *Kirillova AD, Basok YuB, Lazhko AE, Grigoryev AM, Kirsanova LA, Nemets EA, Sevastianov VI.* Creating a tissue-specific microdispersed matrix from a decellularized porcine liver. *Inorganic Materials*: *Applied Research.* 2021; 12 (3): 812–819. doi: 10.1134/S2075113321030199.
52. *Целуйко СС, Малюк ЕА, Корнеева ЛС, Красавина НП.* Морфофункциональная характеристика дермы кожи и ее изменения при старении (обзор литературы). *Бюллетень физиологии и патологии дыхания.* 2016; 60. *Tseluyko SS, Malyuk YeA, Korneyeva LS, Krasavina NP.* Morfofunktsional'naya kharakteristika dermy kozhi i yeye izmeneniya pri starenii (obzor literatury). *Byulleten' fiziologii i patologii dykhaniya*. 2016; 60. doi: 10.12737/20130.
53. *Басок ЮБ, Кириллова АД, Григорьев АМ, Кирсанова ЛА, Немец ЕА, Севастьянов ВИ.* Получение микродисперсного тканеспецифического децеллюляризованного матрикса из суставного хряща свиньи. *Перспективные материалы*. 2020; 5: 51–60. *Basok YuB, Kirillova AD, Grigoriev AM, Kirsanova LA, Nemets EA, Sevastianov VI.* Fabrication of microdispersed tissue-specific decellularized matrix from porcine articular cartilage. *Perspektivnye materialy*. 2020; 5: 51–60. doi: 10.30791/1028-978x-2020-5-51-60.
54. *Потекаев НН, Фриго НВ, Петерсен ЕВ.* Искусственная кожа: виды, области применения. *Клиническая дерматология и венерология*. 2017; 6: 7–15. *Potekayev NN, Frigo NV, Petersen YeV.* Iskusstvennaya kozha: vidy, oblasti primeneniya. *Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya.* 2017; 6: 7–15. doi: 10.17116/klinderma20171667-15.
55. *Cramer MC, Badylak SF.* Extracellular Matrix-Based Biomaterials and Their Influence Upon Cell Behavior. *Annals of Biomedical Engineering.* 2020; 48 (7): 2132–2153. doi: 10.1007/s10439-019-02408-9. PMID: 31741227.
56. *Galili U*. Acceleration of wound healing by α-gal nanoparticles interacting with the natural anti-Gal antibody. *Journal of Immunology Research*. 2015; 2015: 589648. doi: 10.1155/2015/589648. PMID: 25922849.
57. *Dziki JL, Huleihel L, Scarritt ME, Badylak SF.* Extracellular matrix bioscaffolds as immunomodulatory biomaterials. *Tissue Engineering Part A*. 2017; 23 (19–20): 1152–1159. doi: 10.1089/ten.TEA.2016.0538. PMID: 28457179.
58. *Sicari BM, Johnson SA, Siu BF, Crapo PM, Daly KA, Jiang H et al.* The effect of source animal age upon the in vivo remodeling characteristics of an extracellular matrix scaffold. *Biomaterials*. 2012; 33 (22): 5524–5533. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.04.017. PMID: 22575834.
59. *Huleihel L, Hussey GS, Naranjo JD, Zhang L, Dziki JL, Turner NJ et al.* Matrix-bound nanovesicles within ECM bioscaffolds. *Science Advances*. 2016; 2 (6): e1600502. doi: 10.1126/sciadv.1600502. PMID: 27386584.

60. *Delgado LM, Bayon Y, Pandit A, Zeugolis DI.* To cross-link or not to cross-link? Cross-linking associated foreign body response of collagen-based devices. *Tissue Engineering Part B Reviews*. 2015; 21 (3): 298–313. doi: 10.1089/ten.TEB.2014.0290. PMID: 25517923.
61. *Roy A, Mantay M, Brannan C, Griffiths S.* Placental Tissues as Biomaterials in Regenerative Medicine. *BioMed Research International*. 2022; 2022: 6751456. doi: 10.1155/2022/6751456. PMID: 35496035.
62. *Lo DD, Zimmermann AS, Nauta A, Longaker MT, Lorenz HP*. Scarless fetal skin wound healing update. *Birth Defects Research Part C Embryo Today Reviews*. 2012; 96 (3): 237–247. doi: 10.1002/bdrc.21018. PMID: 23109319.
63. *Yannas IV.* Similarities and differences between induced organ regeneration in adults and early foetal regeneration. *Journal of the Royal Society Interface*. 2005; 2 (5): 403–417. doi: 10.1098/rsif.2005.0062. PMID: 16849201.
64. *Nanaev AK, Kohnen G, Milovanov AP, Domogatsky SP, Kaufmann P.* Stromal differentiation and architecture of the human umbilical cord. *Placenta*. 1997; 18 (1): 53–64. doi: 10.1016/s0143-4004(97)90071-0. PMID: 9032810.
65. *Franc S, Rousseau JC, Garrone R, van der Rest M, Moradi-Améli M.* Microfibrillar composition of umbilical cord matrix: characterization of fibrillin, collagen VI and intact collagen V. *Placenta*. 1998; 19 (1): 95–104. doi: 10.1016/s0143-4004(98)90104-7. PMID: 9481791.
66. *Калюжная ЛИ, Соколова МО, Чернов ВЕ, Земляной ДА, Чеботарев СВ, Чалисова НИ и др.* Влияние бесклеточного матрикса пуповины человека на динамику роста и жизнеспособность культивируемых клеток человека и животных *ex vivo*. *Гены и клетки*. 2021; 3: 72–79. *Kalyuzhnaya LI, Sokolova MO, Chernov VE, Zemlyanoy DA, Chebotarev SV, Chalisova NI i dr.* Vliyaniye beskletochnogo matriksa pupoviny cheloveka na dinamiku rosta i zhiznesposobnost' kul'tiviruyemykh kletok cheloveka i zhivotnykh *ex vivo*. *Geny i kletki.* 2021; 3: 72–79. doi: 10.23868/202110010.
67. https://trialsearch.who.int/Trial2.aspx?TrialID=IRCT20210612051545N3 [Internet]. World Health Organization: International Clinical Trials Registry Platform (ICTRP). [updated 2022 November 21; cited 2023 April 03]. Available from: https://trialsearch.who.int/Trial2.aspx?TrialID=IRCT20210612051545N3.
68. https://trialsearch.who.int/Trial2.aspx?TrialID=IRCT20210612051545N2 [Internet]. World Health Organization: International Clinical Trials Registry Platform (ICTRP). [updated 2022 November 21; cited 2023 April 03]. Available from: https://trialsearch.who.int/Trial2.aspx?TrialID=IRCT20210612051545N2.

*Статья поступила в редакцию 11.04.2023 г.*
*The article was submitted to the journal on 11.04.2023*

DOI: 10.15825/1995-1191-2023-2-99-106

# ИСКУССТВЕННЫЙ НЕРВНЫЙ ПРОВОДНИК ДЛЯ НАПРАВЛЕННОГО РОСТА ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ НЕРВОВ (КАДАВЕРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

*А.Г. Федяков[1, 2], Е.А. Немец[3], О.Н. Древаль[2], А.В. Горожанин[1, 2], Л.А. Сиднева[2], З.Х. Плиева[2, 4], М.А. Разин[2], Н.В. Перова[5], В.И. Севастьянов[3, 5]*

[1] ГБУЗ «Городская клиническая больница имени С.П. Боткина» Департамента здравоохранения Москвы, Москва, Российская Федерация

[2] ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

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

[4] Клиника «ОртоСпайн», Москва, Российская Федерация

[5] АНО «Институт медико-биологических исследований и технологий», Москва, Российская Федерация

В настоящее время продолжаются поиски эффективных способов восстановления периферических нервов при анатомическом нарушении их целостности. Золотым стандартом по-прежнему остается аутопластика, которая, однако, не лишена недостатков. Актуальным и перспективным является метод применения нервных имплантатов для направленного роста аксонов. **Цель:** изучить биомеханические свойства лабораторных образцов искусственного нервного проводника (ИНП) – нервного кондуита, изготовленных из гибридных биоматериалов, и на кадаверном материале оценить техническую возможность их применения в хирургической практике для восстановления протяженных дефектов периферических нервов. **Материал и методы.** Объектами исследования служили изготовленные методом электроспиннинга три образца ИНП: из синтетического материала – поликапролактона (ПКЛ) и гибридных биоматериалов (ПКЛ с желатином или коллагеном). В ходе работы сравнивались физические и механические свойства ИНП: жесткость, пластичность, эластичность, хрупкость, устойчивость образцов к химическому воздействию, их способность к пропитыванию жидкими средами, проницаемость, возможность наложения анастомоза между имплантатом и нервом во время хирургической операции. В качестве кадаверного материала использовали поверхностную чувствительную ветвь правого лучевого нерва человека диаметром 2 мм, выделенную на предплечье протяженностью около 12 см, как наиболее соответствующую диаметру тестируемых образцов ИНП. После хирургической операции оценивали эхогенные признаки имплантатов и их анастомозов с нервом методом ультразвуковой визуализации. **Результаты.** Установлено, что образцы ИНП из гибридных материалов по биомеханическим свойствам принципиально пригодны для использования в хирургической практике для обеспечения роста и замещения дефекта периферических нервов. Однако наилучший состав нервного проводника может быть установлен после проведения сравнительных доклинических исследований биосовместимых и функциональных свойств образцов из гибридных материалов. **Заключение.** Физические и механические свойства исследуемых образцов ИНП из гибридных биоматериалов соответствуют техническим требованиям, предъявляемым к имплантируемым нервным проводникам при их хирургическом применении.

*Ключевые слова: повреждения периферических нервов, искусственный нервный проводник, нервный кондуит, поликапролактон, коллаген, желатин, регенерация.*

**Для корреспонденции:** Сиднева Лариса Алексеевна. Адрес: 123242, Москва, ул. Баррикадная, 2/1, с. 1. Тел. (988) 991-08-26. E-mail: larisa.sidneva@inbox.ru

**Corresponding author:** Larisa Sidneva. Address: 2/1, bldg. 1, Barrikadnaya str., Moscow, 123242, Russian Federation. Phone: (988) 991-08-26. E-mail: larisa.sidneva@inbox.ru

# ARTIFICIAL NERVE CONDUIT FOR GUIDING PERIPHERAL NERVE GROWTH (CADAVERIC STUDY)

*A.G. Fedyakov[1, 2], E.A. Nemets[3], O.N. Dreval[2], A.V. Gorozhanin[1, 2], L.A. Sidneva[2], Z.H. Plieva[2, 4], M.A. Razin[2], N.V. Perova[5], V.I. Sevastianov[3, 5]*

[1] Botkin Hospital, Moscow, Russian Federation
[2] Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russian Federation
[3] Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation
[4] Orthospine Clinic, Moscow, Russian Federation
[5] Institute of Biomedical Research and Technology, Moscow, Russian Federation

At present, the search for effective ways of restoring peripheral nerves with anatomical damage continues. Autoplasty still remains the gold standard, which, however, is not without its drawbacks. The use of nerve implants for promoting directional axon growth is essential and promising. **Objective:** to study the biomechanical properties of laboratory samples of an artificial nerve conduit (NGC) made of hybrid biomaterials and to, on cadaveric material, assess the technical feasibility of using them in surgical practice to repair extended peripheral nerve defects. **Material and methods.** The objects of the study were three electrospun NGC samples: from synthetic material (polycaprolactone, PCL) and hybrid biomaterials (PCL + gelatin or PCL + collagen). The work compared the physical and mechanical properties of NGC: stiffness, plasticity, elasticity, brittleness, resistance to chemical attack, their ability to be impregnated with liquid media, permeability, possibility of making an anastomosis between the implant and the nerve during surgical procedure. Cadaveric material was the object of the study: we used a dissected superficial sensory branch of the human right radial nerve, 2 mm in diameter, isolated on the forearm, about 12 cm in length, because it most corresponded to the diameter of the NGC samples tested. After surgery, the echogenic features of the implants and their anastomoses with the nerve were assessed by ultrasound imaging. **Results.** It was found that hybrid NGC samples, based on their biomechanical properties, are fundamentally suitable for use in surgical practice, to ensure growth and replacement of a peripheral nerve defect. However, the best composition of a nerve guide can be established after comparative preclinical study of the biocompatible and functional properties of hybrid material samples. **Conclusion.** The physical and mechanical properties of the investigated NGC samples made of hybrid biomaterials meet the technical requirements for implantable nerve conduits for surgical application.

*Keywords: peripheral nerve damage, artificial nerve guide, nerve conduit, polycaprolactone, collagen, gelatin, regeneration.*

Частота повреждений периферических нервов при травмах конечностей составляет от 1,5 до 13% и занимает первое место по степени утраты трудоспособности пострадавших. Инвалидизация при всех травмах нерва достигает 60% [1], при этом около 45% случаев повреждений нервов в Российской Федерации приходится на работоспособных граждан в возрасте от 21 до 35 лет [2].

Ежегодно в России в оперативном лечении при данной патологии нуждается от 4 до 7 тысяч человек [3]. Среди пациентов, подвергшихся хирургическому лечению, только в половине случаев происходит полное функциональное восстановление нерва, у 3% пациентов уменьшается выраженность чувствительности, в то время как двигательная функция нерва восстанавливается менее чем у 25% [4, 5]. Такой низкий процент реабилитации пациентов с повреждением периферического нерва связан в основном с неполноценным регенераторным потенциалом поврежденного аксона, а также с отсутствием необходимого обеспечения условий для направленного роста аксона от проксимального конца к дистальному [6]. Высокая частота травм периферических нервов, сопровождающихся утратой трудоспособности вплоть до инвалидизации, обуславливает актуальность поиска новых эффективных хирургических подходов восстановительного лечения поврежденных нервов.

Для восстановления анатомической целостности поврежденного периферического нерва традиционно в клинической практике используют нейрорафию (хирургическое восстановление целостности нервного ствола путем мобилизации и сшивания его концов), а при ее невозможности – аутопластику собственным нервом. Аутотрансплантация нерва на настоящий момент является «золотым стандартом» лечения при повреждении периферических нервов, сопровождающихся диастазом более 3 см. Однако неврологический дефицит, возникающий в области иннервации нерва, используемого для аутопластики, несоответствие диаметров нерва-донора и нерва-реципиента, значительная продолжительность хирургического вмешательства ограничивают при-

менение данной методики. Альтернативным подходом к восстановлению анатомической целостности поврежденного нерва является создание и применение имплантатов периферических нервов из синтетических и/или природных полимерных материалов, называемых искусственными нервными проводниками (ИНП) (*синоним*: нервный кондуит), которые предназначены способствовать направленному росту аксона и обеспечивать условия для регенерации поврежденного нерва.

Различные варианты нервных кондуитов были предложены еще в XIX веке, но целесообразность их использования до второй половины XX века подвергалась сомнению, так как параллельно применялись более простые хирургические методики мобилизации и натяжения нервных волокон. Позднее от этих хирургических методов отказались, так как стало понятно, что натяжение нервов значительно снижает их регенераторный потенциал [7, 8]. С середины 1980-х годов нервные кондуиты начинают регистрироваться как медицинские изделия, и они становятся коммерчески доступными в клинической практике [9].

Между тем универсального нервного проводника с идеальной биосовместимостью до сих пор не существует. В литературе утверждается значимость следующих основных требований к изготовлению ИНП периферических нервов [5, 10–14]:

а) биосовместимость;
б) скорость биодеградации/биорезорбции не должна превышать время регенерации нерва;
в) проницаемость и толщина стенки (идеальный каркас должен быть полупроницаем; проницаемость проводников увеличивается с размерами пор: нервные каналы с большими порами лучше поддерживают рост аксонов, оптимальный диапазон размера пор составляет 10–20 мкм, что обеспечивает приток питательных веществ и в то же время предотвращает проникновение и рост фибробластов);
г) приемлемые механические свойства (прочность, эластичность, упругость, гибкость, сопротивление разрушению и растяжению, способность к прошиванию);
д) способность создавать оптимальные условия для ускоренного и направленного роста аксонов с последующим полным функциональным и структурным восстановлением денервированной ткани;
е) технология производства имплантатов должна обеспечить выпуск линейного ряда изделий различного диаметра и длины;
ж) доступная цена.

По строению нервные кондуиты можно разделить на полые (в виде замкнутых трубок или продольно рассеченного цилиндра) и наполненные различными материалами.

Нервные проводники можно изготавливать из биодеградируемых/резорбируемых синтетических (например, поливиниловый спирт, полигликолевая кислота, поликапролактон) и природных полимеров (как правило, коллаген/желатин, хитозан, полиоксибутират). У каждой из этих групп есть свои преимущества и недостатки [15, 16]. Высоко биосовместимые изделия из природных полимеров быстро резорбируются, неудовлетворительны по механическим свойствам и требуют больших затрат для их производства. Качества медицинских изделий из синтетических полимеров более воспроизводимые, имеют хорошие механические свойства, но уступают природным полимерам по биосовместимости и не обладают биоактивными свойствами.

На наш взгляд, перспективным подходом к созданию нервных кондуитов является использование гибридных биоматериалов, в состав которых входят как синтетические, так и природные полимеры. Синтетические полимеры позволяют обеспечить ИНП требуемые механические характеристики, а природные полимеры – высокую биосовместимость и наличие биоактивных свойств относительно стимулирования процессов регенерации поврежденного нерва. В своей работе по созданию лабораторных образцов нервных кондуитов из гибридного биоматериала нами был выбран синтетический полимер поликапролактон с низкой скоростью деградации и природный биополимер – основной белок внеклеточного матрикса коллаген (или его денатурированная форма – желатин).

**Целью данной работы** является изучение технической возможности хирургического применения образцов искусственного нервного проводника, изготовленного из гибридных биоматериалов на основе поликапролактона и коллагена/желатина на нерве, выделенном из кадаверного материала.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

ИНП в виде трубок с внутренним диаметром 2 мм (рис. 1) изготавливали методом электроспиннинга, разработанным ранее для создания тканеинженерных конструкций кровеносных сосудов малого диаметра [17], из 10% (w/w) раствора поликапролактона (ПКЛ, ММ 80000, Sigma-Aldrich, США, образец № 1), ПКЛ с добавлением желатина (Sigma-Aldrich, США, образец № 2) и ПКЛ с добавлением коллагена (Коллост, Россия, образец № 3) в гексафторизопропаноле (АО НПО «ПИМ-ИНВЕСТ», Россия) на установке для электроспиннинга NANON-01A («МЕСС $C^{O}$», Япония) при напряжении между электродами 25 кВ, скорости подачи раствора 4 мл/ч, расстоянии до коллектора 100 мм, скорости вращения стержня-подложки 1000 об/мин, с использованием иглы 18 G. После окончания процесса нанесения раствора полученные образцы сушили в термостате

Рис. 1. Образцы ИНП

Fig. 1. NGC samples

при температуре 37 °С в течение 2 ч с последующим вакуумированием для удаления следов растворителя при остаточном давлении 10–20 мм рт. ст. и температуре 37 °С в течение 24 ч.

Механические испытания образцов ИНП проводили на испытательной (разрывной) машине Shimadzu EZ Test EZ-SX (Shimadzu Corporation, Япония) при скорости растяжения 5 мм/мин. Регистрировали следующие механические характеристики образцов: максимальное удлинение образца, усилие до разрыва и модуль Юнга, характеризующий степень эластичности ИНП. Вычисление модуля Юнга осуществляли в программе Trapezium X, версия 1.2.6.

Экспериментальная работа проводилась в помещении с температурой +18 °С. В ходе исследования оценивались физико-механические и технические свойства представленных образцов: жесткость, пластичность, упругость, хрупкость, устойчивость к химическому воздействию, способность к пропитыванию жидкими средами, пористость, возможность наложения анастомоза между имплантатом и нервом (прошивание хирургической иглой, проведение лигатуры). Для этого применяли рычажные весы с грузами различной массы, штангенциркуль, жидкие среды (центрифугированная плазма человеческой крови, 0,5% раствор новокаина, нативная человеческая кровь, 3% раствор $H_2O_2$), раствор пищевого индигокармина для окрашивания прозрачных жидкостей, шовный хирургический материал с нерассасывающейся монофиламентной нитью и атравматической режущей иглой (Пролен 6-0, 45 см).

Объектом исследования служил кадаверный материал: использовалась отпрепарированная поверхностная чувствительная ветвь правого лучевого нерва человека диаметром 2 мм, выделенная на предплечье протяженностью около 12 см, поскольку она наиболее соответствовала диаметру представленных образцов (рис. 2).

Произведено моделирование восстановления целостности поврежденного нерва путем тандемного сшивания ИНП с дистальным и проксимальным фрагментами пересеченного нерва. Вид операции – микрохирургическая, использованы налобная лупа с увеличением ×3,5 и микрохирургический инструментарий.

После послойного ушивания раны оценивались эхогенные характеристики имплантатов и их анастомозов с нервом посредством чрескожной ультразвуковой визуализации в тканях линейным УЗ-датчиком с частотой 7,5 МГц.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследованы три варианта ИНП со следующими размерами: длина и диаметр образцов № 1 (ПКЛ), № 2 (ПКЛ + желатин) и № 3 (ПКЛ + коллаген) со-

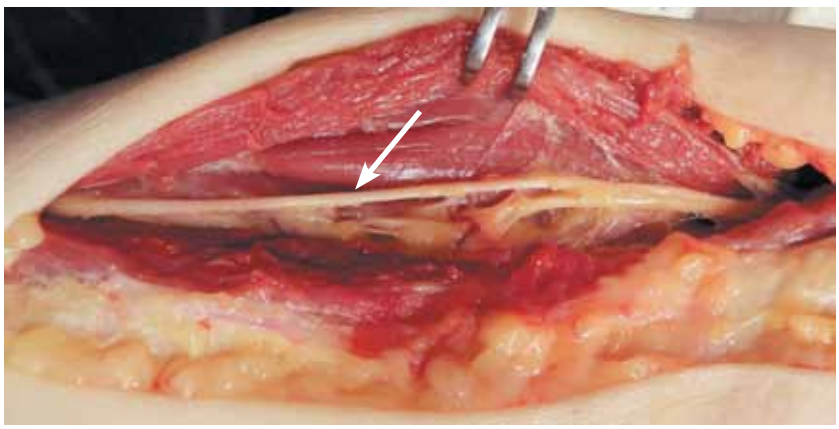

Рис. 2. Поверхностная чувствительная ветвь правого лучевого нерва (указана стрелкой)

Fig. 2. Superficial sensory branch of the right radial nerve (indicated by arrow)

ставили 97,9 и 2,3 мм, 60,4 и 2,5 мм и 49,1 и 3,2 мм соответственно.

Жесткость (на основании тактильных ощущений) образцов в сухом виде уменьшалась в ряду: № 3 > № 2 > № 1. При рассечении образцов скальпелем было отмечено, что в сухом виде они электризуются, налипая на инструмент, первый и третий образцы несколько разволокняются.

Физико-механические характеристики образцов ИНП суммированы в таблице. Как видно из таблицы, наличие желатина в составе нервного кондуита (образец № 2) не влияет на его максимальное удлинение, сопровождается увеличением на 30% модуля Юнга и 2,5-кратным повышением прочности на разрыв по сравнению с образцом № 1 из ПКЛ. В случае присутствия в гибридном материале коллагена (образец № 3) модуль Юнга увеличивается в два раза по сравнению с ИНП из ПКЛ, прочность повышается в 3 раза, а удлинение до разрыва уменьшается на 25%. Таким образом, введение желатина и коллагена приводит к повышению прочности ИНП при одновременном некотором снижении его эластичности, особенно заметном при использовании гибридного материала с коллагеном (образец № 3).

Полученные результаты нашли подтверждение при оценке стойкости (ригидности) образцов к деформационным изменениям. Оценивали деформацию фрагментов образцов длиной 5 мм в сухом виде под воздействием грузов различной массы. Образец № 1 начинал деформироваться под грузом массой 5 г и более, деформация остальных двух происходила под действием грузов массой 20 г (рис. 3). Образцы не были хрупкими под действием физической нагрузки и не крошились при их пересечении скальпелем.

Для определения возможного изменения свойств образцов при взаимодействии с различными биологическими средами и химическими соединениями, встречающимися в ходе операции, их смачивали: 1) в 0,5% растворе новокаина; 2) 3% растворе $H_2O_2$; 3) в нативной человеческой крови; 4) плазме крови человека. Оценивали изменения образцов через 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 часа. Все образцы постепенно пропитывались растворами, становясь при этом более эластичными (на основании тактильных ощущений). Лучше всего и быстрее пропитывался в средах образец № 3, являющийся более гидрофильным в сравнении с остальными. Образец № 1 наиболее гидрофобный. Растворения, изменения формы, значимой потери упругости (деформации под собственным весом) не отмечено ни в одном из исследуемых образцов.

Таблица

**Физико-механические характеристики ИНП**

**Physical and mechanical characteristics of NGC**

| ИНП | Модуль Юнга, МПа | Усилие до разрыва, Н | Удлинение до разрыва, % |
|---|---|---|---|
| № 1 (ПКЛ) | 5,5 ± 1,1 | 10,9 ± 1,6 | 477 ± 38 |
| № 2 (ПКЛ + желатин) | 7,8 ± 2,6 | 24,3 ± 7,6 | 452 ± 32 |
| № 3 (ПКЛ + коллаген) | 10,5 ± 3,1 | 33,2 ± 6,9 | 357 ± 47 |

Рис. 3. Оценка жесткости и упругости (деформация образца № 1 под грузом массой 5 г)

Fig. 3. Assessment of stiffness and elasticity (deformation of sample #1 under a 5 g load)

Для создания анастомозов между ИНП и нервом использовали фрагменты образцов длиной 20 мм. Поочередно тандемно подшивали каждый образец с помощью атравматической иглы (Пролен 6-0) к предварительно пересеченной поверхностной чувствительной ветви лучевого нерва (рис. 4). Накладывались эпиневральные швы на нерв, ИНП прошивались на всю толщину. Трудностей с прошиванием не возникло ни в одном из образцов, однако легче всего прошивался образец № 1. При создании анастомоза удобнее осуществлять вкол со стороны эпиневрия, а затем прошивать имплантат на всю его толщину, причем узел лучше оставлять на внешней стороне нервного кондуита во избежание формирования рубцовых изменений в области нервной ткани. После смачивания раствором новокаина образцы было проще подшивать к нерву, т. к. они становились более эластичными.

Проницаемость образцов оценивалась путем заполнения их просвета со стороны невральной части анастомоза водным раствором пищевого индигокармина (рис. 5). После введения красителя отмечена герметичность швов, а проницаемость ИНП зависела от объема введенного раствора. Все образцы через некоторое время пропускали краситель, наиболее проницаемым являлся образец № 1 из ПКЛ.

Выполнена чрескожная УЗ-визуализация созданных анастомозов после послойного ушивания раны (рис. 6). В ходе исследования были получены следующие данные:

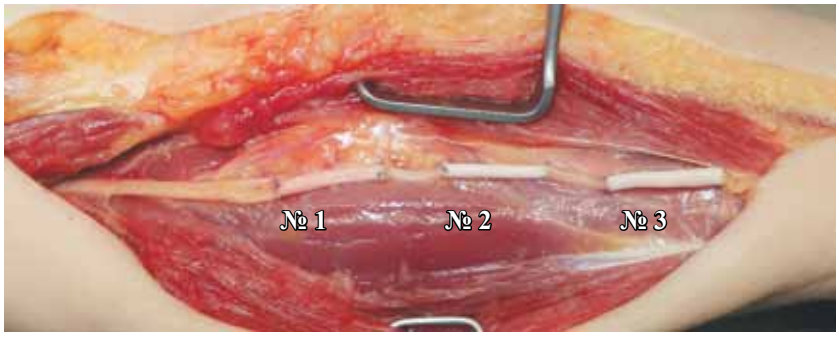


Рис. 4. Тандемные анастомозы между ИНП и поверхностной чувствительной ветвью лучевого нерва

Fig. 4. Tandem anastomoses between the NGC and the superficial sensory branch of the radial nerve

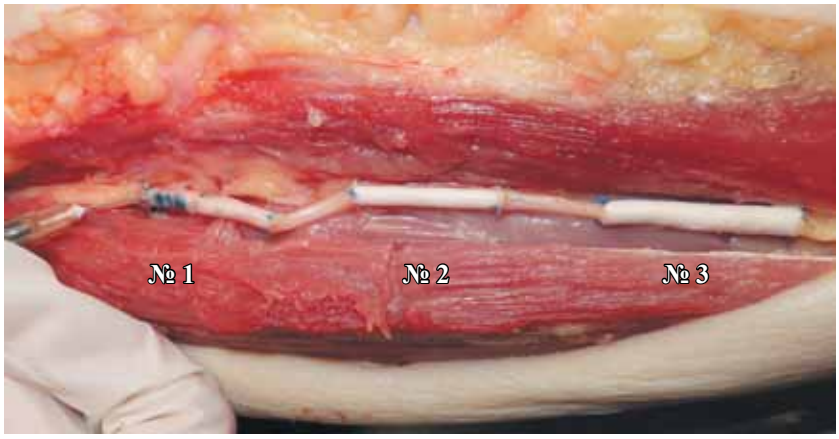


Рис. 5. Введение красителя (водный раствор пищевого индигокармина) в просвет ИНП

Fig. 5. Dye injection (aqueous solution of edible indigo carmine) into the NGC lumen

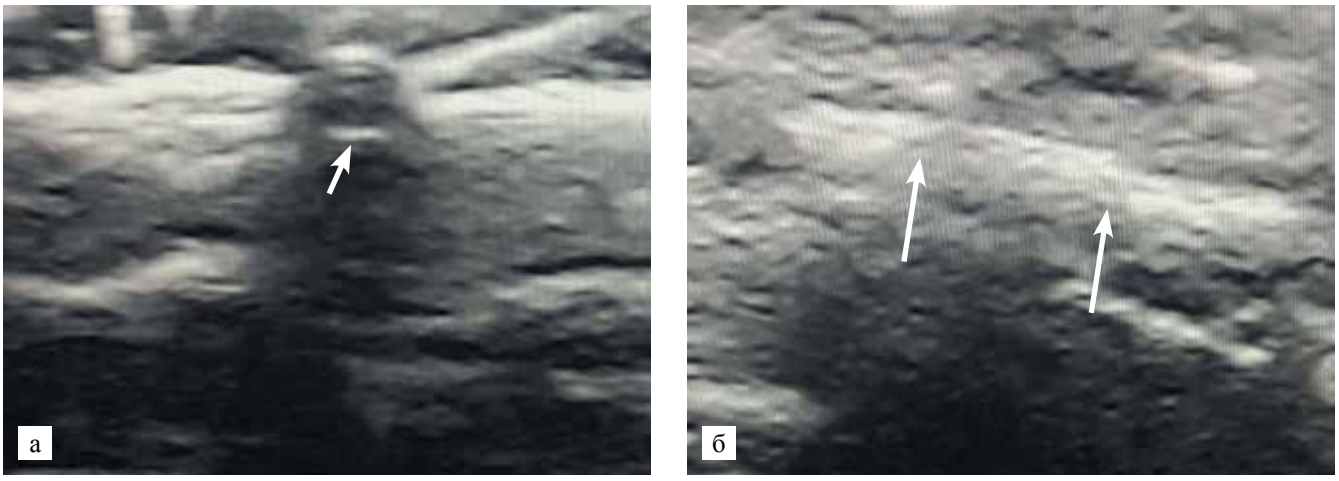


Рис. 6. Ультразвуковая картина ИНП: а – поперечный срез; б – продольный срез (обозначены стрелками)

Fig. 6. Ultrasound picture of the NGC: a – cross section; б – longitudinal section (indicated by arrows)

– сохранность анастомозов между нервом и образцами ИНП после ушивания мягких тканей наблюдалась во всех случаях;
– выявлена повышенная эхогенность всех образцов относительно нерва и окружающих мягких тканей;
– при поперечном сканировании имплантата определялась гиперэхогенная окружность, отличная по УЗ-картине от нерва;
– выявлена разная устойчивость образцов ИНП к механическому давлению на окружающие ткани: образец № 1 обладал наименьшей жесткостью и упругостью – сжимался под давлением УЗ-датчика, уплощался и полностью не восстанавливал свою первоначальную округлую форму; образцы № 2 и № 3 обладали высокой жесткостью и упругостью, не меняли своей конфигурации под давлением; самым ригидным являлся образец № 3.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Образцы ИНП из гибридных биоматериалов (№ 2 – ПКЛ и желатин, № 3 – ПКЛ и коллаген) с хирургической точки зрения подходят для создания нервных проводников с целью восстановления протяженных дефектов периферических нервов.

В увлажненном состоянии ИНП представляют собой легкие, гибкие, эластичные, упругие, не ломкие, пористые трубки, удобные для сшивания с периферическим нервом. Гибридные нейрокондуиты являются умеренно гидрофильными, что *in vivo* важно для обеспечения адгезии клеток как начальной стадии регенеративного процесса в поврежденном нерве. Также указанные образцы имеют приемлемую хирургическую пористость и являются более предпочтительными благодаря способности сохранять форму, в том числе при воздействии различных жидких сред и давления окружающих тканей [16].

Хирургические манипуляции на кадаверном материале показали, что все предоставленные образцы ИНП являются удобными в хирургическом применении (легко прошиваются, формируют герметичные анастомозы с нервом, не деформируются и не растворяются при воздействии различных жидкостей, используемых в ходе хирургического вмешательства). Наилучший состав нервного кондуита будет выбран при проведении сравнительных доклинических исследований биосовместимых и функциональных свойств образцов из гибридных материалов.

Ультразвуковое исследование является основным методом контроля хирургического восстановления анатомической целостности периферических нервов: прямой нейрорафии, аутотрансплантации, пластики с использованием нервных проводников. Это обусловлено тем, что морфологические изменения, происходящие в послеоперационном периоде, опережают функциональное состояние нерва, которое можно оценить клинически или при помощи электронейромиографии. Для определения адекватности проведения и вероятной эффективности таких вмешательств необходимо оценивать: формирование концевой невромы, регенерацию нервных волокон, выраженность рубцово-спаечного процесса в области операции, состоятельность анастомоза. В случае применения ИНП важное значение имеет пропускная способность их оболочек для УЗ-сигнала, которая определяет возможность визуализации регенерирующей нервной ткани в просвете трансплантата. Создание оптимального материала для ИНП с точки зрения выполнения идеальной УЗ-визуализации является крайне затруднительным. Ставя во главу угла только этот критерий, придется жертвовать более важными (химическими, физическими и биологическими) свойствами ИНП. Даже применяемая в нейрохирургической практике для профилактики рубцово-спаечного процесса мембрана на основе полиоксибутирата, имеющая толщину в несколько микрон, снижает возможности УЗ-визуализации в послеоперационном периоде [18].

В ходе репаративных процессов в области оперативного вмешательства УЗ-картина биотрансформации протезов будет меняться с течением времени. Это связано со многими факторами: развитием рубцово-спаечного процесса, неоангиогенезом, регенерацией нервных волокон и биотрансформацией самого ИНП. Самым важным ранним (первые 1–2 месяца после вмешательства) критерием успешности регенерации нервной ткани, даже в случае низкой ультразвуковой пропускной способности ИНП, является отсутствие формирования концевой невромы в области проксимального фрагмента ствола нерва, участвующего в анастомозе. Указанный признак абортивной регенерации (наличие концевой невромы) не зависит от УЗ-характеристик материалов ИНП и может быть выявлен во всех случаях.

Ограничениями УЗ-оценки ИНП были не самая высокая степень УЗ-визуализации, отсутствие возможности оценки биотрансформации как самих ИНП, так и окружающих тканей с течением времени *in vivo*. Поиск оптимального материала для ИНП является важнейшим шагом к созданию эффективного протеза периферического нерва, который может явиться хорошей альтернативой аутотрансплантату. Преимущество применения ИНП в клинической практике состоит в том, что исключается процедура забора нерва у пациента (при аутопластике) и возникающие в связи с этим осложнения на донорском участке, сокращается время проведения хирургического вмешательства, и оно становится более простым. Как показывают многочисленные исследования, возможность функционального восстановления при применении ИНП эквивалентна аутотрансплантации и прямому сшиванию нервов в эксперименте [19, 20].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследованы физические и механические свойства ИНП периферических нервов из ПКЛ и гибридных биоматериалов на его основе, а также изучена техническая возможность их хирургического применения для обеспечения направленного роста и восстановления нерва. Образцы нервных кондуитов, состоящие из гибридных материалов, показали свою принципиальную биомеханическую пригодность для использования в хирургической практике с целью устранения дефекта периферических нервов.

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Маргасов АВ.* Актуальные проблемы травмы периферических нервов. *РМЖ*. 2018; 12 (1): 21–24. *Margasov AV.* Aktual'nye problemy travmy perifericheskih nervov. *RMZh*. 2018; 12 (1): 21–24.
2. *Говенько ФС.* Хирургия повреждений периферических нервов. СПб.: Феникс, 2010. 384 с. *Goven'ko FS.* Hirurgija povrezhdenij perifericheskih nervov. SPb.: Feniks, 2010. 384.
3. *Шоломов ИИ, Киреев СИ, Левченко КК.* Состояние нервно-мышечного аппарата у больных с повреждениями ключицы, костей плечевого пояса и проксимального отдела плеча. *Практическая неврология и нейрореабилитация*. 2008; 3: 16–18. *Sholomov II, Kireev SI, Levchenko KK*. Sostojanie nervno-myshechnogo apparata u bol'nyh s povrezhdenijami kljuchicy, kostej plechevogo pojasa i proksimal'nogo otdela plecha. *Prakticheskaja nevrologija i nejroreabilitacija*. 2008; 3: 16–18.
4. *Kuffler DP, Foy C.* Restoration of Neurological Function Following Peripheral Nerve Trauma. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020; 21 (5): 1808.
5. *Houshyar S, Bhattacharyya A, Shanks R.* Peripheral Nerve Conduit: Materials and Structures. *ACS Chemical Neurosclence*. 2019; 16 (11): 52.
6. *English AW, Wilhelm JC, Ward PJ.* Exercise, neurotrophins, and axon regeneration in the PNS. *Physiology (Bethesda)*. 2014; 29: 437–445.
7. *Piao CD, Yang K, Li P, Luo M.* Autologous nerve graft repair of different degrees of sciatic nerve defect: stress and displacement at the anastomosis in a three-dimensional finite element simulation model. *Neural regeneration res*. 2015; 10 (5): 804–807.
8. *Millesi H, Meisl G, Berger A*. Further experience with interfascicular grafting of the median, ulnar, and radial nerves. *J Bone Joint Surg*. 1976; 58 (2): 209–218.
9. *Kehoe S, Zhang XF, Boyd D*. FDA approved guidance conduits and wraps for peripheral nerve injury: a review of materials and efficacy. *Injury*. 2012; 43 (5): 553–572.
10. *Chrząszcz P, Derbisz K, Suszyński K, Miodoński J, Trybulski R, Lewin-Kowalik J et al.* Application of peripheral nerve conduits in clinical practice: a literature review. Neurol. Neurochir. Pol. 2018; 52: 427–435.
11. *Мирошникова ПК, Люндуп АВ, Бацаленко НП, Крашенинников МЕ, Занг Ю, Фельдман НБ, Береговых ВВ.* Перспективные нервные кондуиты для стимуляции регенерации поврежденных периферических нервов. *Вестник РАМН*. 2018; 73 (6): 388–400. *Miroshnikova PK, Lyundup AV, Bacalenko NP, Krasheninnikov ME, Zang Yu, Fel'dman NB, Beregovyh VV.* Perspektivnye nervnye konduity dlya stimulyacii regeneracii povrezhdennyh perifericheskih nervov. *Vestnik RAMN*. 2018; 73 (6): 388–400. doi: 10.15690/vramn1063.
12. *Величанская АГ, Абросимов ДА, Бугрова МЛ, Казаков АВ, Погадаева ЕВ, Радаев АМ и др*. Реконструкция периферического нерва при использовании биодеградируемого и бионедеградируемого кондуитов в эксперименте. 2020; 12 (5): 48–56. *Velichanskaya AG, Abrosimov DA, Bugrova ML, Kazakov AV, Pogadaeva EV, Radaev AM et al*. Reconstruction of the rat sciatic nerve by using biodegradable and non-biodegradable conduits. *Sovremennye tehnologii v medicine*. 2020; 12 (5): 48–56. https://doi.org/10.17691/stm2020.12.5.05.
13. *Liu D, Mi D, Zhang T, Zhang Y, Yan J, Wang Y et al.* Tubulation repair mitigates misdirection of regenerating motor axons across a sciatic nerve gap in rats. *Sci Rep*. 2018; 8: 3443.
14. *Du J, Jia X.* Engineering nerve guidance conduits with three-dimenisonal bioprinting technology for long gap peripheral nerve regeneration. *Neural Regen Res*. 2019; 14: 2073.
15. *Goulart CO, Pereira Lopes FR, Monte ZO, Dantas SV, Souto A, Oliveira JT et al.* Evaluation of biodegradable polymer conduits – poly(l-lactic acid) – for guiding sciatic nerve regeneration in mice. *Methods*. 2016; 99: 28–36.
16. *Fornasari BE, Carta G, Gambarotta G, Raimondo S.* Natural-Based Biomaterials for Peripheral Nerve Injury Repair. *Front Bioeng Biotechnol*. 2020; 16 (8): 554257.
17. *Nemets EA, Surguchenko VA, Belov YuV, Xajrullina AI, Sevastianov VI.* Porous Tubular Scaffolds for Tissue Engineering Structures of Small Diameter Blood. *Inorganic Materials: Applied Research*. 2023; 14 (2): 400–407.
18. *Федяков АГ, Древаль ОН, Кузнецов АВ, Севастьянов ВИ, Перова НВ, Немец ЕА и др.* Экспериментальное обоснование применения гелевого имплантата «*Сферо*®Гель» и пленочного имплантата «ЭластоПОБ»® при травме периферической нервной системы в эксперименте. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2009; 11 (4): 75–80. *Fedjakov AG, Dreval' ON, Kuznecov AV, Sevast'janov VI, Perova NV, Nemec EA et al.* Jeksperimental'noe obosnovanie primenenija gelevogo implantata «Sfero®Gel'» i plenochnogo implantata «JelastoPOB»® pri travme perifericheskoj nervnoj sistemy v jeksperimente. *Vestnik transplantologii i iskusstvennyh organov*. 2009; 11 (4): 75–80.
19. *Krarup C, Isben A, Boeckstyns M et al.* Effects of a Collagen Nerve Guide Tube in Patients With a Median or Ulnar Nerve Lesion. *American Association for Hand Surgery Annual Meeting*. 2011; 99.
20. *Archibald SJ, Shefner J, Krarup C et al.* Monkey Median Nerve Repaired by Nerve Graft or Collagen Nerve Guide Tube. *J Neurosci*. 1995; 15 (5): 4109–4123.

*Статья поступила в редакцию 06.04.2023 г.*
*The article was submitted to the journal on 06.04.2023*

DOI: 10.15825/1995-1191-2023-2-107-117

# ВНУТРИБРЮШИННОЕ ВВЕДЕНИЕ КЛЕТОЧНО-ИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫСАМ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ (ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ)

*А.С. Пономарева, Н.В. Баранова, А.О. Никольская, Л.А. Кирсанова, Н.А. Онищенко, З.З. Гоникова, Г.Н. Бубенцова, Е.А. Волкова, Ю.Б. Басок, В.И. Севастьянов*

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

Создание биоискусственной поджелудочной железы (ПЖ), в том числе клеточно-инженерной конструкции (КИК), сформированной на основе островков Лангерганса и биосовместимого матрикса, имитирующего нативное микроокружение панкреатической ткани, является одним из подходов к лечению сахарного диабета I типа (СД I). **Целью** работы было проведение предварительных исследований *in vivo* функциональной эффективности внутрибрюшинного введения клеточно-инженерной конструкции эндокринного отдела поджелудочной железы и суспензии панкреатических островков крысы в экспериментальной модели СД I. **Материалы и методы.** Тканеспецифический матрикс получали в результате децеллюляризации фрагментов ПЖ человека. Определяли жизнеспособность и функциональную активность островков крысы, выделенных с помощью коллагеназы. Экспериментальный СД I моделировали путем внутрибрюшинного введения малых доз стрептозотоцина и неполного адъюванта Фрейнда крысам. Крысам дважды вводили внутрибрюшинно КИК ПЖ (n = 2) или суспензию островков (n = 1). Оценивали уровень глюкозы в крови и моче крыс, а также проводили гистологическое исследование органов (поджелудочная железа и почки) экспериментальных животных. **Результаты.** После первого введения отмечали постепенное снижение уровня глюкозы в крови всех животных более чем на 47% от исходных значений, у которых к 24 суткам наблюдения происходил подъем уровня глюкозы до исходных гипергликемических показателей. После повторного введения наблюдали снижение уровня гликемии у животных с КИК ПЖ на 63,4% и на 47,5% – у крысы с суспензией островков. Через 5 недель эксперимента происходило постепенное повышение уровня глюкозы в крови у всех животных. При этом гликемический показатель крысы с введенной КИК ПЖ был на 62% ниже показателя гликемии у крысы с введенными островками. **Заключение.** В предварительных экспериментах показано, что аллогенные панкреатические островки в составе КИК ПЖ увеличивают длительность стабильного уровня гликемии у крыс с СД I.

*Ключевые слова: поджелудочная железа, островки Лангерганса, клеточно-инженерная конструкция, тканеспецифический матрикс, модель сахарного диабета.*

**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

# INTRAPERITONEAL INJECTION OF CELL-ENGINEERED PANCREAS IN RATS WITH EXPERIMENTAL TYPE I DIABETES (PRELIMINARY RESULTS)

*A.S. Ponomareva, N.V. Baranova, A.O. Nikolskaya, L.A. Kirsanova, N.A. Onishchenko, Z.Z. Gonikova, G.N. Bubentsova, E.A. Volkova, Yu.B. Basok, V.I. Sevastianov*

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

Creation of a bioartificial pancreas, including a cell-engineered construct (CEC) formed from pancreatic islets (islets of Langerhans) and a biocompatible matrix mimicking the native microenvironment of pancreatic tissue, is one of the approaches to the treatment of type 1 diabetes mellitus (T1D). **Objective:** to conduct preliminary in vivo studies of the functional efficacy of intraperitoneal injection of a cell-engineered pancreatic endocrine construct and a suspension of rat pancreatic islets in an experimental T1D model. **Materials and methods.** Tissue-specific scaffold was obtained by decellularization of human pancreatic fragments. The viability and functional activity of rat islets isolated with collagenase were determined. Experimental T1D was modeled by intraperitoneal injection of low-dose streptozotocin and incomplete Freund's adjuvant into rats. The rats were intraperitoneally injected twice with pancreatic CEC (n = 2) or islet suspension (n = 1). Glucose levels in the blood and urine of the rats were assessed. Histological examination of organs (pancreas and kidneys) of the experimental animals was carried out. **Results.** After the first injection, blood glucose levels gradually decreased in all animals by more than 47% of the initial values; by follow-up day 24, the glucose level rose to the initial hyperglycemic values. After repeated administration, a 63.4% decrease in glycemic level was observed in the rats with pancreatic CEC and a 47.5% decrease in the one with islet suspension. At week 5 of the experiment, blood glucose levels gradually increased in all animals. At the same time, the glycemic index of the rat with injected pancreatic CEC was 62% lower than the glycemic index of the rat with injected islets. **Conclusion.** Allogeneic pancreatic islets in pancreatic CEC increase the duration of stable glycemic level in T1D rats.

*Keywords: pancreas, islets of Langerhans, cell-engineered construct, tissue-specific scaffold, diabetes model.*

## 1. ВВЕДЕНИЕ

Сахарный диабет I типа (СД I) – аутоиммунное заболевание с критической потерей инсулинпродуцирующих β-клеток, для лечения которого представляется перспективным применение клеточной терапии. Современным методом лечения тяжелых случаев СД I является трансплантация панкреатических островков согласно Эдмонтонскому протоколу [1–4], для проведения которой требуется значительная масса островков от нескольких доноров [5]. После трансплантации уменьшается риск развития осложнений СД, снижается количество гипергликемических эпизодов, а в некоторых случаях достигается полная инсулиннезависимость [6, 7].

Однако проблема нехватки донорских органов и ограниченного времени функционирования островков *in vivo* стимулирует поиск технологий тканевой инженерии и регенеративной медицины, направленных на долгосрочное сохранение их жизнеспособности и функциональной активности. В процессе выделения, культивирования и трансплантации островки утрачивают васкуляризацию, иннервацию, связь с внеклеточным матриксом (ВКМ), что делает их еще более восприимчивыми к окислительному стрессу [8]. Кроме того, посттрансплантационное повреждение островков связано с мгновенными воспалительными реакциями, опосредованными кровью, иммунной реакцией, гипоксией и токсическим действием иммуносупрессоров [9–11].

В настоящее время совершенствование методов биотехнологии позволяет надеяться на перспективность применения технологий, базирующихся на создании тканевого эквивалента эндокринного отдела поджелудочной железы (ПЖ), сформированного на основе длительно сохраняющих жизнеспособность и функциональную активность инсулинпродуцирующих клеточных компонентов и биосовместимого матрикса, обеспечивающего им наилучшие условия. Преимущество использования островков при создании тканевого эквивалента ПЖ перед инсулинпродуцирующими клетками другого происхождения заключается в сохранении для β-клеток паракринных связей со всеми типами островковых клеток [12].

Важными составляющими тканевого эквивалента ПЖ являются компоненты ВКМ, предотвращающие клеточный стресс и способствующие сохранению жизнеспособности и функции островков. Биоматриксы с компонентами ВКМ представляют собой универсальные платформы для создания тканевого

эквивалента, так как обеспечивают структурно-механическую поддержку островкам, служат резервуаром ростовых факторов, цитокинов, антиоксидантов и передают через интегрины сигналы островковым клеткам [13–15].

Ранее исследования биоматриксов для тканевого эквивалента ПЖ были сосредоточены на искусственном конструировании каркасов, сходных с нативным ВКМ панкреатической ткани, но ни один из них не смог точно имитировать сложность фактического состава и структуры ВКМ [16–18].

M. Buitinga et al. [19] сообщили, что аллогенные островки, трансплантированные на пористом каркасе мышам с экспериментальным СД, способны восстанавливать стабильную нормогликемию по сравнению с островками, трансплантированными без каркаса. Показано, что при культивировании на коллагенсодержащих матриксах длительное время после выделения островки сохраняли жизнеспособность и проявляли секреторную активность [20, 21]. Трансплантация культивированных на таких матриксах островков становилась более успешной [22].

Последнее время в качестве альтернативы получения матрикса с сохраненными особенностями структуры и состава панкреатической ткани используются технологии децеллюляризации ПЖ. При разработке протоколов получения тканеспецифического децеллюляризованного матрикса важно учитывать для его функциональной активности сохранение в нем нативных компонентов ВКМ: структурных белков, гликопротеинов и факторов клеточной адгезии, при максимально полном удалении ДНК для минимизации иммунного ответа при имплантации тканевого эквивалента ПЖ [23–27].

Установлено, что островки, культивированные в присутствии тканеспецифического матрикса из децеллюляризованной ПЖ, увеличивали секрецию инсулина по сравнению с изолированными островками в монокультуре [28, 29]. D. Wu et al. [30] на экспериментальной модели СД I показали, что рецеллюляризованная популяцией инсулинпродуцирующих клеток ткань ПЖ способна контролировать уровень глюкозы в крови мышей по сравнению с такими же клетками, культивированными на чашках Петри.

Ранее нами были описаны подходы к получению тканеспецифических матриксов из децеллюляризованной ПЖ крысы [31] и человека [28], показано сохранение структуры, пролонгирование жизнеспособности и функции, культивируемых с тканеспецифическим матриксом островков по сравнению с островками, культивированными без биоматрикса.

Таким образом, функциональность тканевого эквивалента ПЖ *in vitro* напрямую связана с сохранностью клеточного компонента, входящего в его состав, что в конечном итоге может иметь решающее значение *in vivo* [32].

**Целью** настоящей работы было проведение предварительных исследований *in vivo* функциональной эффективности КИК ПЖ и изолированных островков Лангерганса крысы при внутрибрюшинном введении крысам с экспериментальной моделью СД I.

## 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 2.1. Экспериментальные животные

Эксперименты проводили на крысах-самцах породы Wistar, полученных из питомника лабораторных животных ООО «КролИнфо» с представлением ветеринарного свидетельства, подтверждавшего отсутствие в хозяйстве инфекционных заболеваний. Акклиматизацию и содержание лабораторных животных осуществляли в соответствии с межгосударственным стандартом ГОСТ ISO 10993-2-2009 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий». Часть 2. «Требования к обращению с животными».

Все манипуляции с животными проводили с соблюдением биоэтических принципов, утвержденных Европейской конвенцией о защите позвоночных животных (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes, 2005) и в соответствии с Правилами лабораторной практики, утвержденными приказом Минздрава России № 708 от 23.08.2010. Получено заключение об одобрении проведения экспериментальных исследований от Локального этического комитета при ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация от 28 января 2021, протокол № 280121-1/1е.

### 2.2. Модель экспериментального сахарного диабета I типа

СД I моделировали согласно известному запатентованному способу на крысах-самцах породы Wistar в течение 16 суток (табл. 1) путем внутрибрюшин-

Таблица 1

**Схема моделирования сахарного диабета I типа**

**Scheme for TID modeling**

| Сутки | 1 | 2 | … | 8 | 9 | … | 15 | 16 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Введение стрептозотоцина | | 25 мг/кг | | | 20 мг/кг | | | 25 мг/кг |
| Введение неполного адъюванта Фрейнда | 1 мл | | | 1 мл | | | 1 мл | |

ного введения малотоксичных доз стрептозотоцина каждые 7 суток [33]. Стрептозотоцин вводили после 12 часов голодания, дозу препарата определяли из расчета 25 мг/кг массы тела животного при первом введении, 20 мг/кг при повторном введении и 25 мг/кг при третьем введении. Для индукции аутоиммунного воспаления животным внутрибрюшинно трехкратно вводили 1 мл неполного адъюванта Фрейнда за сутки перед каждым введением стрептозотоцина.

Ежедневно проводили наблюдения за животными, оценивали внешний вид, измеряли количество потребляемой животными воды. Каждую неделю проводили измерения уровня глюкозы в крови и в моче животных натощак, отслеживали динамику изменения веса. Для дальнейшего исследования отбирали крыс, высокий уровень гликемии которых оставался стабильным на протяжении двух недель.

## 2.3. Технология получения тканеспецифического матрикса из децеллюляризованной ткани поджелудочной железы

Для формирования тканевого эквивалента ПЖ в качестве биомиметика ВКМ был выбран тканеспецифический мелкодисперсный матрикс, полученный в результате децеллюляризации фрагментов ПЖ человека (ДПЖч-матрикс) по разработанному ранее протоколу [28]. Проведенные исследования показали, что ДПЖч-матрикс сохраняет морфофункциональные свойства нативного ВКМ панкреатической ткани, содержит основные фибриллярные белки (коллаген I типа, эластин), обладает низкой иммуногенностью (не более 0,1% ДНК), не цитотоксичен относительно адгезии и пролиферации клеточных культур [28].

На разработку технологии получения и исследования тканеспецифического матрикса было получено заключение об одобрении проведения экспериментальных исследований от Локального этического комитета при ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация от 16 марта 2018, протокол № 160318-1/1э.

## 2.4. Выделение, идентификация и культивирование островков Лангерганса крысы

Выделение островков проводили из ПЖ крыс-самцов породы Wistar (ПЖкр). Животных подвергали ингаляционной эвтаназии с помощью изофлурана (Laboratories Kariozo, Испания), затем в стерильных условиях иссекали ПЖкр, которую сразу помещали в чашку Петри с холодным (+4 °С) раствором Хенкса без ионов $Ca^{2+}$ и $Mg^{2+}$ (Thermo Fisher Scientific, США), содержащим амфотерицин В. Все дальнейшие манипуляции, требующие стерильности, проводили в условиях ламинарного бокса, обеспечивающего поток стерильного воздуха.

В панкреатическую ткань последовательными инъекциями интрапаренхиматозно вводили 2 мл раствора коллагеназы NB1 (активность 20 PZ U/g ткани) с нейтральной протеазой NP (активность 1,5 DMC U/g ткани) (Serva, Германия). Растянутую ткань ПЖкр, не разрезая, аккуратно разделяли микропинцетами на 10–12 примерно равных частей, переносили во флакон и инкубировали 7–10 мин в орбитальном шейкер-инкубаторе (Biosan, Латвия) при температуре 37,0 °С со скоростью вращения 150 об/мин. Действие коллагеназы останавливали добавлением холодного (+4 °С) раствора Хенкса. Образовавшиеся мелкие фрагменты фильтровали через стрейнер (Corning-Costar, США) с диаметром ячеек 100 мкм, собирали фильтрат в конические пробирки и центрифугировали 1 мин при скорости 800 об/мин. Супернатант дважды отмывали свежим раствором Хенкса в течение 1–1,5 мин при 1200–1300 об/мин для получения островковой суспензии.

Островки идентифицировали с помощью окрашивания дитизоном (Sigma-Aldrich, США) непосредственно после выделения. Для этого часть суспензии смешивали с раствором дитизона (1 мг/мл) в соотношении объемов 2 : 1 и инкубировали 20–30 мин при температуре 37 °С.

Свежевыделенные островки ресуспендировали в полной ростовой среде, содержащей DMEM (глюкоза 1,0 г/л) (ПанЭко, Россия), 10% эмбриональной телячьей сыворотки (HyClone, США), Hepes (Thermo Fisher Scientific, США), 2 мМ аланил-глютамина (ПанЭко, Россия), 1% антибиотика/антимикотика (Thermo Fisher Scientific, США), вносили в культуральные флаконы и культивировали 24 часа в стандартных условиях при 37 °С в $CO_2$-инкубаторе в увлажненной атмосфере, содержащей 5% $CO_2$.

## 2.5. Оценка жизнеспособности и функциональной активности островков Лангерганса

Жизнеспособность культивированных в течение 24 часов островков определяли путем флуоресцентного окрашивания акридиновым оранжевым и йодистым пропидием (AO/PI) (ПанЭко, Россия).

Для окрашивания часть островковой суспензии помещали в чашку Петри, смешивали с приготовленным рабочим раствором красителя в соотношении объемов 2 : 1 и инкубировали в темноте в течение 15–30 мин. Подсчет жизнеспособных островков проводили с помощью люминесцентного микроскопа Nikon Eclipse 50i (Nikon, Япония) при увеличении объектива ×10.

Для определения функциональной активности островков после 24 часов культивирования проводили измерение содержания инсулина под влиянием традиционного стимулятора секреции гормона. Для этого ростовую среду заменяли свежей с низким содержанием глюкозы 1,0 г/л (2,8 ммоль/л). После 60-минутной инкубации в стандартных условиях отбирали пробы культуральной среды. Затем удаляли ростовую среду и заменяли свежей с высокой концентрацией глюкозы – 4,5 г/л (25 ммоль/л). Через 60 минут инкубации в стандартных условиях также отбирали пробы культуральной среды (по 2 пробы для каждого срока культивирования) для проведения иммуноферментного анализа (ИФА), используя набор Ra Insulin ELISA Kit (Thermo Fisher Scientific, США).

### 2.6. Получение клеточно-инженерной конструкции поджелудочной железы

В качестве клеточного инсулинпродуцирующего компонента КИК ПЖ использовали очищенную суспензию культивированных островков. Островковую суспензию получали в результате центрифугирования в ростовой среде в течение 2 мин при скорости 1200 об/мин, затем очищали в растворе Хенкса при том же режиме.

Для каждого образца КИК ПЖ отбирали 2000 островков, полученных в среднем из 1,5 ПЖ крыс-доноров, ресуспендировали в 1,0–1,2 мл раствора Хенкса и смешивали с мелкодисперсным стерильным ДПЖч-матриксом (10,0 ± 0,1 мг) из ПЖ человека.

Полученный образец КИК ПЖ помещали в шприц с размером иглы 23 G непосредственно перед введением крысам-реципиентам.

### 2.7. Внутрибрюшинное введение клеточно-инженерной конструкции поджелудочной железы и островков Лангерганса

Для корригирующей терапии отобрали трех крыс с выраженным и стабильным аутоиммунным СД I: инъекционно внутрибрюшинно в нижнюю треть живота крысам № 1 и № 3 вводили образец КИК ПЖ (2000 аллогенных островков Лангерганса с ДПЖч-матриксом); крысе № 2 – 2000 аллогенных панкреатических островков в виде суспензии.

Наблюдение за всеми животными продолжалось более 12 недель. Проводили ежедневный мониторинг количества потребляемой животными воды. Еженедельно контролировали массу тела животных, а также определяли содержание глюкозы в крови и в моче. Уровень гликемии в капиллярной крови животных измеряли натощак еженедельно с помощью глюкометра Accu-Check Active (Roche, Швейцария). Все манипуляции проводили в утренние часы (в период с 9 до 12 часов). Содержание глюкозы и кетоновых тел в моче оценивали с помощью индикаторных полосок Кетоглюк-1 (Биосенсор АН, Россия).

### 2.8. Гистологическое исследование

Извлеченные ПЖ и почки всех экспериментальных животных фиксировали в 10% забуференном формалине, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации, затем выдерживали в смеси хлороформа и этанола, после чего переносили в хлороформ и заливали в парафиновые блоки.

Срезы толщиной 5 мкм получали с помощью микротома RM2245 (Leica, Германия) и в дальнейшем окрашивали гематоксилином и эозином (H&E) и на общий коллаген (метод Массона). Иммуногистохимическое окрашивание основных типов островковых клеток проводили с использованием антител к инсулину и глюкагону (Abcam, Великобритания) и системы визуализации Rabbit Specific HRP|DAB (ABC) Detection IHC kit (Abcam, Великобритания).

### 2.9. Статистический анализ

Статистическую обработку данных проводили с использованием программного обеспечения Microsoft Excel (2016). Для определения статистической достоверности различий средних между выборками при оценке функциональной активности островков Лангерганса здоровой крысы (содержание инсулина в культуральной среде при стимуляции глюкозой) применяли t-критерий Стьюдента. Различия считали статистически достоверными в том случае, если уровень значимости p не превышал порогового значения 0,05.

## 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### 3.1. Модель экспериментального сахарного диабета I типа

Для эксперимента было отобрано 4 крысы с экспериментальным СД I с глюкозой в крови натощак: 15,8; 26,7; 28,1; 18,6 ммоль/л. У животных отмечали значительную потерю массы тела (с 350 до 260 г), гиподинамию, появление незаживающих ран на хвосте, пожелтение шерсти, истончение волос, полиурию, выраженную полидипсию. Каждое животное потребляло в среднем 209 ± 6 мл воды в сутки, в то время как здоровая крыса выпивает 14 ± 3 мл воды/сут.

Гистологическое исследование образцов ПЖ крысы с уровнем гликемии 18,6 ммоль/л выявило изменения как в экзокринной паренхиме железы, так и в островках Лангерганса по сравнению с морфологической картиной здорового животного (рис. 1, а–в). В паренхиме некоторые дольки претерпевали дистрофические изменения, в отдельных случаях вплоть до некроза. В островках отмечалась инфильтрация клетками воспалительного ряда: в толще островка и

по периметру обнаруживались полиморфно-ядерные лейкоциты и одиночные макрофаги. В центре островка выявляли вакуолизированные и некротизированные инсулоциты, кроме того, изменялась и форма островка (рис. 1, г). Иммуногистохимическое окрашивание антителами к инсулину было негативным, что подтверждало гибель β-клеток (рис. 1, д), в то же время глюкагонпозитивные клетки в островках сохранялись (рис. 1, е). Полученные результаты могут свидетельствовать об эффективности примененной модели индукции СД I.

### 3.2. Жизнеспособность и функциональная активность изолированных островков Лангерганса

Значительная часть свежевыделенных островков имели округлую или овальную форму и в основном сохраняли целостность, что свидетельствовало о том, что в процессе выделения макроструктура островков не была повреждена (рис. 2, а). Дитизон избирательно окрашивал панкреатические островки в красно-

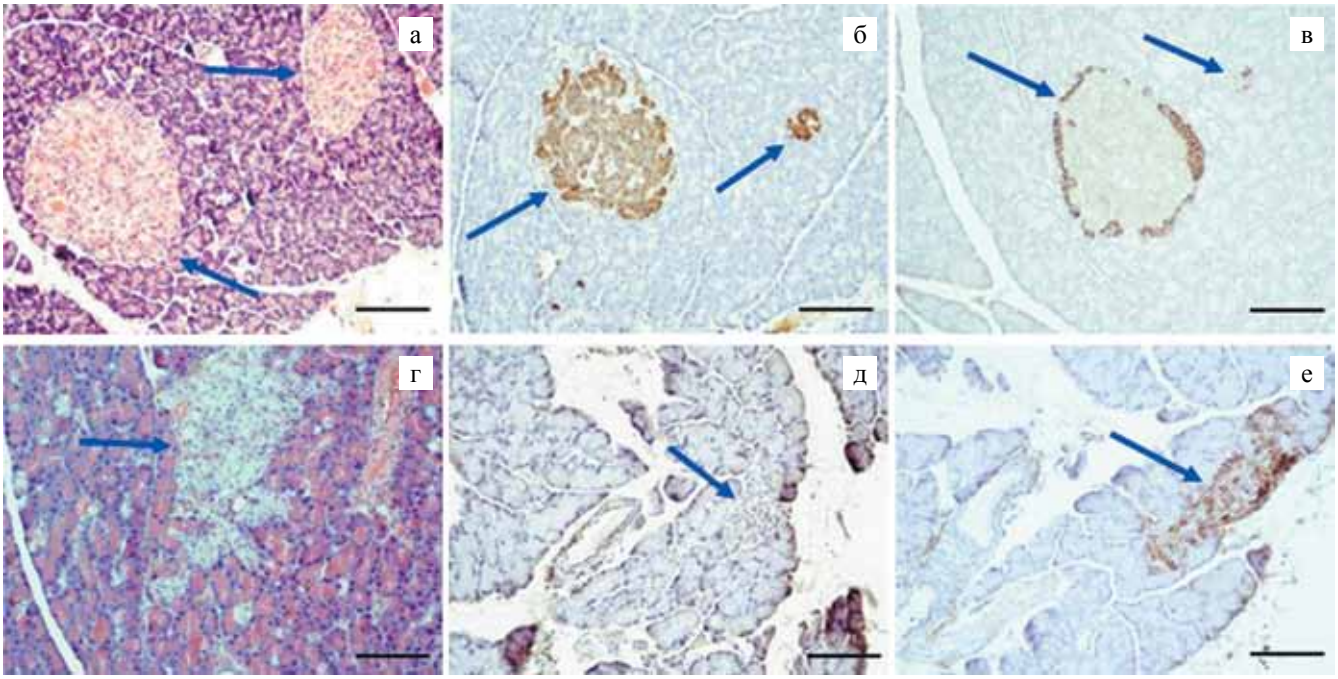


Рис. 1. Поджелудочная железа крысы: а–в – здоровая крыса; г–е – крыса с экспериментальным сахарным диабетом I типа; а, г – гематоксилин и эозин; б, д – иммуногистохимическое окрашивание на инсулин; в, е – иммуногистохимическое окрашивание на глюкагон. Стрелками отмечены островки Лангерганса. Бар 100 мкм

Fig. 1. Rat pancreas: а–в – healthy rat; г–е – rat with experimental T1D; а and г – H&E stain; б and д – insulin immunohistochemical staining; в and е – glucagon immunohistochemical staining. Arrows indicate pancreatic islets. Scale bar = 100 μm

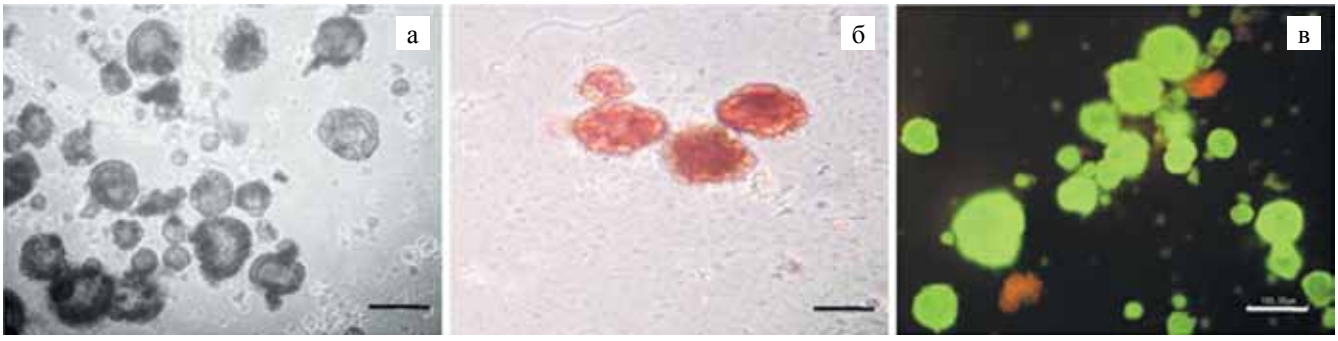


Рис. 2. Изолированные островки Лангерганса крысы: а – световая микроскопия без окрашивания; б – окрашивание дитизоном; в – островки, культивированные 24 часа, флуоресцентное окрашивание акридиновым оранжевым и йодистым пропидием (AO/PI). Бар 100 мкм

Fig. 2. Isolated rat pancreatic islets: а – light microscopy without staining; б – dithizone staining; в – islets cultured for 24 hours, acridine orange/propidium iodide (AO/PI) staining. Scale bar = 100 μm

оранжевый цвет, при этом ацинарные клетки оставались неокрашенными (рис. 2, б).

Через сутки после выделения проводили окрашивание панкреатических островков крысы витальным красителем для определения их жизнеспособности. Было установлено, что более 95% островков остаются жизнеспособными (рис. 2, в).

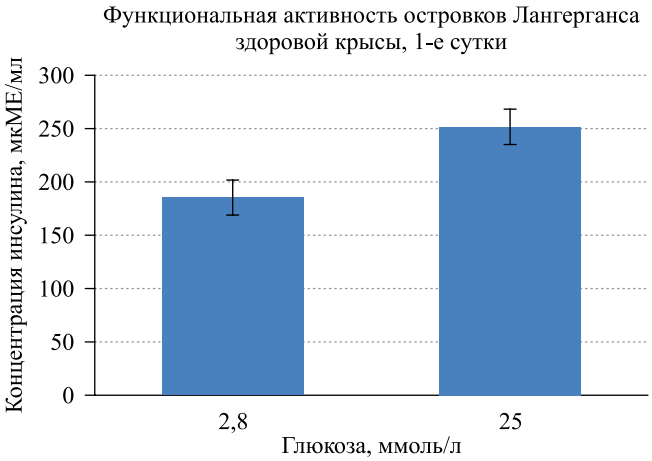


Рис. 3. Сравнительный анализ концентрации инсулина до и после стимуляции глюкозой культивированных 1 сутки изолированных панкреатических островков крысы

Fig. 3. Comparative analysis of insulin levels before and after glucose stimulation of cultured 1-day isolated rat pancreatic islets

Подтверждением функциональной активности (наличия гормонально активных β-клеток) культивированных островков явились результаты анализа проб культуральной жидкости, взятых через 1 сутки инкубации до и после стимуляции «гипергликемическим» уровнем глюкозы – 4,5 г/л (25 ммоль/л) (рис. 3). Показатели концентраций инсулина до и после стимуляции в пробах составили 185,4 ± 16,4 и 251,7 ± 16,6 мкМЕ/мл соответственно, что является увеличением на 35,8%.

### 3.3. Результаты внутрибрюшинного введения клеточно-инженерной конструкции поджелудочной железы и островков Лангерганса

Наблюдение за животными продолжалось 87 суток после первого введения КИК ПЖ крысам № 1 и № 3 и островковой суспензии крысе № 2 (рис. 4, табл. 2). На 24-е сутки эксперимента проводили повторное введение КИК ПЖ и суспензии островков. Крысу № 1 вывели из эксперимента на 65-е сутки для гистологического анализа состояния ПЖ.

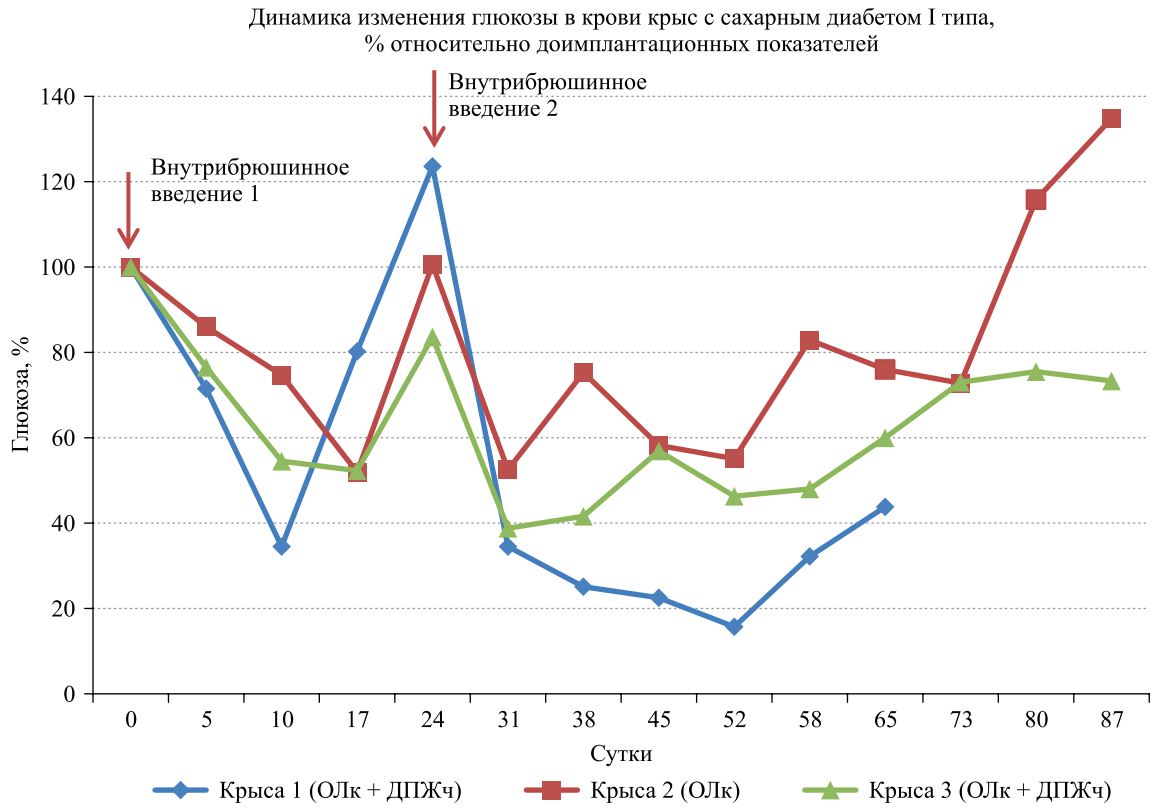


Рис. 4. Изменение уровня глюкозы в крови крыс с моделью сахарного диабета I типа после внутрибрюшинного введения клеточно-инженерной конструкции поджелудочной железы или островковой суспензии. ОЛк – островки Лангерганса крысы, ДПЖч – матрикс из децеллюляризованной поджелудочной железы человека

Fig. 4. Changes in blood glucose levels in rats with T1D model after intraperitoneal injection of cell-engineered pancreatic construct or islet suspension. ОЛк – rat pancreatic islets; ДПЖч – decellularized human pancreas scaffold

На 5-е сутки после внутрибрюшинного введения КИК ПЖ уровень гликемии у крыс № 1 и № 3 снизился на 28,5 и 23,5% от исходных значений соответственно, в то время как у крысы № 2 (введение суспензии островков) – на 13,9%. На 10-е сутки у крысы № 1 уровень гликемии достиг минимального значения 9,2 ммоль/л (снижение на 65,5%). У крысы № 3 минимальное значение глюкозы – 14,7 ммоль/л (снижение на 47,7%) установилось к 17-м суткам наблюдения. У крысы № 2 с 1-х по 10-е сутки достижение минимального уровня гликемии наблюдали (снижение на 48,1%) на 17-е сутки.

На 24-е сутки у всех крыс отмечалось резкое повышение уровня глюкозы, поэтому было принято решение провести повторное введение КИК ПЖ и суспензии островков этим же животным. Через неделю резкое снижение уровня гликемии наблюдали у всех крыс, при этом у крысы № 2 глюкоза снизилась на 47,5%, а у крыс № 1 и № 3 – на 65,5 и 61,2% соответственно.

На протяжении последующих 3 недель у крысы № 1 продолжалось снижение гликемии и к 52-м суткам составило 4,2 ммоль/л, затем происходило постепенное ее повышение. На момент вывода из эксперимента (65 суток) крысы № 1 концентрация глюкозы в крови у нее составляла 11,7 ммоль/л.

У крысы № 3 вплоть до 87 суток отмечали незначительные колебания уровня гликемии с тенденцией к повышению (от 10,9 до 16,9 ммоль/л).

У крысы № 2 наблюдали неустойчивый уровень гликемии до 73 суток, далее произошел возврат к первоначальным значениям глюкозы в крови (выше 20 ммоль/л), а затем превышение на 34,8% относительно исходных значений. К 87-м суткам показатель глюкозы у крысы № 3 был на 62% ниже показателя гликемии у крысы № 2.

После первого внутрибрюшинного введения было отмечено снижение концентрации глюкозы в моче, которое коррелировало с уровнем гликемии в крови всех животных, но к 24-м суткам значение глюкозы в моче резко увеличилось до максимального (табл. 3). При повторном введении у всех крыс наблюдали существенное снижение глюкозы в моче вплоть до 65-х суток, при этом у крысы № 1 в течение 3 недель глюкоза в моче отсутствовала при стабильной нормогликемии в крови (4,2–6,7 ммоль/л). После 65-х суток у крысы № 1 произошел резкий скачок глюкозы в моче при некотором увеличении глюкозы в крови (11,7 ммоль/л), что послужило поводом для вывода животного из эксперимента с целью оценки состояния ПЖ и почек. У крысы № 3 происходило снижение уровня глюкозы в моче до 2,8 ммоль/л, а затем постепенно повышалось. У крысы № 2 также наблюдали снижение уровня глюкозы в моче на короткий срок, после которого происходило повышение значений до 112 ммоль/л к 87-м суткам, что в свою очередь коррелировало с уровнем гликемии в крови.

Оценка содержания кетоновых тел в моче экспериментальных животных позволила выявить снижение кетона с 1,5 до 0,5 ммоль/л у всех трех экспериментальных крыс.

После внутрибрюшинного введения КИК ПЖ или суспензии островков у всех животных наблюдали снижение потребления питьевой воды с 209 ± 16 до 151 ± 11 мл/сут. Отмечена прибавка в массе тела животных на 30–40 г, заживление ран на хвосте, восстановление структуры и окраса волос.

Таблица 2

**Изменение уровня глюкозы в крови экспериментальных животных**

**Changes in blood glucose levels in the experimental animals**

| Сутки | Крыса № 2 (ОЛк), глюкоза в крови, ммоль/л | Крыса № 1 (ОЛк + ДПЖч), глюкоза в крови, ммоль/л | Крыса № 3 (ОЛк + ДПЖч), глюкоза в крови, ммоль/л |
|---|---|---|---|
| 0 (введение 1) | 15,8 | 26,7 | 28,1 |
| 5 | 13,6 | 19,1 | 21,5 |
| 10 | 11,8 | 9,2 | 15,3 |
| 17 | 8,2 | 21,4 | 14,7 |
| 24 (введение 2) | 15,9 | 33,0 | 23,5 |
| 31 | 8,3 | 13,3 | 10,9 |
| 38 | 11,9 | 9,2 | 11,7 |
| 45 | 9,2 | 6,7 | 16,0 |
| 52 | 8,7 | 6,0 | 13,0 |
| 58 | 13,1 | 4,2 | 13,5 |
| 65 | 12,0 | 8,6 | 16,9 |
| 73 | 11,5 | 11,7 | 25 |
| 80 | 18,3 | – | 21,2 |
| 87 | 21,3 | – | 20,6 |

Морфологический анализ образцов ПЖ и почек не выявил отличий в органах трех экспериментальных животных. В ПЖ, как непосредственно в островках, так и в паренхиме железы в целом, иммунопозитивные β-клетки не были обнаружены (рис. 5, а), что свидетельствовало об отсутствии реге-

Таблица 3

**Изменение уровня глюкозы в моче экспериментальных животных**

**Changes in urine glucose levels in the experimental animals**

| Сутки | Крыса № 2 (ОЛк), глюкоза в моче, ммоль/л | Крыса № 1 (ОЛк + ДПЖч), глюкоза в моче, ммоль/л | Крыса № 3 (ОЛк + ДПЖч), глюкоза в моче, ммоль/л |
|---|---|---|---|
| 0 (введение 1) | 14–28 | 14–28 | 28–56 |
| 5 | 14 | 14 | 28 |
| 10 | 14–28 | 5,6 | 14 |
| 17 | 14–28 | 2,8–5,6 | 2,8 |
| 24 (введение 2) | 56–112 | 112 | 56–112 |
| 31 | 2,8–5,6 | 5,6–14 | 2,8–5,6 |
| 38 | 2,8–5,6 | 5,6–14 | 2,8 |
| 45 | 14 | 0 | 14–28 |
| 52 | 5,6–14 | 0–2,8 | 14–28 |
| 58 | 14–28 | 0–2,8 | 14 |
| 65 | 14–28 | 112 | 5,6–14 |
| 73 | 28 | – | 14–28 |
| 80 | 14–56 | – | 28 |
| 87 | 56–112 | – | 28–56 |

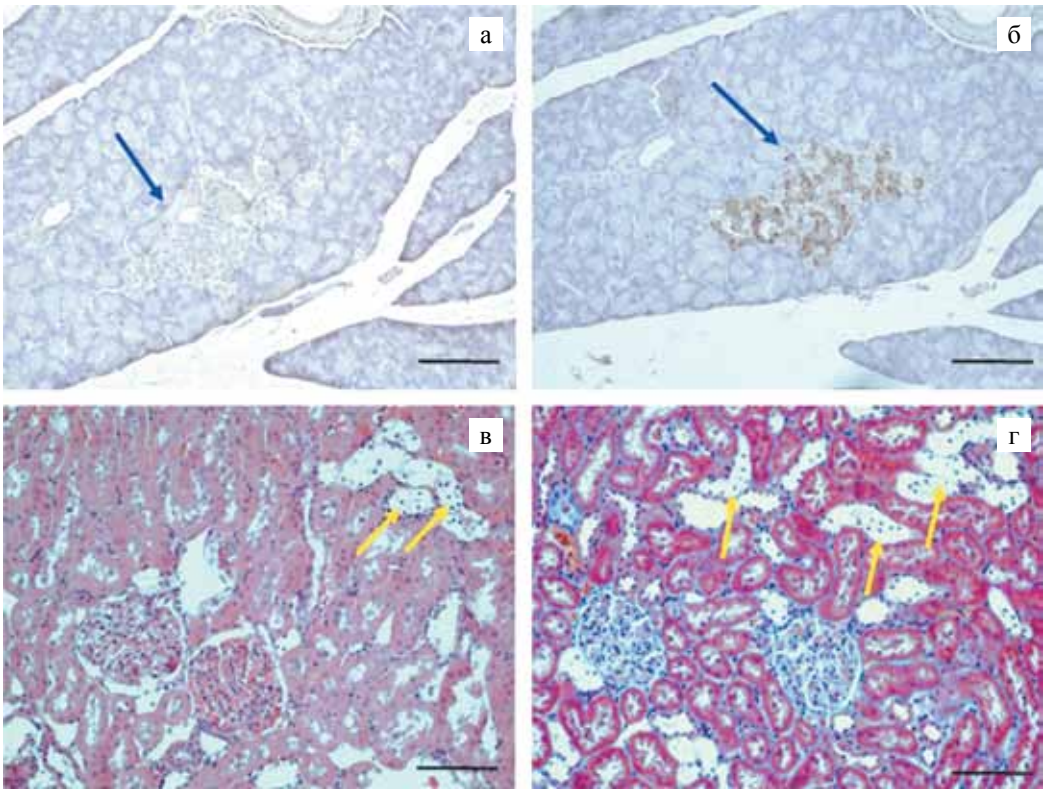


Рис. 5. Поджелудочная железа (а, б) и почка (в, г) экспериментальных крыс: а – отсутствие инсулинпозитивных β-клеток в островке; б – глюкагонпозитивные α-клетки в островке; в – гематоксилин и эозин; г – окрашивание по методу Массона. Синими стрелками отмечены островки Лангерганса, желтыми – клетки Armanni–Ebstein в эпителии канальцев. Бар 100 мкм

Fig. 5. Pancreas (а, б) and kidney (в, г) of experimental rats: a – no insulin positive beta cells in the islet; б – glucagon positive alpha cells in the islet; в – H&E stain; г – Masson's trichrome stain. Blue arrows indicate islets of Langerhans, yellow arrows indicate Armanni–Ebstein cells in tubular epithelium. Scale bar = 100 μm

нативных процессов и индукционного воздействия трансплантированных островков на прогениторные клетки-предшественники. При этом глюкагонпозитивные α-клетки в островках отчетливо определялись (рис. 5, б). В гистологических препаратах почки выраженных дегенеративных изменений сосудисто-клубочкового аппарата не отмечалось. В то же время в эпителии канальцев выявлялись многочисленные вакуолизированные клетки. Мы полагаем, что это так называемые клетки Armanni–Ebstein, которые считаются патогномоничными при сахарном диабете (рис. 5, в, г).

В технологиях тканевой инженерии и регенеративной медицины можно выделить два механизма действия КИК *in vivo*, которые лежат в основе двух подходов к лечению патологических состояний органов [34]:

– стимулирование внутренней (физиологической) регенерации поврежденных тканевых структур;
– частичная или полная временная замена функций поврежденных тканевых структур.

Это относится и к КИК ПЖ, в которой тканеспецифический матрикс обеспечивает панкреатическим островкам более длительное выживание и эффективное функционирование *in vivo*.

Анализ полученных результатов позволяет предположить, что снижение гликемического уровня происходит не в результате стимулирования процессов регенерации (восстановления) β-клеток в собственных островках, а вследствие функциональной эффективности аллогенных островков. При этом при внутрибрюшинном введении КИК ПЖ достигается более выраженный антидиабетический эффект у крыс с СД I по сравнению с внутрибрюшинным введением суспензии островков.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Из предварительных результатов, полученных в экспериментальной модели СД I, можно предположить, что при внутрибрюшинном введении КИК ПЖ (ксеногенный тканеспецифический матрикс в сочетании с аллогенными островками Лангерганса) происходит значительно большее снижение концентрации глюкозы в крови крыс по сравнению с суспензией островков. Повторное внутрибрюшинное введение КИК ПЖ и островковой суспензии увеличивает длительность стабильного уровня гликемии, но, вероятно, не индуцирует процессы восстановительной регенерации островковой ткани ПЖ.

Следует отметить, что, во-первых, для подтверждения или опровержения полученных результатов требуется проведение экспериментов на достаточной для получения статистически достоверных результатов выборке животных. Во-вторых, механизм гипогликемического действия аллогенных островков может зависеть от места локализации КИК ПЖ и островковой суспензии. Кроме внутрибрюшинного введения необходимо исследовать в экспериментальной модели СД I функциональное действие островков при их трансплантации в виде суспензии или имплантации в составе КИК, например в селезенку, брыжейку, сальник или под капсулу почки.

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Fiorina P, Shapiro AM, Ricordi C, Secchi A.* The clinical impact of islet transplantation. *Am J Transplant*. 2008; 8: 1990–1997.
2. *Shapiro AM, Lakey RT, 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 (4): 230–238. doi: 10.1056/NEJM200007273430401.
3. *Hering BJ, Clarke WR, Bridges ND, Eggerman TL, Alejandro R, Bellin MD et al.* Phase 3 trial of transplantation of human islets in type 1 diabetes complicated by severe hypoglycemia. *Diabetes Care*. 2016; 39 (7): 1230–1240. doi: 10.2337/dc15-1988.
4. *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 (7): 1436–1445. https://doi.org/10.2337/dc12-0063.
5. *Ryan EA, Paty BW, Senior PA, Bigam D, Alfadhli E, Kneteman NM et al*. Five-year follow-up after clinical islet transplantation. *Diabetes*. 2005; 54: 2060–2069. https://doi.org/10.2337/diabetes.54.7.2060.
6. *Gerber PA, Lehmann R.* Islet transplantation in type I diabetes mellitus. *Diabetologe*. 2015; 11 (7): 545–552.
7. *Vantyghem MC, de Koning EJP, Pattou F, Rickels MR*. Advances in beta-cell replacement therapy for the treatment of type 1 diabetes. *Lancet*. 2019; 394 (10205): 1274–1285.
8. *Eguchi N, Damyar K, Alexander M, Dafoe D, Lakey JRT, Ichii H.* Anti-Oxidative Therapy in Islet Cell Transplantation. *Antioxidants*. 2022; 11: 1038. https://doi.org/10.3390/antiox11061038.
9. *Korsgren O, Nilsson B, Berne C, Felldin M, Foss A, Kallen R et al.* Current status of clinical islet transplantation. *Transplantation*. 2005; 79: 1289–1293. doi: 10.1097/01.tp.0000157273.60147.7c.
10. *Shapiro AM, Gallant HL, Hao EG, Lakey JR, McCready T, Rajotte RV et al.* The portal immunosuppressive storm: relevance to islet transplantation. *Ther Drug Monit*. 2005; 27 (1): 35–37. doi: 10.1097/00007691-200502000-00008.
11. *Bennet W, Sundberg B, Groth CG, Brendel MD, Brandhorst D, Brandhorst H et al.* Incompatibility between human blood and isolated islets of Langerhans: a finding with implications for clinical intraportal islet transplantation? *Diabetes*. 1999; 48 (10): 1907–1914. doi: 10.2337/diabetes.48.10.1907.

12. *Kumar N, Joisher H, Ganguly A*. Polymeric scaffolds for pancreatic tissue engineering: a review. *Rev Diabet Stud*. 2018; 14 (4): 334–353.
13. *Riopel M, Wang K.* Collagen matrix support of pancreatic islet survival and function. *Frontiers in Bioscience*. 2014; 19: 77–90. doi: 10.2741/4196.
14. *Lemos NE, de Almeida Brondani L, Dieter C, Rheinheimer J, Bouças AP, Bauermann Leitão C et al*. Use of additives, scaffolds and extracellular matrix components for improvement of human pancreatic islet outcomes in vitro: A systematic review. *Islets*. 2017; 9 (5): 73–86. doi: 10.1080/19382014.2017.1335842.
15. *Salvatori M, Katari R, Patel T, Peloso A, Mugweru J, Owusu K, Orlando G.* Extracellular matrix scaffold technology for bioartificial pancreas engineering: state of the art and future challenges. *J Diab Sci Technol*. 2014; 8 (1): 159–169. doi: 10.1177/1932296813519558.
16. *Gazia C, Gaffley M, Asthana A*. Scaffolds for pancreatic tissue engineering. *Handbook of Tissue Engineering Scaffolds: Volume Two*. 2019; 765–786. doi: 10.1016/B978-0-08-102561-1.00032-4.
17. *Fisher SA, Tam RY, Shoichet MS.* Tissue mimetics: engineered hydrogel matrices provide biomimetic environments for cell growth. *Tissue Engineering*. 2014; 20 (5–6): 895–898. doi: 10.1089/ten.tea.2013.0765.
18. *Coronel M, Stabler C.* Engineering a local microenvironment for pancreatic islet replacement. *Curr Opin Biotechnol*. 2013; 24 (5): 900–908. doi: 10.1016/j.copbio.2013.05.004.
19. *Buitinga M, Assen F, Hanegraff M.* Micro-fabricated scaffolds lead to efficient remission of diabetes in mice. *Biomaterials*. 2017; 135: 10–22.
20. *Abualhassan N, Sapozhnikov L, Pawlick RL, Kahana M, Pepper AR, Bruni A et al.* Lung-derived microscaffolds facilitate diabetes reversal after mouse and human intraperitoneal islet transplantation. *PLoS One*. 2016; 11 (5): e0156053. doi: 10.1371/journal.pone.0156053.
21. *Szebeni GJ, Tancos Z, Feher LZ, Alfoldi R, Kobolak J, Dinnyes A, Puskas LG*. Real architecture for 3D Tissue (RAFT) culture system improves viability and maintains insulin and glucagon production of mouse pancreatic islet cells. *Cytotechnology*. 2017; 69 (2): 359–369. doi: 10.1007/s10616-017-0067-6.
22. *Amer LD, Mahoney MJ, Bryant SJ.* Tissue engineering approaches to cell-based type 1 diabetes therapy. *Tissue engineering*. 2014; 20 (5): 455–467.
23. *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.
24. *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.
25. *Rana D, Zreigat H, Benkirane-Jessel N, Ramakrishna S, Ramalingam M.* Development of decellularized scaffolds for stem cell-driven tissue engineering. *J Tissue Eng Regen Med*. 2017; 11 (4): 942–965. doi: 10.1002/term.2061.
26. *Shirakigawa N, Ijima H.* Decellularized tissue engineering. *Advances in Biomaterials for Biomedical Applications. Springer Nature Singapore Pte Ltd*. 2017; 66: 185–226. doi: 10.1007/978-981-10-3328-5_5.
27. *Sevastianov VI, Basok YuB, Grigoriev AM, Nemets EA, Kirillova AD, Kirsanova LA et al.* Decellularization of cartilage microparticles: Effects of temperature, supercritical carbon dioxide and ultrasound on biochemical, mechanical, and biological properties. *J Biomed Mater Res A*. 2023; 111 (4): 543–555. doi: 10.1002/jbm.a.37474.
28. *Sevastianov VI, Ponomareva AS, Baranova NV, Kirsanova LA, Basok YuB, Nemets EA et al*. Decellularization of Human Pancreatic Fragments with Pronounced Signs of Structural Changes. *Int J Mol Sci*. 2023; 24: 119. https://doi.org/10.3390/ijms24010119.
29. *Mirmalek-Sani SH, Orlando G, McQuilling JP, Pareta R, Mack DL, Salvatori M et al.* Porcine pancreas extracellular matrix as a platform endocrine pancreas bioengineering. *Biomaterials*. 2013; 34 (22): 5488–5495. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.03.054.
30. *Wu D, Wan J, Huang Y, Guo Y, Xu T, Zhu M et al.* 3D culture of MIN-6 cells on decellularized pancreatic scaffold: in vitro and in vivo study. *Biomed Res Int*. 2015; 2015: 432645. doi: 10.1155/2015/432645.
31. *Sevastianov VI, Baranova NV, Kirsanova LA Ponomareva AS, Basok YuB, Nemets EA, Gautier SV.* Comparative analysis of the influence of extracellular matrix biomimetics on the viability and insulin-producing function of isolated pancreatic islets. *J Gene Engg Bio Res*. 2021; 3 (2): 17–25. doi: 10.33140/igerb.03.02.02.
32. *Karaoz E, Genç ZS, Demircan PÇ, Aksoy A, Duruksu G.* Protection of rat pancreatic islet function and viability by coculture with rat bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Cell Death Dis*. 2010; 1: e36. doi: 10.1038/cddis.2010.14.
33. *Великий ДА, Закирьянов АР, Клименко ЕД, Онищенко НА, Поздняков ОМ*. Патент на изобретение «Способ моделирования сахарного диабета I типа у крыс» от 27.09.2010. *Velikiy DA, Zakir'yanov AR, Klimenko ED, Onishchenko NA, Pozdnyakov OM*. Patent na izobretenie «Sposob modelirovaniya sakharnogo diabeta I tipa u krys» ot 27.09.2010.
34. *Севастьянов ВИ.* Технологии тканевой инженерии и регенеративной медицины. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2014; 16 (3): 93–108. *Sevastianov VI.* Technologies of tissue engineering and regenerative medicine. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2014; 16 (3): 93–108. doi: 10.15825/1995-1191-2014-3-93-108.

*Статья поступила в редакцию 10.04.2023 г.*
*The article was submitted to the journal on 10.04.2023*

DOI: 10.15825/1995-1191-2023-2-118-128

# ВЛИЯНИЕ БЕЛКОВО-ПЕПТИДНОГО БИОРЕГУЛЯТОРА СКЛЕРЫ, ВКЛЮЧЕННОГО В АЛЬБУМИНОВЫЙ КРИОГЕЛЬ, НА СОСТОЯНИЕ СКЛЕРАЛЬНОЙ ОБОЛОЧКИ ПРИ МОДЕЛЬНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ ЗАДНЕГО ОТДЕЛА ГЛАЗА

*О.В. Ямскова[1], М.С. Краснов[1], Е.В. Сидорский[1, 2], В.И. Лозинский[1]*

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

[2] Институт проблем биорегуляции, Москва, Российская Федерация

Задача доставки биологически активных веществ в определенные положения в организме человека и животного является актуальной в настоящее время, для ее решения авторами настоящей публикации был разработан носитель биологически активных веществ с замедленным высвобождением вещества, представляющий собой альбуминовый криогель, полученный методом криоструктурирования, и проведено его тестирование на модели огранного культивирования заднего отдела глаза тритона. **Цель работы** – изучение эффективности пористого криогеля, полученного путем криоструктурирования из альбумина и нагруженного биорегулятором из склеры глаза быка в различных количествах, в поддержании целостности тканей глаза и сохранности фибробластов тритонов *Pleurodeles waltl* на модели органного культивирования. **Материалы и методы.** Альбуминовые губки получали в присутствии денатурирующего агента при температурах –15, –17,5 и –20 °С, концентрациях альбумина 40, 50 и 60 мг/мл в криостате и определяли их модуль упругости. Ткани глаз изолировали у взрослых половозрелых тритонов *Pleurodeles waltl* обоего пола, задний сектор каждого глаза помещали на губчатый образец альбуминового криогеля в пенициллиновые флаконы, закрывали и ставили в термостат. По окончании культивирования образцы фиксировали, промывали, обезвоживали, заливали в парафин и делали парафиновые срезы с последующим окрашиванием. Для просмотра гистологических срезов использовали микроскоп Leica (Германия) с фотокамерой Olympus DP70 (Япония). Оценку количества фибробластов на гистологических срезах осуществляли по программе ImageJ. **Результаты.** Для эксперимента органного культивирования был выбран криогель с концентрацией исходного раствора альбумина 50 мг/мл, полученный при температуре –20 °С с модулем упругости 4,50 кПа. Согласно результатам гистологических исследований, целостность тканей глаза поддерживается в эксперименте при нагрузке альбуминовой подложки биорегулятором в дозах $2{,}46 \times 10^{-5}$, $2{,}46 \times 10^{-7}$, $2{,}46 \times 10^{-9}$, $2{,}46 \times 10^{-13}$, $2{,}46 \times 10^{-15}$ мкг, причем статистически значимая разница для данных по количеству фибробластов на единицу площади в склере частично коррелирует с качественным состоянием самих тканей заднего отдела глаза, наилучший результат по сравнению с контролем показали группы, где доза биорегулятора из склеры составила $2{,}46 \times 10^{-7}$, $2{,}46 \times 10^{-9}$ и $2{,}46 \times 10^{-15}$ мкг. **Выводы.** Полученные результаты свидетельствуют об эффективности альбуминовой подложки в качестве носителя с сорбированным на ней биорегулятором (дозы $2{,}46 \times 10^{-5}$, $2{,}46 \times 10^{-7}$, $2{,}46 \times 10^{-9}$, $2{,}46 \times 10^{-13}$, $2{,}46 \times 10^{-15}$ мкг) в поддержании целостности тканей глаза и сохранности фибробластов тритонов *Pleurodeles waltl*, и показывают эффективность применения альбуминового криогеля в качестве носителя для замедленного высвобождения биологически активных веществ.

*Ключевые слова: системы адресной доставки биологически активных веществ, альбуминовый криогель, модуль упругости, органное культивирование, биорегулятор, протекторные свойства.*

**Для корреспонденции:** Краснов Михаил Сергеевич. Адрес: 119991, Москва, ул. Вавилова, 28. Тел. (499) 135-64-92. E-mail: embrmsk@mail.ru

**Corresponding author:** Mikhail Krasnov. Address: 28, Vavilova str., Moscow, 119991, Russian Federation. Phone: (499) 135-64-92. E-mail: embrmsk@mail.ru

# INFLUENCE OF PROTEIN-PEPTIDE BIOREGULATOR ISOLATED FROM BOVINE SCLERA AND INCORPORATED INTO AN ALBUMIN-BASED CRYOGEL ON THE SCLERA IN A MODEL CULTIVATION OF A POSTERIOR EYE SEGMENT

*O.V. Yamskova[1], M.S. Krasnov[1], E.V. Sidorsky[1, 2], V.I. Lozinsky[1]*

[1] Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds, Moscow, Russian Federation
[2] Institute for Biomedical Problems, Moscow, Russian Federation

Delivering bioactive substances to certain spots in the human and animal body is a crucial task. To address this problem, we have developed a delayed-release bioactive substance carrier – an albumin-based cryogel obtained by cryostructuring. It was tested on an organotypic culture model of the posterior eye segment of a newt. **Objective:** to study the effectiveness of porous albumin-based cryogel obtained by cryostructuring and loaded with a bioregulator isolated from bovine sclera in different quantities in maintaining eye tissue integrity and preserving Iberian ribbed newt fibroblasts on an organotypic culture model. **Materials and methods.** Albumin sponges were obtained after being denatured at temperatures –15 °C, –17.5 °C, and –20 °C, with albumin levels 40 mg/mL, 50 mg/mL, and 60 mg/mL in a thermostatic cooler. Their modulus of elasticity was measured. Eye tissues were isolated from adult sexually mature Iberian ribbed newts of both sexes. The posterior segment of each eye was placed on a sponge sample of albumin cryogel in penicillin vials, sealed and placed in a thermostat. At the end of cultivation, the samples were fixed, washed, dehydrated, and embedded in paraffin. Paraffin sections were made, followed by staining. A Leica microscope (Germany) with an Olympus DP70 camera (Japan) was used to view histological sections. Fibroblast count in the histological sections was estimated using the ImageJ program. **Results.** Cryogel with initial albumin solution levels of 50 mg/mL obtained at –20 °C with 4.50 kPa elastic modulus, was chosen for the organ culture experiment. Histological studies showed that eye tissue integrity was maintained in the experiment when albumin-based scaffold was loaded with the bioregulator at doses of $2.46 \times 10^{-5}$, $2.46 \times 10^{-7}$, $2.46 \times 10^{-9}$, $2.46 \times 10^{-13}$, $2.46 \times 10^{-15}$ μg. Moreover, the statistically significant difference for fibroblast count per unit area in the sclera partially correlates with the qualitative state of the posterior eye tissue itself. Groups where bioregulator isolated from the sclera had a dose of $2.46 \times 10^{-7}$, $2.46 \times 10^{-9}$ and $2.46 \times 10^{-15}$ μg, showed the best result as compared with the control group. **Conclusion.** Albumin-based scaffold as a carrier with a bioregulator adsorbed on it (doses of $2.46 \times 10^{-5}$, $2.46 \times 10^{-7}$, $2.46 \times 10^{-9}$, $2.46 \times 10^{-13}$, $2.46 \times 10^{-15}$ μg) is effective in maintaining eye tissue integrity and preserving Iberian ribbed newt fibroblasts. Albumin cryogen is an effective carrier for delayed release of bioactive substances.

*Keywords: targeted drug-delivery systems, albumin cryogel, elastic modulus, organ culturing, bioregulator, protective properties.*

## ВВЕДЕНИЕ

Задачи адресной доставки биологически активных веществ (БАВ) в определенные органы и ткани организма человека или животного в настоящее время являются весьма актуальными [1–3]. Такие системы доставки наиболее часто состоят из двух основных компонентов – собственно БАВ и носителя, обеспечивающего транспорт и высвобождение действующего начала в зоне соответствующей мишени [4]. Подобные носители используются в различных формах, например, в виде наночастиц и наноконтейнеров, липосом, полимерных мицелл, гелей и др. [5]. В последние годы все большую популярность среди носителей БАВ приобретают различные биоразлагаемые губки, особенно на основе таких полимеров природного происхождения, как белки и полисахариды [6–12]. Важным достоинством подобных носителей является их хорошая биосовместимость, низкая иммуногенность и нетоксичность как самих губок, так и продуктов их резорбции или деградации при гидролизе в организме реципиентов. В частности, эффективными носителями и низкомолекулярных, и высокомолекулярных БАВ оказались губки на основе денатурированного сывороточного альбумина [13–15]. Эти биополимерные материалы были получены методом так называемого криоструктурирования [16–18], позволяющего формировать макропористые и сверхмакропористые (губчатые) полимерные матрицы при неглубоком замораживании растворов соответствующих предшественников, когда поликристаллы замерзшего растворителя действуют как порообразователи [16, 19, 20]. К достоинствам именно таких альбуминовых губок относится возможность простыми приемами варьировать их размер, форму, пористость и упругость, а также дозу БАВ, которыми носитель нагружен для достижения необходимого терапевтического результата лечения.

Например, было продемонстрировано, что одним из перспективных вариантов биомедицинского применения данных криогенно-структурированных альбуминовых губок является их использование в качестве 3D-носителей для тканеспецифичных белково-пептидных биорегуляторов, активирующих процессы репарации [15, 21–23]. В настоящей работе мы использовали биорегулятор, выделенный из склеры глаза быка, поскольку указанный пептидно-белковый комплекс, добавленный в среду культивирования, обладает, как было показано ранее, протекторным эффектом на состояние тканей заднего отдела глаза [24]. Пептидно-белковый комплекс, выделенный из склеры, состоит из пептидов с молекулярными массами 1054–5080 Да, а также из бычьего сывороточного альбумина с молекулярной массой 66 385 Да. Биологической активностью обладает именно сам комплекс пептидов и указанного белка, поскольку отдельные его компоненты не показали выраженных эффектов на поддержание жизнеспособности клеток и тканей заднего отдела глаза при культивировании [24]. При этом особое внимание теперь было уделено влиянию количества (дозы) такого биорегулятора, включенного в альбуминовую губку, на протекторную активность, проявляемую данной системой доставки БАВ, что и являлось целью этого исследования.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Получение криогенно-структурированных альбуминовых носителей

Синтез альбуминовых губок проводили по модифицированной известной методике [25]. Бычий сывороточный альбумин (99%) (ДИА-М, Москва, РФ) растворяли в рассчитанном объеме воды, куда затем вносили мочевину (о. с. ч.) (РЕАХИМ, Москва, РФ), помещали раствор в ледяную баню и добавляли необходимый объем водного раствора L-цистеина (ultra grade) (Fluka, Швейцария). Концентрации компонентов в приготовленных таким образом реакционных растворах были следующими: альбумин – 40, или 50, или 60 мг/мл; мочевина – 1,5 моль/л; цистеин – 0,01 моль/л. Такие растворы порциями в 1,5 мл вносили в стеклянные флаконы (внутренний диаметр 22 мм) либо порциями по 3 мл в ячейки пластикового 24-луночного планшета. Растворы замораживали в течение 24 ч в камере программируемого ультракриостата Proline 1840 (Lauda, Германия): образцы во флаконах – при –20 °С, образцы в планшете – или при –15, или –17,5, или –20 °С, а затем оттаивали при комнатной температуре. Получившиеся в результате губчатые альбуминовые криогели исчерпывающе промывали простерилизованной водой от растворимых веществ и до дальнейшего использования хранили в закрытой таре при 4–6 °С.

### Определение модуля упругости альбуминовых губок

Измерения модуля упругости набухших в воде альбуминовых губок проводили на цилиндрических образцах диаметром 16 мм и высотой 20 мм. Такие измерения были выполнены в соответствии с методикой, ранее применявшейся для случая мягких губчатых криогелей [26]. Набухшую альбуминовую губку помещали в наполненный водой стеклянный стакан, чтобы компенсировать капиллярные силы при выдавливании жидкости из сообщающихся макропор при одноосном сжатии цилиндрического образца. Для минимизации выталкивающей архимедовой силы использовался пуансон «тарельчатого» типа диаметром 10 мм и толщиной 2 мм, подсоединенный к держателю автоматического анализатора текстуры а TA-Plus (Lloyd Instruments, Великобритания). Сжатие выполняли со скоростью 0,3 мм/мин до деформации 50%, а значение компрессионного модуля упругости ($E$) определяли с помощью программного обеспечения прибора. Выборка для определения модуля упругости включала 6–8 образцов на точку. Усреднение полученных величин проводили в программе Excel 2010. Также количественные данные были проанализированы с помощью программного пакета SPSS 26.0 (IBM, США). Значения модуля упругости, имеющие распределение, отличное от нормального, представлены в виде медианы (Me) и 25% (Q1) и 75% (Q3) процентилей. Статистическую значимость различий между двумя независимыми группами оценивали с помощью U-критерия Манна–Уитни. При сравнении трех и более независимых групп использовали непараметрический дисперсионный анализ Краскела–Уоллиса с поправкой Данна для апостериорного анализа. Достоверными считали различия при уровне значимости $p < 0,05$.

### Включение белково-пептидного биорегулятора в альбуминовую губку

Биорегулятор из ткани склеры глаза быка был выделен согласно ранее описанной методике [27]. На основе полученного раствора с концентрацией биорегулятора 0,3 мг/мл с помощью последовательных десятикратных разбавлений готовили рабочие растворы с целевыми концентрациями от $3 \times 10^{-4}$ до $3 \times 10^{-20}$ мг/мл. Для включения биорегулятора в альбуминовый носитель набухшую в воде губку, сформированную в стеклянном флаконе, помещали на стеклянный фильтр и в течение 3 мин под вакуумом водоструйного насоса удаляли свободную жидкость, после чего «отжатый» таким образом материал помещали в водный раствор с известной концентрацией биорегулятора, где губка быстро набухала. Образец инкубировали в течение 4 ч при 4–6 °С, а затем замораживали при –20 °С и высушивали лиофильно

с помощью сублимационной установки FreeZone[1] (Labconco, США).

Масса (доза в микрограммах) биорегулятора, включенная в губчатый носитель, рассчитывалась в соответствии с концентрацией биорегулятора и объемом жидкости, поглощенной губкой при набухании. Образцы сравнения (2 группы) – губки, которые инкубировали в воде без добавок.

### Исследование активности нагруженного биорегулятором губчатого альбуминового носителя на модели органного культивирования заднего отдела глаза

Исследования проводили на препаратах глаз взрослых половозрелых тритонов *Pleurodeles waltl* обоего пола, взятых из аквариальной Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН (Россия). В каждом эксперименте использовали не менее 17 животных (34 глаза). Тритоны были наркотизированы в 2% растворе этилуретана в физиологическом растворе для амфибий (0,65% NaCl). После наркотизации головы животных ополаскивали 70% этиловым спиртом и проводили энуклеацию глаз при стандартном лабораторном освещении. Изолированные глаза помещали в стерильные 35-мм чашки Петри с питательной средой для амфибий (среда 199 – 70%, вода дистиллированная – 30%) [28]. Среда для культивирования тканей глаза содержала: 350 мл среды 199, 150 мл бидистиллированной воды, 0,15 мл 1,0 М буфера HEPES и 1 мл 1% гентамицина. Перед внесением во флаконы среду стерилизовали холодным способом, пропуская через мембранные фильтры типа «СА» («Nalgene», США) с размером пор 0,2 мкм. Под бинокулярной линзой изолировали ткани глаз в следующей последовательности: освобождали глаза от кожных покровов, затем разрезали по окружности, проксимальнее лимба. Ростовую область сетчатки вместе с радужкой, роговицей и хрусталиком отбрасывали. Задний сектор каждого глаза, в состав которого входили сетчатка, пигментный эпителий, сосудистая оболочка и склера, использовали для последующего культивирования.

Экспериментальные образцы были разделены на 11 групп при культивировании заднего отдела глаза:

1. Контроль – на дне стеклянного флакона в отсутствие альбуминового носителя.
2. Контроль – на альбуминовом носителе без биорегулятора.
3. На альбуминовой губке, нагруженной 2,46 × $10^{-1}$ мкг биорегулятора.
4. На альбуминовой губке, нагруженной 2,46 × $10^{-3}$ мкг биорегулятора.
5. На альбуминовой губке, нагруженной 2,46 × $10^{-5}$ мкг биорегулятора.
6. На альбуминовой губке, нагруженной 2,46 × $10^{-7}$ мкг биорегулятора.
7. На альбуминовой губке, нагруженной 2,46 × $10^{-9}$ мкг биорегулятора.
8. На альбуминовой губке, нагруженной 2,46 × $10^{-11}$ мкг биорегулятора.
9. На альбуминовой губке, нагруженной 2,46 × $10^{-13}$ мкг биорегулятора.
10. На альбуминовой губке, нагруженной 2,46 × $10^{-15}$ мкг биорегулятора.
11. На альбуминовой губке, нагруженной 2,46 × $10^{-17}$ мкг биорегулятора.

В опытных экспериментальных группах (3–11) задний отдел глаза тритона помещали на нагруженный биорегулятором в соответствующей концентрации губчатый образец, находящийся в пенициллиновом флаконе, промытом стерильной культуральной средой и затем заполненный бессывороточной средой (среда 199 без добавления сыворотки). Все флаконы закрывали стерильными крышками, затем пленкой ParafilmM (США) и помещали в термостат. Культивирование проводили стационарно в темноте при 20–22 °С в течение 72 ч без смены культуральной среды.

Изучение состояния эксплантатов после культивирования проводили на сериях парафиновых срезов. Ткани глаза фиксировали в растворе Буэна, после фиксации в течение 12 ч трижды отмывали 70% этанолом, далее обезвоживали и заливали в парафин. Делали парафиновые срезы толщиной 7 мкм, используя микротом ERM 4000 (Hestion, Австралия), которые после депарафинирования и гидратирования окрашивали гематоксилином, эозином и заключали под покровное стекло с добавлением адгезирующей жидкости. Для просмотра гистологических срезов использовали микроскоп Leica (Германия) с фотокамерой Olympus DP70 (Япония). Оценку количества фибробластов на гистологических срезах осуществляли по программе ImageJ, оценивая количество фибробластов склеры на 1 мм$^2$ ткани. Для каждой экспериментальной точки было исследовано не менее 50 срезов. Полученные результаты обрабатывали по критерию Манна–Уитни и критерию Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### Получение губчатых альбуминовых носителей и их физико-механические свойства

Физико-механические характеристики носителей БАВ важны с точки зрения эксплуатационных свойств систем доставки, поскольку во многом определяют операционные возможности соответствующих препаратов, особенно в условиях их применения *in vivo*. Так как полученные в данной работе криогенно-структурированные альбуминовые губки далее

тестировались в качестве носителей пептидно-белкового биорегулятора в модельных экспериментах по культивированию заднего отдела глаза, когда губка находилась в гидратированном состоянии, то важно было оценить механические показатели носителя в применяемых условиях, т. е. в водной среде. При этом мы еще проварьировали концентрацию альбумина в использованных для получения губчатых носителей исходных растворах, а также температуру криогенной обработки этих растворов, что, как известно [16, 19, 20], влияет на пористую морфологию полимерных криогелей.

Измерения значений компрессионного модуля упругости полученных губчатых материалов проводились с помощью автоматического текстурометра (см. Экспериментальную часть) с использованием пуансона «тарельчатого» типа (рис. 1), а результаты этих измерений суммированы в таблице.

Полученные результаты наглядно свидетельствуют, что повышение концентрации белка в исходных растворах приводило к формированию, по крайней

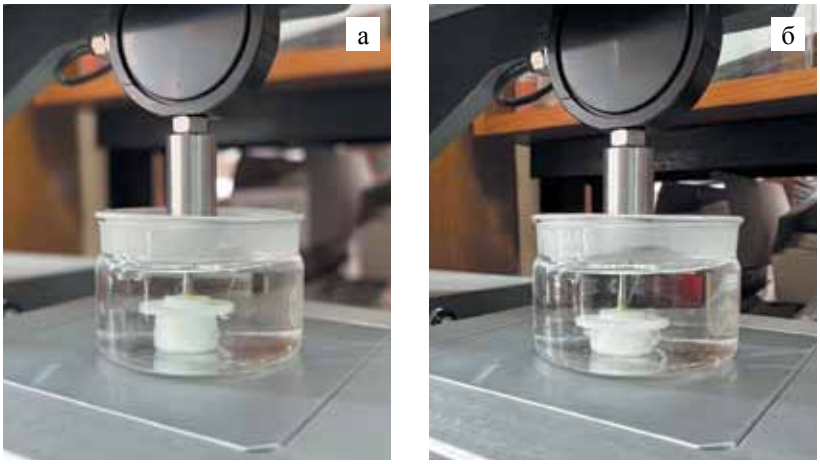


Рис. 1. Фотографии образца набухшей в воде криогенно-структурированной альбуминовой губки: а – до начала действия компрессионной нагрузки; б – во время деформации при действии приложенной нагрузки

Fig. 1. Photographs of a sample of water-swollen cryo-structured albumin sponge: a – before the onset of the effect of compression load; б – during deformation under the applied load

Таблица

**Значения компрессионного модуля упругости (*E*) набухших в воде альбуминовых криогелей, сформированных из исходных растворов с разным содержанием альбумина их замораживанием при трех отрицательных температурах**

**Compression modulus of elasticity (*E*) of water-swollen albumin-based cryogels formed from initial solutions with different albumin content by freezing at three negative temperatures**

| Концентрация альбумина в исходном растворе (мг/мл) | *E* (кПа) альбуминовых губок, сформированных замораживанием при температуре: | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | –15,0 °C | | –17,5 °C | | –20,0 °C | |
| (А) Значения *E*, усредненные с помощью программы Excel 2010 | | | | | | |
| 40 | 4,16 ± 0,46 | | 4,07 ± 1,07 | | 2,98 ± 0,45 | |
| 50 | 5,24 ± 0,22 | | 5,03 ± 0,45 | | 4,50 ± 0,76 | |
| 60 | 7,31 ± 0,82 | | 5,71 ± 0,93 | | 4,91 ± 1,08 | |
| (Б) Значения *E*, найденные при статистической обработке экспериментальных величин с помощью программного пакета SPSS 26.0 | | | | | | |
| | Me [Q1–Q3] | p | Me [Q1–Q3] | p | Me [Q1–Q3] | p |
| 40 | 3,93 [3,74–4,77] | 0,001* $p_{40–50}$ = 0,088* | 4,25 [3,43–4,89] | 0,014* $p_{40–50}$ = 0,105 | 2,97 [2,57–3,18] | 0,005* $p_{40–50}$ = 0,006* |
| 50 | 5,20 [5,08–5,43] | 0,001* $p_{40–60}$ = 0,001* | 4,96 [4,78–5,22] | 0,014* $p_{40–60}$ = 0,004* | 4,94 [3,64–5,05] | 0,005* $p_{40–60}$ = 0,004* |
| 60 | 7,42 [6,06–8,44] | 0,001* $p_{50–60}$ = 0,031* | 5,58 [4,98–6,17] | 0,014* $p_{50–60}$ = 0,194 | 4,86 [3,49–5,78] | 0,005* $p_{50–60}$ = 0,092 |

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

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

мере, в интервале отрицательных температур от –15 до –20 °С, криогенно-структурированных альбуминовых губок с более высокими значениями компрессионного модуля упругости (с достоверностью $p < 0,001$ в случае образцов, синтезированных при –15 °С; $p = 0,014$ для криогелей, сформированных при –17,5 °С; и $p = 0,005$ для образцов, полученных при –20 °С). При этом по абсолютной величине усредненные значения *E* (табл., А) и соответствующие модули упругости, найденные при статистической обработке экспериментальных данных (табл., Б), почти не отличались, тем самым подчеркивая надежность полученной информации.

При одинаковой концентрации белка в исходной гелеобразующей системе более упругие губчатые образцы получались в случае температуры криогенной обработки –15 °С. Однако, учитывая литературные данные [25] об эффективности криотропного гелеобразования альбумина в зависимости от условий замораживания его начальных растворов при тех же минусовых температурах (–15,0; –17,5 и –20 °С), а также информацию, полученную в предварительных опытах по оценке удобства работы с полученными губчатыми носителями при органном культивировании биологической модели, для дальнейшего использования в нашем исследовании были выбраны альбуминовые губки, синтезированные замораживанием при –20 °С реакционных растворов с концентрацией белка 50 мг/мл.

## Результаты органного культивирования заднего отдела глаза тритона с использованием губчатых альбуминовых носителей, нагруженных биорегулятором

При подсчете количества клеток (фибробласты) в склеральной оболочке после культивирования заднего отдела глаза тритона *Pl. waltl* на альбуминовой губке без биорегулятора, а также содержащей биорегулятор в разных дозах (см. Экспериментальную часть), были получены результаты, приведенные в виде диаграмм на рис. 2.

При культивировании заднего отдела глаза на альбуминовых губках в экспериментальных группах 5, 6, 7, 9 и 10, когда доза биорегулятора в носителе была соответственно $2,46 \times 10^{-5}$, $2,46 \times 10^{-7}$, $2,46 \times 10^{-9}$, $2,46 \times 10^{-13}$ и $2,46 \times 10^{-15}$ мкг, количество фибробластов в склере оказалось достоверно выше, чем в группе 1, где культивирование заднего отдела глаза проводили без альбуминовой губки, а задний отдел глаза тритона был помещен непосредственно на дно стеклянного флакона для культивирования. Кроме того, в экспериментальных группах 6, 7 и 10, где доза биорегулятора, включенного в губчатый носитель, была соответственно $2,46 \times 10^{-7}$, $2,46 \times 10^{-9}$ и $2,46 \times 10^{-15}$ мкг, детектировалось достоверно большее количество фибробластов по сравнению с группой 2 (культивирование заднего отдела глаза на альбуминовой губке без включения в нее биорегулятора). Из графика видно, что при добавлении биорегулятора склеры в дозе $2,46 \times 10^{-11}$ мкг не наблюдали достоверно значимых отличий по количеству фибробластов на единицу площади склеры относительно контроля. Получается полимодальный характер дозовой зависимости действия биорегулятора, включенного в криогель.

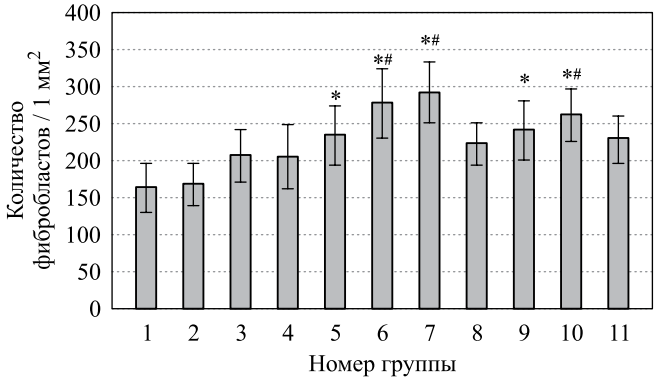


Рис. 2. Количество фибробластов на единицу площади склеры в различных экспериментальных группах после культивирования заднего отдела глаза. * – достоверные отличия от 1-й группы контроля (без альбуминового носителя), $p < 0,05$; # – достоверные отличия от 2-й группы контроля (альбуминовая губка без включенного в нее биорегулятора), $p < 0,05$

Fig. 2. Fibroblast count per unit sclera area in different experimental groups after cultivation of the posterior part of the eye. * – significant differences $p < 0.05$ from control group 1 (without albumin carrier); # – significant differences $p < 0.05$ from control group 2 (albumin sponge without bioregulator included)

Данные по количеству фибробластов на единицу площади в склере частично коррелировали с качественным состоянием самих тканей заднего отдела глаза. В частности, наилучшее их состояние по сравнению с контролем 2-й группы тоже наблюдали в группах 6, 7 и 10 (рис. 3, а, б, ж, к), где доза биорегулятора из склеры была соответственно $2,46 \times 10^{-7}$, $2,46 \times 10^{-9}$ и $2,46 \times 10^{-15}$ мкг.

Ниже приведено описание гистологического состояния тканей заднего отдела глаза в различных экспериментальных группах.

В контрольной ***группе 1*** (рис. 3, а) при культивировании заднего отдела глаза тритона на дне стеклянного флакона без альбуминового носителя происходила отслойка сетчатки (1) от слоя пигментного эпителия (2), а также отслойка слоя пигментного эпителия от сосудистой оболочки. В самом слое пигментного эпителия пигмент смещается на апикальную сторону, что говорит о нестабильности клеток данного слоя и

их дедифференцировке. В сетчатке наблюдали признаки деградации и повреждения нейронов. В склеральной оболочке наблюдаются признаки начала деградации ткани, которые выражаются в расслоении коллагеновых волокон с образованием полостей (3) между ними, а также незначительном количестве фибробластов (4) на единицу площади (рис. 2).

В контрольной ***группе 2*** (рис. 3, б) при культивировании заднего отдела глаза тритона на альбуминовой губке без добавления каких-либо факторов наблюдалась несколько лучшая картина, чем в контроле 1. Отслойка сетчатки (1) от слоя пигментного эпителия (2) была частичной, отростки фоторецепторных клеток и другие нейроны сетчатки были менее повреждены, чем в контроле 1, но при этом происходила гибель нейронов сетчатки. Пигмент в слое пигментного эпителия также имел тенденцию к смещению на апикальную сторону, но это было не так выражено, как в случае контроля 1. Сосудистая оболочка оставалась плотной. В склеральной оболочке также наблюдались элементы деградации ткани, выражающиеся в расслоении коллагеновых волокон и образовании незначительных полостей (3), а также в незначительном количестве фибробластов (4) на единицу площади (рис. 2).

В ***группе 3*** (содержание биорегулятора в носителе – $2{,}46 \times 10^{-1}$ мкг) тоже наблюдалось отслоение сетчатки (1) от пигментного эпителия (2), пигмент смещался в слое пигментного эпителия на апикальную сторону, сосудистая оболочка плотная, без признаков повреждения (рис. 3, в). В склеральной оболочке выявлены элементы деградации ткани, выражающиеся в виде полостей (3) между коллагеновыми волокнами и недостоверным отличием от контрольных групп по количеству фибробластов (4) (рис. 2).

В ***группе 4*** (содержание биорегулятора в носителе – $2{,}46 \times 10^{-3}$ мкг) (рис. 3, г) также местами обнаруживается отслойка сетчатки (1) от пигментного эпителия (2). Пигмент в слое пигментного эпителия смещен на апикальную сторону, как и в предыдущей группе. Сосудистая оболочка в хорошем состоянии, плотная, без признаков деградации. Наблюдалась гибель нейронов сетчатки. В склеральной оболочке видны элементы деградации ткани, выражающиеся в расслоении коллагеновых волокон и образовании больших полостей (3), а также в незначительном количестве фибробластов (4) на единицу площади, недостоверно отличных от контрольных групп (рис. 2).

В ***группе 5*** (содержание биорегулятора в носителе – $2{,}46 \times 10^{-5}$ мкг) (рис. 3, б, д) наблюдалась выраженная гибель нейронов сетчатки (1). Пигмент в слое пигментного эпителия (2) смещен на апикальную сторону, как и в предыдущей группе. Сосудистая оболочка в хорошем состоянии, плотная, без признаков деградации. В склеральной оболочке также обнаруживаются элементы деградации ткани, выражающиеся в расслоении коллагеновых волокон и образовании крупных полостей (3), и кроме того, количество фибробластов (4) на единицу площади недостоверно отличимо от контроля группы 2 (рис. 2).

На гистологических срезах препаратов ***группы 6*** (содержание биорегулятора в носителе – $2{,}46 \times 10^{-7}$ мкг) (рис. 3, а, б, е) наблюдалась заметно лучшая картина, чем в других группах. В частности, в меньшей степени отслаивалась сетчатка (1) (частичная отслойка только с краев), более равномерно был распределен пигмент в клетках пигментного эпителия (2), что говорит о стабильном дифференцированном состоянии данных клеток, а гибели нейронов практически не наблюдалось. В склеральной оболочке было меньше признаков деградации, заключающейся в меньшем количестве и размере полостей (3) между коллагеновыми волокнами и в большем количестве фибробластов (4) на единицу площади склеры, достоверно отличном от контрольных групп 1 и 2 примерно в 1,6 раза (рис. 2).

На срезах образцов ***группы 7*** (содержание биорегулятора в носителе – $2{,}46 \times 10^{-9}$ мкг) (рис. 3, а, б, ж) детектировалась частичная отслойка сетчатки (1) от пигментного эпителия (2) с краев, пигмент был немного смещен на апикальную сторону, полости (3) в склере немного больше, чем у препаратов группы 6, но меньше, чем в других группах, гибель нейронов сетчатки незначительная. Количество фибробластов (4) в склере достоверно отличалось от обеих контрольных групп примерно в 1,7 раза (рис. 2).

В ***группе 8*** (содержание биорегулятора в носителе – $2{,}46 \times 10^{-11}$ мкг) (рис. 3, з) наблюдалась частичная отслойка сетчатки (1) с краев, тогда как смещения пигмента в клетках пигментного эпителия (2) практически не наблюдали, но при этом были значительные полости (3) в склере. Количество фибробластов (4) в склере достоверно не отличалось от обеих контрольных групп (рис. 2).

На гистологических срезах препаратов ***группы 9*** (содержание биорегулятора в носителе – $2{,}46 \times 10^{-13}$ мкг) (рис. 3, б, и) обнаруживались отслойка сетчатки (1) от пигментного эпителия (2), смещение пигмента на апикальную сторону, а также незначительные полости (3) в склере. Количество фибробластов (4) в склере достоверно отличалось только от 1-й контрольной группы, от 2-й контрольной группы не отличалось (рис. 2).

На срезах образцов ***группы 10*** (содержание биорегулятора в носителе – $2{,}46 \times 10^{-15}$ мкг) (рис. 3, а, б, к) наблюдалась лучшая картина состояния тканей заднего отдела глаза по сравнению с образцами из всех других групп. Склера была плотная, без разрывов, полостей практически не было. Пигмент незначительно выделялся из клеток пигментного эпителия (2), а смещения на апикальную сторону не обнаруживалось, что свидетельствует о стабильном дифференцирован-

ном состоянии данных клеток. Отслойка сетчатки (1) от пигментного эпителия наблюдалась только с краев. Гибель нейронов не была выражена, сосудистая оболочка компактная. Количество фибробластов (4) в склере достоверно отличается от обеих контрольных групп примерно в 1,5 раза (рис. 2).

В ***группе 11*** (содержание биорегулятора в носителе – $2{,}46 \times 10^{-17}$ мкг) (рис. 3, а, б, л) детектировалась

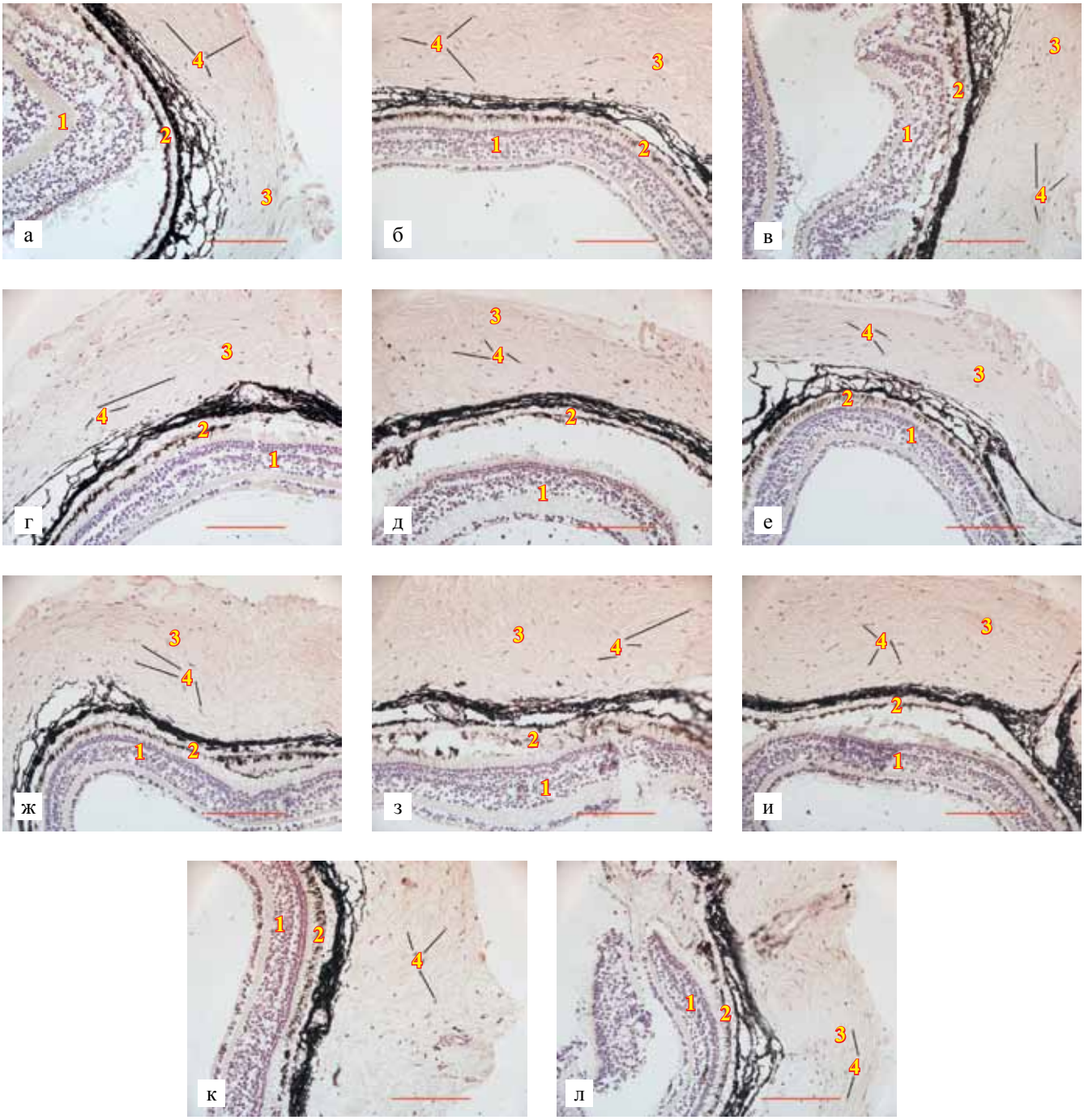


Рис. 3. Гистологическая картина тканей заднего отдела глаза тритона *Pl. waltl* после 3 дней культивирования: а – без подложки; б – на подложке из альбуминового криогеля без включения в него биорегулятора; в–л – на подложке из альбуминового криогеля с включенным в него биорегулятором склеры в количестве: в – $2{,}46 \times 10^{-1}$ мкг; г – $2{,}46 \times 10^{-3}$ мкг; д – $2{,}46 \times 10^{-5}$ мкг; е – $2{,}46 \times 10^{-7}$ мкг; ж – $2{,}46 \times 10^{-9}$ мкг; з – $2{,}46 \times 10^{-11}$ мкг; и – $2{,}46 \times 10^{-13}$ мкг; к – $2{,}46 \times 10^{-15}$ мкг; л – $2{,}46 \times 10^{-17}$ мкг. Окраска гематоксилином-эозином. Метрическая шкала 200 мкм (красная линия)

Fig. 3. Histological images of tissues of the posterior segment of the eye of an Iberian ribbed newt, after 3 days of cultivation: а – without scaffold; б – on an albumin-based cryogel scaffold without a bioregulator included therein; в–л – on an albumin-based cryogel scaffold with a sclera-derived bioregulator included in it at a dose: в – of $2.46 \times 10^{-1}$ μg; г – of $2.46 \times 10^{-3}$ μg; д – of $2.46 \times 10^{-5}$ μg; е – of $2.46 \times 10^{-7}$ μg; ж – of $2.46 \times 10^{-9}$ μg; з – of $2.46 \times 10^{-11}$ μg; и – of $2.46 \times 10^{-13}$ μg; к – of $2.46 \times 10^{-15}$ μg; л – of $2.46 \times 10^{-17}$ μg. H&E stain. Metric scale = 200 μm (red line)

гибель нейронов сетчатки (1) и незначительная отслойка сетчатки от пигментного эпителия (2) в краевых областях. Смещение пигмента на апикальную сторону практически не наблюдали, что говорит о стабильном дифференцированном состоянии данных клеток, при этом обнаруживались незначительные разрывы в склере (3). Количество фибробластов (4) в склере достоверно не отличается от обеих контрольных групп (рис. 2).

Обнаруженные различия в состоянии тканей и сохранности фибробластов в процессе культивирования говорят о том, что биорегулятор склеры, включенный в альбуминовый криогель, только в определенных количествах обладает выраженным протекторным действием на состояние тканей заднего отдела глаза, а именно наиболее заметный протекторный эффект наблюдался при культивировании заднего отдела глаза тритона на альбуминовой подложке с включенным в нее биорегулятором в количестве $2{,}46 \times 10^{-7}$, $2{,}46 \times 10^{-9}$ и $2{,}46 \times 10^{-15}$ мкг. Ранее было показано, что протекторный эффект в отношении состояния тканей заднего отдела глаза наблюдался при включении данного биорегулятора в криогелевый носитель в количестве $2{,}46 \times 10^{-7}$ мкг [22]. Биорегулятор, введенный в криогенно-структурированную альбуминовую губку, проявлял наиболее выраженное протекторное действие на состояние тканей и клеток заднего отдела глаза также и в количестве $2{,}46 \times 10^{-9}$ и $2{,}46 \times 10^{-15}$ мкг, а в других дозах действовал слабо (рис. 2). Этот выявленный в настоящей работе факт также свидетельствовал о непрямолинейной дозовой зависимости действия биорегулятора. В данном случае мы не наблюдали классической зависимости – чем выше доза, тем больше эффект. Иными словами, для активности этого биорегулятора характерна сложная полимодальная дозовая зависимость. Эти результаты согласуются с данными, полученными по полимодальному действию биорегулятора склеры в водном растворе, которые были получены ранее [24].

Такой результат коррелирует также с ранее полученной информацией о подобной полимодальной зависимости и для белково-пептидных биорегуляторов, выделенных из других тканей глаза, например, из пигментного эпителия [29], когда наиболее выраженное биологическое действие на состояние заднего отдела глаза наблюдалось при концентрациях биорегулятора в среде культивирования в $10^{-9}$ и $10^{-17}$ мг/мл, что в пересчете на его содержание в альбуминовой губке соответствует дозам $2{,}46 \times 10^{-7}$ и $2{,}46 \times 10^{-15}$ мкг. Таким образом, уровень протекторной активности биорегулятора определяется той концентрацией данного агента в растворе, который использовался при включении биорегулятора в губчатый альбуминовый носитель.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Белково-пептидный биорегулятор, выделенный из склеры глаз быка, был включен в дозах от $2{,}46 \times 10^{-1}$ до $2{,}46 \times 10^{-17}$ мкг в губчатый криогенно-структурированный носитель, синтезированный на основе растворов сывороточного альбумина с добавками денатуранта (мочевина) и тиольного восстановителя (цистеин). Функциональные возможности полученных таким образом систем доставки БАВ были протестированы в экспериментах по модельному органному культивированию заднего отдела глаз тритонов *Pleurodeles waltl* с целью выяснения влияния разных доз такого биорегулятора на состояние склеральной оболочки, поддержание целостности тканей глаза (сетчатки и пигментного эпителия, сосудистой оболочки) и сохранности фибробластов. Согласно данным гистологии, показано, что наиболее выраженный протекторный эффект на состояние тканей заднего отдела глаза при культивировании наблюдался на альбуминовой подложке с включенным в нее биорегулятором в количестве $2{,}46 \times 10^{-7}$, $2{,}46 \times 10^{-9}$ и $2{,}46 \times 10^{-15}$ мкг. Полученные результаты свидетельствуют об эффективности применения криогенно-структурированного губчатого альбуминового криогеля в качестве носителя для высвобождения биологически активных веществ.

*Работа выполнена в рамках Государственного задания № 075-03-2023-642 Министерства науки и высшего образования Российской Федерации. Авторы выражают искреннюю признательность д. б. н. Ю.Б. Басок (НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова) за помощь в статистической обработке экспериментальных данных.*

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Langer R, Peppas NA*. Advances in biomaterials, drug delivery, and bionanotechnology. *AIChE Journal*. 2003; 49 (12): 2990–3006. doi: 10.1002/aic.690491202.
2. *Yun YH, Lee BK, Park K*. Controlled drug delivery: historical perspective for the next generation. *J Controlled Release*. 2015; 219 (1): 2–7. doi: 10.1016/j.jconrel.2015.10.005.
3. *Benoit DSW, Overby CT, Sims KR, Ackun-Farmmer MA*. Drug delivery systems. *Biomaterials Science* (4th Edn.). W.R. Wagner, S.E. Sakiyama-Elbert, G. Zhang, M.J. Yaszemski (Eds.). Academic Press, 2020: 1237–1266. ISBN: 978-0-12-816137-1.
4. *Tekade RK*. Drug Delivery Systems. Academic Press, 2019. 792 p. ISBN: 9780128144879.
5. *Svenson S*. Carrier-based drug delivery. *ACS Symp. Ser.* 2004; 879 (1): 2–23. doi: 10.1021/bk-2004-0879.ch001.

6. *Орехова ЛЮ, Кудрявцева ТВ, Мусаева РС, Полькина СИ, Чупринина АВ, Садулаева ЛА*. Обзор систем пролонгированной доставки лекарственных веществ для консервативного лечения воспалительных заболеваний пародонта. *Пародонтология*. 2022; 27 (4): 298–307. *Orekhova LYu, Kudryavtseva TV, Musaeva RS, Polkina SI, Chuprinina AV, Sadulaeva EA*. Review of extended-release drug delivery systems for non-surgical treatment of inflammatory periodontal diseases. *Parodontologiya*. 2022; 27 (4): 298–307. (In Russ.). doi: 10.33925/1683-3759-2022-27-4-298-307.
7. *Cao W, Zhou X, Tu C, Wang Z, Liu X, Kang Y et al*. A broad-spectrum antibacterial and tough hydrogel dressing accelerates healing of infected wound in vivo. *Biomaterials Advances*. 2023; 145 (1): article 213244. doi: 10.1016/j.bioadv.2022.213244.
8. *Platon IV, Ghiorghita CA, Lazar MM, Raschip EE, Dinu MV*. Chitosan sponges with instantaneous shape recovery and multistrain antibacterial activity for controlled release of plant-derived polyphenols. *Int J Molec Sci*. 2023$ 24 (5): article 4452. doi: 10.3390/ijms24054452.
9. *Jugur-Grodzinski J*. Polymers for tissue engineering, medical devices, and regenerative medicine: Concise general review of recent studies. *Polym Adv Technol*. 2006; 17 (3): 395–418. doi: 10.1002/pat.729.
10. *Bakhshpour M, Idil N, Percin I, Denizli A*. Biomedical applications of polymeric cryogels. *Appl Sci*. 2019; 9 (3): article 553. doi: 10.3390/9030553.
11. *Troy E*. Nature-based biomaterials and their application in biomedicine. *Polymers*. 2021; 13 (19): article 3321. doi: 10.3390/polym13193321.
12. *He Y, Wang C, Wang C, Xiao Y, Lin W*. An overview on collagen and gelatin-based cryogels: Fabrication, classification, properties and biomedical applications. *Polymers*. 2021; 13 (14): article 2299. doi: 10.3390/polym13142299.
13. *Лозинский ВИ, Родионов ИА, Цискарашвили АВ, Еськин НА*. Антибактериальная белковая губка для химиотерапии инфицированных ран и способ ее получения. Пат. РФ № 2637634 (2016); Б.И. № 34 (2017). *Lozinsky VI, Rodionov IA, Ciskaraschvili AV, Eskin NA*. Antibakterialnaya belkovaya gubka dlya chimioterapii inficirovannih ran i sposob yeye polucheniya. Pat. RF № 2637634 (2016); B.I. № 34 (2017).
14. *Lozinsky VI, Shchekoltsova AO, Sinitskaya 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.
15. *Шайхалиев АИ, Краснов МС, Сидорский ЕВ, Ямскова ВП, Лозинский ВИ*. Индукция остеогенеза костной ткани нижней челюсти кролика с использованием криогенно-структурированного губчатого альбуминового 3D-носителя, нагруженного биорегулятором. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2022; 24 (1): 56–63. *Shaikhaliev AI, Krasnov MS, Sidorskii EV, Yamskova VP, Lozinsky VI*. Induction of osteogenesis in rabbit mandibular bone tissue using an albumin-based cryogenically structured porous 3D carrier loaded with a bioregulator. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2022; 24 (1): 56–63. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2022-1-56-63.
16. *Лозинский ВИ*. Принципы и методы криоструктурирования полимерных систем для создания инновационных материалов биомедицинского назначения. *Гибридные наноформы биоактивных и лекарственных веществ*. Под. ред. М.Я. Мельникова и Л.И. Трахтенберга. М.: Техносфера, 2020. Глава 3: 69–101. *Lozinsky VI*. Principy i metody kriostrukturirovaniya polimernyh system dlya sozdaniya innovacionnyh materialov biomedicinskogo naznacheniya. *Gibridnye nanoformy bioaktivnyh i lekarstvennyh veshcestv*. Pod. red. M.Ya. Melnikova i L.I. Trachtenberga. M.: Technosfera, 2020. Glava 3: 69–101.
17. *Reichelt S*. Introduction to macroporous cryogels. *Meth Molec Biol*. 2015; 1286*:* 173–181. doi: 10.1007/978-1-4939-2447-9_14.
18. *Tripathi A, Melo JS*. Cryostructurization of polymeric systems for developing macroporous cryogel as a foundational framework in bioengineering applications. *J Chem Sci*. 2019; 131 (1): article 92. doi: 10.1007/s12039-019-1670-1.
19. *Kirsebom H, Mattiasson B*. Cryostructuration as a tool for preparing highly porous polymer materials. *Polym Chem*. 2011; 2 (5): 1059–1062. doi: 10.1039/c1py00014d.
20. *Lozinsky VI*. Cryostructuring of polymeric systems. 55. Retrospective view on the more than 40-years studies performed in the A.N. Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds with respect of the cryostructuring processes in polymeric systems. *Gels*. 2020; 6 (3): article 29. doi: 10.3390/gels6030029.
21. *Краснов МС, Шайхалиев АИ, Коршаков ЕВ, Ефименко МВ, Солошенков 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, Shaikhaliev AI, Korshakov EV, Efimenko MV, Soloshenkov PP, Davidova TR et al*. Induction of Osteogenesis in Rat Bone Tissue Using Cryogenically Structured Porous 3D Materials Containing a Bioregulator. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2019; 168 (7): 113–117. [In Russ, English abstract]. doi: 10.1007/s10517-019-04657-z.
22. *Sidorskii EV, Krasnov MS, Yamskova VP, Lozinsky VI*. Cryostructuring of polymeric systems: 57 Spongy wide-porous cryogels based on the proteins of blood serum: preparation, properties and application as the carriers of peptide bioregulators. *Gels*. 2020; 6 (4): article 50. doi: 10.3390/gels6040050.
23. *Краснов МС, Шайхалиев АИ, Коршаков ЕВ, Гасбанов ГА, Корголоев 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*. The change in the condition of the bone tissue of the rat at the site of the defect in vivo under the action of a cryogenically structured albumin sponge containing a bioregulator. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2020; 170 (12): 800–804. [In Russ, English abstract]. doi: 10.47056/0365-9615-2020-170-12-800-804.

24. *Сидорский ЕВ, Ильина АП, Краснов МС, Ямскова ВП, Буряк АК, Ямсков ИА*. Физико-химические свойства и биологическая активность пептидно-белкового комплекса из ткани склеры глаза быка. *Прикладная биохимия и микробиология*. 2018; 54 (1): 82–88. *Sidorskii EV, Il'ina AP, Krasnov MS, Yamskova VP, Buryak AK, Yamskov IA*. Physicochimicheskie svoystva i biologicheskaya aktivnost peptidno-belkovogo kompleksa iz tkani sklery glaza byka. *Prikladnaya biochimiya i mikrobiologiya*. 2018; 54 (1): 82–88. [In Russ, English abstract]. doi: 10.7868/S0555109918010117.
25. *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.
26. *Lozinsky VI, Kulakova VK, Grigoriev AM, Podorozhko EA, Kirsanova LA, Kirillova AD et al.* Cryostructuring of polymeric systems: 63. Synthesis of two chemically tanned gelatin-based cryostructurates and evaluation of their potential as scaffolds for culturing of mammalian cells. *Gels*. 2022; 8 (11): article 695. doi: 10.3390/gels8110695.
27. *Скрипникова ВС, Краснов МС, Березин ББ, Бабушкина ТА, Борисенко АВ, Измайлов БА и др.* Биологически активный в сверхмалых дозах низкомолекулярный белок склеры. *Доклады академии наук.* 2007; 417 (5): 697–699. *Skripnikova VS, Krasnov MS, Beresin BB, Babushkina TA, Borisenko AV, Izmailov BA et al.* Low-molecular-weight Sclera Protein Biologically Active at Ultralow Doses. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2007; 417 (5): 697–699. [In Russ, English abstract].
28. *Краснов МС, Григорян ЭН, Ямскова ВП*. Модель органотипического культивирования сетчатки вместе с тканями заднего сектора глаза тритона для изучения действия адгезивных гликопротеинов. *Известия РАН, Серия «Биология»*. 2003; (1): 22–36. *Krasnov MS, Grigoryan EN, Yamskova VP*. An Organotypic Culture of the Newt Retina together with Other Tissues of the Posterior Eye Segment as a Model for Studying the Effects of Cell Adhesion Glycoproteins. *Biology Bulletin*. 2003; (1): 22–36. [In Russ, English abstract].
29. *Ямскова ВП, Скрипникова ВС, Молявка АА, Ильина АП, Краснов МС, Маргасюк ДВ и др.* Структурно-функциональные особенности нового биорегулятора, выделенного из ткани пигментного эпителия глаза быка. *Биохимия.* 2009; 74 (9): 1195–1203. *Yamskova VP, Skripnikova VS, Molyavka AA, Il'ina AP, Krasnov MS, Margasyuk DV et al*. Structural-Functional Characteristics of a New Bioregulator Isolated from Bovine Pigmented Epithelium Tissue. *Biochemistry.* 2009; 74 (9): 1195–1203. [In Russ, English abstract].

*Статья поступила в редакцию 12.04.2023 г.*
*The article was submitted to the journal on 12.04.2023*

DOI: 10.15825/1995-1191-2023-2-129-139

# ГАЛЕКТИН-3 У РЕЦИПИЕНТОВ СОЛИДНЫХ ОРГАНОВ: РОЛЬ В РАЗВИТИИ ПАТОЛОГИИ ТРАНСПЛАНТАТА И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ

*Д.А. Великий[1], М.А. Особливая[1], О.П. Шевченко[1, 2]*

[1] ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация
[2] ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация

Галектин-3 – важный регулятор процессов клеточной адгезии, миграции, пролиферации, дифференцировки и апоптоза при физиологических и патологических состояниях. Особое значение галектин-3 имеет при развитии заболеваний, связанных с хроническим воспалением и фиброзом. Последние годы показано изменение концентрации галектина-3 в крови реципиентов солидных органов при верификации патологии трансплантата почки, печени, сердца и легких. Результаты исследований содержания и динамики галектина-3 у реципиентов солидных органов могут служить для оценки состояния трансплантата с помощью новых малоинвазивных методов и выявления терапевтических мишеней для персонифицированной терапии. Появляются первые данные клинических исследований о фармакологическом ингибировании галектина-3. В настоящем обзоре суммированы современные представления о роли галектина-3 в развитии патологии трансплантата и перспективах его применения в качестве диагностического маркера и терапевтической мишени у реципиентов солидных органов.

*Ключевые слова: галектин-3, трансплантация солидных органов, патология трансплантата.*

# GALECTIN-3 IN SOLID ORGAN RECIPIENTS: ROLE IN GRAFT PATHOLOGY AND PROSPECTS FOR USE

*D.A. Velikiy[1], M.A. Osoblivaya[1], O.P. Shevchenko[1, 2]*

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

Galectin-3 (Gal-3) is an important regulator of cell adhesion, migration, proliferation, differentiation and apoptosis under pathophysiological conditions. It plays a crucial role in diseases associated with chronic inflammation and fibrosis. In recent years, there have been reports indicating changes in serum Gal-3 levels in solid organ transplant recipients in the verification of kidney, liver, heart and lung transplant pathologies. Studies on Gal-3 levels and dynamics in solid organ recipients may serve to assess graft conditions using new minimally invasive methods and to identify therapeutic targets for personalized therapy. The first clinical trial data on Gal-3 pharmacological inhibition are emerging. This review summarizes the current understanding of the role of Gal-3 in transplant pathology and the prospects for its use as a diagnostic marker and therapeutic target in solid organ recipients.

*Keywords: galectin-3, solid organ transplantation, graft pathology.*

## ВВЕДЕНИЕ

В последние годы в условиях улучшения выживаемости и качества жизни реципиентов солидных органов – сердца, печени, почки, легких – особую актуальность приобретают методы неинвазивного скрининга и диагностики патологии трансплантата. Длительное функционирование трансплантата позволяют обеспечить ранняя диагностика осложнений

**Для корреспонденции:** Особливая Мария Александровна. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (499) 193-87-62. E-mail: osoblivaya-91@yandex.ru

**Corresponding author:** Maria Osoblivaya. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (499) 193-87-62. E-mail: osoblivaya-91@yandex.ru

и назначение своевременного лечения. В настоящее время для определения и верификации патологии трансплантированного органа используются инвазивные методы диагностики – биопсия (эндомиокардиальная, трансбронхиальная, пункционная), коронароангиографическое, бронхоскопическое исследования и другие, выполнение которых предусмотрено протоколами ведения реципиентов или продиктовано появлением признаков нарушения функции трансплантата. Многократное применение инвазивных методов связано с определенными ограничениями и риском развития осложнений.

Изменение концентрации отдельных молекул в плазме или сыворотке крови реципиентов солидных органов может быть связано с клиническими симптомами, прогнозом и структурными изменениями, обнаруживаемыми при биопсии и последующем морфологическом исследовании трансплантата. При условии точности измерения концентрации и доказанной диагностической значимости такие молекулы относят к группе биомаркеров [1]. В трансплантологии разработано отдельное направление по изучению биомаркеров для диагностики и прогноза развития посттрансплантационных осложнений у реципиентов солидных органов с целью сокращения частоты инвазивных диагностических вмешательств или частичной их замены; отдельное значение биомаркеры могут иметь в качестве мишеней терапии [2].

Одним из активно изучаемых биомаркеров является галектин-3, который экспрессируется во многих органах (почки, легкие, желудок, толстая кишка, матка и др.) различными клетками (воспалительными, эндотелиальными, мышечными, фибробластами, опухолевыми), что предполагает возможность его участия в процессах регуляции при физиологических и патологических состояниях. Особое значение галектин-3 имеет при развитии заболеваний, связанных с хроническим воспалением и фиброзом [3].

Целью настоящего обзора является анализ последних данных о роли галектина-3 в развитии патологии трансплантата и перспективах его применения в качестве диагностического маркера и терапевтической мишени у реципиентов солидных органов.

## ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ И ФУНКЦИИ ГАЛЕКТИНА-3

По молекулярной структуре галектины относят к семейству β-галактозидсвязывающих белков, которые могут взаимодействовать с несколькими внутриклеточными протеинами. Это взаимодействие осуществляется через специфический углевод-распознающий домен (англ. CRD – carbohydrate recognition domain) [4], благодаря чему галектины принимают участие в различных биологических процессах – активации провоспалительных факторов, индукции адгезии, фагоцитозе нейтрофилов и макрофагов, сплайсинге пре-мРНК и др. [5].

У млекопитающих на сегодняшний день выявлено 15 типов галектинов. Они разделены на три группы в соответсвии с организацией полипептидных доменов: галектины с одним-единственным CRD, галектины с двумя тандемно-повторяющимися CRD и галектины с одним CRD, соединенным с N-концевым доменом (химерного типа) [6, 7].

Уникальную организацию полипептидных доменов имеет галектин-3, его химерная и специфическая структура включает CRD – полипептидный домен, связывающий углеводы, который может взаимодействовать со множеством углеводсодержащих белков, активируя различные сигнальные пути. Коллагеноподобная последовательность связывает CRD с N-link-доменом и состоит из девяти коллагеноподобных последовательностей (домен, богатый пролином/глицином), расщепляемых матриксной металлопротеазой. Домен N-link необходим для реализации биологической активности галектина-3. Этот домен имеет два сайта, где фосфорилируются серины.

Молекулярная масса галектина-3 человека составляет 35 кДа, этот белок экспрессируется геном LGALS3 14-й хромосомы (локус 14q21-q22). Галектин-3 обладает уникальной способностью связывать белки двумя способами: углеводозависимым и независимым. С помощью С-концевого CRD галектин-3 может соединяться с гликоконъюгатами, которые содержат N-ацетиллактозамин, а благодаря N-концевому домену происходит процесс мультимеризации. N-концевой домен галектина-3 способен связываться с белками внутри клетки и обладает чувствительностью к протеолизу со стороны матриксных металлопротеиназ. Данные особенности галектина-3 определяют его биологические свойства [8].

Экспрессия галектина-3 была обнаружена в различных тканях: в эпителиальных и эндотелиальных клетках, во многих типах иммунных клеток, а также в сенсорных нейронах [9, 10]. На ранних стадиях эмбриогенеза экспрессия галектина-3 в тканях более выражена и преимущественно локализуется в почках, печени, эпителии и хондроцитах [11,12].

Соотношение внутри- и внеклеточного уровня галектина-3 определяет его способность как индуцировать рост и дифференцировку клеток, так и ингибировать эти процессы [13]. Галектин-3 может играть также важную роль в защите организма от патогенов. Он обладает хемотаксическими свойствами по отношению к макрофагам и моноцитам и усиливает провоспалительные сигналы. Также участвует в фагоцитозе нейтрофилов и макрофагов, индуцирует адгезию нейтрофилов и активацию провоспалительных факторов лейкоцитов[14].

Галектин-3 преимущественно локализуется в цитоплазме и в небольших количествах в ядре клеток. Кроме того, он секретируется на поверхность клетки и в биологические жидкости. В зависимости от локализации у галектина-3 выявлены противоположные эффекты: внутриклеточно он защищает клетки от их гибели, а внеклеточно может вызвать их апоптоз.

В ядре клеток галектин-3 принимает участие в регуляции транскрипции генов и сплайсинге матричной РНК. Цитоплазматический галектин-3 необходим для сохранения жизнеспособности клеток, так как он взаимодействует с некоторыми критическими белками, включая ген K-Ras, активированный гуанозин-5'-трифосфатом (GTP), и противоапоптотический белок (Bcl-2). Противоапоптотическое действие галектина-3 внутри клеток реализуется путем связывания со специфическим белком синексином (фосфолипид-связывающий и $Ca^{2+}$-зависимый белок). Образовавшийся при этом комплекс проникает в митохондрии, где галектин-3 связывается с Bcl-2, что приводит к стабилизации мембран митохондрий и предотвращению высвобождения цитохрома С [12].

Галектин-3 вне клеток играет важную роль при адгезивном взаимодействии эпителиальных клеток и внеклеточного матрикса. С другой стороны, имеются данные о том, что галектин-3 вне клеток индуцирует апоптоз Т-клеток [16]. Все это позволяет предположить участие галектина-3 в различных физиологических и патологических процессах, среди которых рост и дифференцировка клеток, апоптоз, воспаление и фиброз [9, 15].

Показано, что при некоторых воспалительных заболеваниях (ревматоидный артрит, рецидивирующий хронический васкулит), а также при развитии атеросклероза у пациентов отмечается повышение уровня галектина-3 в плазме крови. Это может быть связано с провоспалительными эффектами галектина-3, к которым относятся: стимуляция миграции иммунных клеток в ткани, усиление адгезии лейкоцитов к сосудистой стенке и адгезии к ламинину [17].

## ГАЛЕКТИН-3 КАК ФАКТОР СПЛАЙСИНГА

Сплайсинг пре-мРНК является важным этапом экспрессии генов, во время которого незрелая пре-мРНК превращается в зрелую мРНК, с которой считываются (транслируются) белки клетки. Сплайсинг представляет собой котранскрипционный процесс, во время которого некодирующие участки (интроны) вырезаются из молекул пре-мРНК, а кодирующие участки (экзоны) сшиваются вместе [18].

В бесклеточной системе для оценки роли галектина-3 в процессинге пре-мРНК были проанализированны критерии уменьшения и восстановления активности сплайсинга. Результаты исследования позволили предположить, что галектин-3 является одним из белков, участвующих в ядерном сплайсинге пре-мРНК. При этом нарушение процесса сплайсинга пре-мРНК может вызывать или модифицировать различные заболевания человека [19].

В другом исследовании по определению внутриклеточной локализации галектина-3 также показано, что этот маркер является фактором сплайсинга. Иммунофлуоресцентная микроскопия выявила вкрапления в ядерных структурах, содержащие как галектин-3, так и известные факторы сплайсинга (snRNPs и SC35). Высказаны предположения, что доменная структура галектина-3, а точнее, именно гомологичный CRD необходим для активности сплайсинга. Экспериментальные данные подтвердили, что изолированный CRD галектина-3 восстанавливал активность сплайсинга в обедненной галектином системе, хотя целостная структура галектина-3 проявляла в 10 раз большую эффективность при восстановлении сплайсинга, чем любой из CRD по отдельности [20].

Установлено, что добавление богатого пролином и глицином N-концевого домена галектина-3 к комплексу для сплайсинга приводило к дозозависимому ингибированию активности сплайсинга и сопутствующему блокированию образования активных сплайсосом, тогда как интактный галектин-3 или его С-концевой домен не влияли на активность сплайсинга или образование сплайсосом. Это определяет влияние N-концевого домена на сплайсинг пре-мРНК и предполагает, что галектин-3 образует олигомеры или взаимодействует с другими компонентами сплайсинга [21].

## СВЯЗЬ ГАЛЕКТИНА-3 И МИКРОРНК

МикроРНК представляют собой класс небольших (20–23 нуклеотида) эндогенных некодирующих РНК. Они способны регулировать трансляцию или непосредственно разрушать свои гены-мишени путем связывания с областями соединения оснований. Благодаря способности регулировать гены-мишени микроРНК играют важную роль в клеточных процессах, таких как клеточная дифференцировка, пролиферация и апоптоз. Появляется все больше информации о роли микроРНК в регуляции функций сердца и прогрессировании сердечной недостаточности [22].

МикроРНК были идентифицированы как важный регулятор повреждения сердца, вызванного ишемией. В работе Z. Song et al. было исследовано влияние miR-27-3p, галектина-3 и HIF-1α (индуцируемый гипоксией фактор 1-альфа) на жизнеспособность клеток и апоптоз при ишемическом повреждении миокарда. Показано, что уровень экспрессии miR-27-3p был снижен в миокарде во время гипоксии. Усиление сверхэкспрессии miR-27-3p, как и HIF-1α, снижало индуцированное ишемией повреждение миокарда. При этом повышение экспрессии галектина-3 приводило к снижению защитной функции miR-27-3p при ишемии кардиомиоцитов, а снижение

экспрессии miR-27-3p способствовало повреждению клеток миокарда и являлось стимулом для активации галектина-3 [23].

В исследовании Meiqi Zhang et al. на модели гипертрофии миокарда *in vivo* и *in vitro* показано, что уровень экспрессии miR-27b был снижен у мышей с гипертрофией миокарда. При этом функция сердца у животных с гипертрофией миокарда могла быть восстановлена при усилении экспрессии miR-27b. Снижение концентрации галектина-3 значительно уменьшало гипертрофию сердца как в тестах *in vitro*, так и *in vivo*. Высказано предположение, что галектин-3 является мишенью для miR-27b, как следствие miR-27b можно использовать для защиты сердца от дисфункции и гипертрофии миокарда путем снижения уровня экспрессии галектина-3 [24].

В исследовании Ali A. Shati et al. изучалось действие ресвератрола (RES), антиапоптотического лектина, который сверхэкспрессируется в раковых клетках яичников, на уровень галектина-3. Ресвератрол в клеточных линиях SKOV3 и OVCAR-3 ОС индуцировал гибель, миграцию и инвазию клеток. Ресвератрол повышает экспрессию miR-424-3p, который влияет на уровень галектина-3. Результаты этого исследования показывают, что индуцированный ресвератролом апоптоз в раковых клетках связан с повышением уровня miR-424-3p и снижением уровня галектина-3 [25].

## РОЛЬ ГАЛЕКТИНА-3 В РАЗВИТИИ ФИБРОТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ И ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ

Отдаленный период после трансплантации у реципиентов солидных органов может характеризоваться развитием фиброза трансплантата. Результатом фибротических изменений в трансплантированном органе является его дисфункция вследствие структурного и функционального ремоделирования. К основным причинам прогрессирования фиброза относят перенесенное острое или хроническое отторжение трансплантата, а также сопутствующие заболевания, такие как сахарный диабет, нарушение липидного обмена и другие [3, 49].

Показано, что во время деления фибробластов галектин-3 перемещается из цитоплазмы в ядро клетки, что наряду с усилением экспрессии может говорить о вовлеченности галектина-3 в пролиферативные процессы. При этом активация и размножение фибробластов, находящихся в состоянии покоя, происходит под действием галектина-3, который секретируется в области повреждения тканей [26]. Активация фибробластов стимулирует синтез белков цитоскелета COL1A1 (англ. collagen type I alpha 1 chain) и aSMA (англ. smooth muscle alpha-actin), что приводит к развитию фибротических изменений. Имеются данные, что галектин-3 опосредованно через взаимодействие с матриксными металлопротеиназами может индуцировать деградацию компонентов внеклеточного матрикса [27].

Галектин-3 обладает способностью к хемотаксису в отношении моноцитов и макрофагов, что стимулирует процессы фагоцитоза и секрецию цитокинов, в том числе интерлейкина-1. Установлено, что галектин-3 может взаимодействовать с тканевыми базофилами, индуцируя тем самым высвобождение медиаторов воспаления и развитие реакций гиперчувствительности. Кроме того, было показано участие галектина-3 в процессе ангиогенеза и развитии атеросклеротического поражения в сосудах [27].

Экспрессия галектина-3 наиболее выражена в легких, селезенке, желудке, надпочечниках, матке и клетках иммунной системы, особенно при онкологических заболеваниях [28]. Он также экспрессируется в меньшей степени в сердце, печени, почках, головном мозге и поджелудочной железе [29]. При этом было показано изменение концентрации галектина-3 в плазме крови пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями [30], нарушениями функции органов дыхания [31] и печени [32], что позволяет предполагать его возможную диагностическую значимость.

## ГАЛЕКТИН-3 ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ И ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧЕК

В почке галектин-3 экспрессируется главным образом в собирательных протоках почечных канальцев, внутри или на апикальной мембране α-интеркалированных клеток, что позволяет предположить роль галектина-3 в развитии канальцев почек посредством межклеточной адгезии или взаимодействия с внеклеточным матриксом для содействия тубулогенезу. Во взрослой почке экспрессия галектина-3 обнаруживается в основных и интеркалированных клетках, в проксимальных канальцах и восходящей толстой ветви [33].

Галектин-3 связывается с β-галактозидными сахарами в своем домене распознавания углеводов, проявляя разнообразные свойства, включая клеточную адгезию и пролиферацию через несколько гликозилированных матриксных белков (ламинин, фибронектин и интегрины). Галектин-3 также способствует развитию патологических процессов, таких как воспаление, ангиогенез и фиброгенез органов при наличии повреждения тканей. Было обнаружено, что истощение галектина-3 уменьшает накопление коллагенового матрикса и тяжесть фиброза почек [34, 35]. В других работах было показано, что более высокие уровни галектина-3 в плазме или сыворотке крови были связаны с повышенным риском развития хронической болезни почек (ХБП) и быстрого снижения функции почек [33]. В работе M.T. Tsai

et al. было установлено, что более высокие уровни галектина-3 в плазме крови связаны с более тяжелым фиброзом почек, верифицированным по результатам биопсии [36].

В работе O'Seaghdha et al. были представлены данные о том, что уровень галектина-3, циркулирующего в крови, обратно связан с функцией почек и развитием хронических заболеваний почек [37]. Полученные данные согласуются с исследованием взаимосвязи между концентрацией галектина-3 и прогрессированием врожденной хронической болезни почек [38]. Было установлено, что фиброгенез почек, в том числе после трансплантации, зависит от экспрессии и секреции галектина-3 [33]. При этом экспериментальные исследования показали, что повреждение почек и фиброз возможно предотвратить фармакологическим ингибированием галектина-3 [39–41].

Связь галектина-3 в плазме крови с фиброзом органов описана, но вопрос о том, является ли галектин-3 в моче потенциальным биомаркером прогрессирования заболевания почек, ранее был мало изучен. В работе S.M. Ou et al. были обследованы три группы пациентов, разделенные на основе уровня галектина-3 в моче (<354,6, 354,6–510,7 и ≥510,8 пг/мл). Критериями для оценки прогрессирования заболеваний почек были снижение расчетной скорости клубочковой фильтрации ≥40% или развитие терминальной стадии ХБП. Показано, что уровень галектина-3 в моче обратно коррелировал с расчетной скоростью клубочковой фильтрации (рСКФ) и положительно с уровнем галектина-3 в плазме крови, уровнем креатинина и UPCR (соотношение креатинина и белка в моче). Более того, наблюдалось постепенное повышение уровня галектина-3 в моче по мере прогрессирования ХБП, причем увеличение было наибольшим среди пациентов с ХБП 5-й стадии. Сочетанное определение концентрации галектина-3 в моче и плазме крови может обеспечить более высокую диагностическую эффективность мониторинга заболевания почек [42].

В последние годы было показано, что галектин-3 модулирует воспаление и инфильтрацию иммунных клеток при различных патофизиологических состояниях. Дисфункция трансплантата связана с активацией иммунных клеток. В исследовании Dang et al. на двух группах животных было показано, что у мышей с нулевым уровнем галектина-3 в трансплантате было меньше повреждений канальцев, умеренный фиброз и более низкая инфильтрация иммунными клетками по сравнению с группой обычных животных, у которых в трансплантате определялись характерные изменения в виде атрофии почечных канальцев, а также усиление экспрессии галектина-3 в тканях и плазме крови [43]. Это исследование позволяет предположить роль галектина-3 в рекрутировании иммунных клеток при отторжении, что подтверждается улучшением исхода поражения почек при фармакологическом ингибировании галектина-3.

Таким образом, галектин-3 может играть важную роль в воспалении и фиброзе почек, которые вовлечены в развитие дисфункции почечного трансплантата. Необходимы дальнейшие клинические исследования для изучения потенциальной связи галектина-3 с неблагоприятными исходами у пациентов с хронической болезнью почек и у реципиентов почечного трансплантата.

## ГАЛЕКТИН-3 У ПАЦИЕНТОВ С СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ И РЕЦИПИЕНТОВ СЕРДЦА

В ряде исследований показан диагностический потенциал галектина-3 в качестве биомаркера развития и прогрессирования сердечной недостаточности (СН). Изменение концентрации галектина-3 отмечалось при развитии фибротических нарушений в миокарде, а также под действием медикаментозной терапии. Оценка уровня галектина-3 в плазме крови пациентов с СН может позволить определить тех пациентов, у кого повышен риск повторной госпитализации [44, 45].

В работе Ю.В. Щукина и соавт. показана патогенетическая роль галектина-3 при развитии сердечной недостаточности. Уровень галектина-3 в крови пациентов был связан со степенью выраженности хронической сердечной недостаточности и коррелировал с маркерами окислительного стресса и воспаления [46].

В другом исследовании также было установлено, что у пациентов с ишемической болезнью сердца уровень галектина-3 в крови прогрессивно возрастал соответственно тяжести СН. При этом концентрация галектина-3 у пациентов коррелировала с уровнем маркеров воспаления: С-реактивным белком и интерлейкином-6. Было показано, что галектин-3 способен взаимодействовать с трансмембранным гликопротеином CD98, активируя тем самым фосфатидилинозитол-3-киназу, что запускает процесс альтернативной активации макрофагов, следствием чего является повышение инфильтрации миокарда активированными макрофагами [47].

Известно, что с течением времени у реципиентов сердца увеличивается риск развития субклинической хронической сердечной недостаточности вследствие совокупности различных патологических факторов, что приводит к формированию фиброза миокарда трансплантата [48, 49]. Роль галектина-3 у реципиентов сердца изучена в меньшей степени, однако было показано, что у пациентов с фиброзом миокарда трансплантированного сердца концентрация

галектина-3 в плазме крови выше, чем у реципиентов без фибротических изменений [50].

В нашем предыдущем исследовании было установлено, что более чем у 75% реципиентов сердца в различные сроки после трансплантации были верифицированы фибротические изменения миокарда трансплантата по данным эндомиокардиальной биопсии. Кроме того, было показано, что среди реципиентов сердца, перенесших кризы острого отторжения трансплантата, доля пациентов с фиброзом миокарда в отдаленном посттрансплантационном периоде увеличивается практически в два раза. При этом галектин-3 был диагностически значим при фиброзе миокарда трансплантата: у реципиентов сердца с концентрацией галектина-3 в плазме крови выше определенного порогового значения частота выявления фибротических изменений в миокарде увеличивалась более чем в полтора раза [51].

Результаты данной работы подтверждают предположение о том, что перенесенные кризы острого отторжения влияют на развитие фиброза миокарда в трансплантированном сердце. Это происходит на фоне развития отека и инфильтрации интерстиция лимфоцитами и макрофагами, усиления продукции провоспалительных и профиброгенных медиаторов, характерных для острого отторжения трансплантата [52, 53].

## ГАЛЕКТИН-3 ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ И ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ

Галектин-3, участвующий в развитии фиброза и воспаления, активно экспрессируется у пациентов с прогрессирующими заболеваниями печени. Уровень экспрессии галектина-3 коррелирует с концентрацией маркеров воспаления печени, печеночной декомпенсации и может быть полезен для выявления пациентов высокого риска. Показано, что галектин-3 является медиатором активации звездчатых клеток печени и играет важную роль при развитии фибротических изменений печени. Уровень галектина-3 при циррозе печени выше по сравнению с концентрацией у здоровых пациентов. Внутрипеченочный галектин-3 также был обнаружен при гепатоцеллюлярной карциноме и при биопсии печени пациентов с циррозом [32].

Галектин-3 играет важную иммунологическую роль, и как было установлено, способствует регуляции врожденных и адаптивных реакций иммунитета. Исследования показали, что галектин-3 уменьшает количество моноцитов посредством влияния на дифференцировку из дендритных клеток, а также презентацию Т-клеточного антигена. Он также ингибирует активацию Т-клеток путем снижения уровня Т-клеточного рецептора и индуцирует выработку IL-2 и вызывает апоптоз активированных Т-клеток и подавляет их пролиферацию [54].

В исследовании H.W. Zimmermann et al. также было показано, что у пациентов с прогрессирующим циррозом печени концентрация галектина-3 в сыворотке крови была значительно повышена. При этом уровень галектина-3 коррелировал с такими показателями, как интерлейкин-6, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (M-CSF), интерлейкин-8 и моноцитарный хемотоксический протеин-1 (MCP-1) [55]. Установленная связь между галектином-3 и активацией воспалительных и повреждающих факторов при циррозе печени требует дальнейшего изучения.

При трансплантации печени уровень циркулирующего галектина-3 может рассматриваться в качестве биомаркера для выявления реципиентов с более высоким риском развития инфекционных осложнений, которые являются одним из важных факторов, влияющих на выживаемость реципиентов после трансплантации. Было показано, что концентрация галектина-3 в сыворотке крови реципиентов печени с более высокой частотой инфекционных осложнений была значительно выше, чем у остальных реципиентов [54].

## ГАЛЕКТИН-3 ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ЛЕГКИХ

Трансплантация легких (ТЛ) является единственно возможным методом лечения пациентов с терминальными стадиями заболеваний легких, таких как эмфизема, муковисцидоз, легочный фиброз и легочная артериальная гипертензия, которые не поддаются медикаментозному лечению [56–58]. Показатели выживаемости реципиентов на длительных сроках после ТЛ по-прежнему ниже, чем при трансплантации других солидных органов, в связи с развитием хронической дисфункции трансплантата [59]. В настоящее время выделяют несколько форм хронической дисфункции трансплантата легких – это синдром облитерирующего бронхиолита и синдром рестриктивного аллотрансплантата.

Синдром облитерирующего бронхиолита (BOS) характеризуется утолщением бронхиол и обструкцией вследствие повреждения и воспаления эпителиальных клеток и мелких субэпителиальных структур дыхательных путей. Затем развивается фибропролиферативная стадия с пролиферацией фибробластов и накоплением коллагена под бронхиолярным эпителием, что приводит к облитерации просвета дыхательных путей [60].

В исследовании Miriana d’Alessandro et al. была выполнена оценка концентрации галектина-3 в сыворотке крови реципиентов после ТЛ с синдромом облитерирующего бронхиолита и без него, а также у здоровых лиц контрольной группы, чтобы оценить потенциальную диагностическую роль данного биомаркера [61]. Установлено, что у пациентов с верифицированным BOS концентрация галектина-3

была выше, чем у здоровых лиц, однако при этом достоверно не отличалась по сравнению с реципиентами легких без признаков хронической дисфункции трансплантата.

Респираторные осложнения, связанные с обструкцией дыхательных путей, приводят к дисфункции трансплантата в послеоперационном периоде у реципиентов легких. Известно, что галектин-3 активно экспрессируется при воспалительных процессах и фибротических изменениях в различных органах. Другими потенциальными биомаркерами респираторных заболеваний и посттрансплантационных осложнений являются небольшие регуляторные молекулы микроРНК.

В нашей предыдущей работе в плазме крови реципиентов легких оценивали уровень экспрессии miR-339 и концентрацию галектина-3. У реципиентов легких с обструкцией дыхательных путей уровень экспрессии miR-339 и концентрация галектина-3 были значительно выше по сравнению с реципиентами без каких-либо осложнений. Превышение рассчитанных пороговых значений miR-339 и галектина-3 в плазме у реципиентов легких было связано с высоким риском обструкции дыхательных путей после ТЛ. Определение уровня экспрессии miR-339 в сочетании с галектином-3 может быть перспективным для выявления реципиентов легких с высоким риском респираторных осложнений и дисфункции трансплантата [31].

## ИНГИБИТОРЫ ГАЛЕКТИНА-3

Фармакологическое ингибирование галектина-3 было исследовано для оценки его участия в повреждении органов-мишеней. Этот лектин связывается с несколькими клеточными сайтами и обладает способностью к внеклеточной фиксации. Это свойство имеет решающее значение для ингибиторов галектина-3, которые классифицируются в соответствии с их характеристиками в отношении связывания углеводов. Используемые в настоящее время ингибиторы галектина-3 приведены в таблице [38].

Таблица

**Препараты – ингибиторы галектина-3 [38]**

**Galectin-3 inhibitors [38]**

| Название препарата | Структура | Фармакокинетика | Клинические данные |
|---|---|---|---|
| Модифицированный цитрусовый пектин (MCP) | Полипептид, образованный ангидро-галактуроновой кислотой и галактозой с более короткими углеводными цепями, модифицированными pH и воздействием температуры | Антагонист Gal-3, растворимый белок, связывающийся с Gal-3 CRD. | *Рак*<br>Фаза II, одноцентровое, открытое исследование, оценивающее безопасность и эффективность MCP в отношении кинетики простатического специфического антигена при раке предстательной железы (NCT01681823)<br>*Фиброз сердца*<br>Фаза III, рандомизированное исследование, одноцентровое исследование, оценивающее эффективность лечения MCP для уменьшения сердечного фиброза у пациентов с артериальной гипертонией. (NCT01960946) |
| *GBC590 / GCS100* Комбинация очищенных MCP (полимеризованных белков) | Комбинация очищенных MCP (полимеризованных белков) | Антагонист Gal-3, связывание растворимого белка с CRD | *Заболевания почек*<br>– Фаза I, открытое исследование, оценивало безопасность еженедельных доз GCS-100 у пациентов с хроническим заболеванием почек. (NCT01717248)<br>– Фаза IIa, плацебо-контролируемое, рандомизированное, однократное слепое исследование с оценкой еженедельных доз GCS-100 у пациентов при хроническом заболевании почек и изменении рСКФ. (NCT01843790)<br>*Рак*<br>Испытания фазы II оценивали уменьшение метастазирования и стабилизацию колоректальных карцином во время ингибирования Gal-3, связанного с рецепторами. (NCT00110721) |
| *Даванат и Белапектин* | Полисахарид галактоманнана | Мультивалентное связывание с Gal-3 CRD | *Фиброз печени*<br>Фазы I, II и III многоцентрового исследования для оценки безопасности и фармакокинетики у пациентов с неалкогольным стеатогепатитом (НАСГ) с прогрессирующим фиброзом печени для улучшения портальной гипертензии и варикозного расширения вен пищевода (NCT02462967, NCT04365868) |

Результаты данных мультицентровых исследований позволят оценить перспективу терапевтического использования ингибиторов галектина-3 при фибротических изменениях в различных органах и при онкологических заболеваниях.

В слепом многоцентровом рандомизированном клиническом исследование фазы IIa пациенты с хронической болезнью почек 3b и 4-й стадии получали ингибитор галектина-3 – GCS100 [62]. У пациентов с хроническими заболеваниями почек, получавших фармакологический ингибитор галектина-3, значительно улучшалась скорость клубочковой фильтрации, снижался уровень мочевой кислоты и азота мочевины в крови по сравнению с пациентами, получающими плацебо. Авторы исследования не сообщали о каких-либо серьезных побочных эффектах при применении GCS100 в дозировке 1,5 мг/м$^2$ [63].

В работе Lau et al. изучали использование модифицированного цитрусового пектина (МСР) при сердечно-сосудистых нарушениях, вызванных артериальной гипертензией, в рандомизированном контролируемом исследовании. Было установлено, что ингибирование галектина-3 не влияло на экспрессию сердечных биомаркеров фиброза, но оказалось связано со снижением уровня креатинина в плазме крови и увеличением расчетной скорости клубочковой фильтрации у пациентов, получавших МСР [64].

В исследовании Hirani et al. галектин-3 оценивали как терапевтическое средство для лечения фиброза при заболеваниях легких. Были показаны хорошая переносимость ингаляционного ингибитора галектина-3 у здоровых лиц и снижение плазменных маркеров, связанных с легочным фиброзом у пациентов [65].

Необходимы дополнительные доклинические исследования, чтобы подтвердить целесообразность ингибирования галектина-3 в качестве потенциальной терапевтической мишени.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Биологические эффекты галектина-3 включают участие в регуляции различных физиологических и патологических процессов, среди которых рост и дифференцировка клеток, апоптоз, воспаление и фиброз.

У реципиентов солидных органов показано изменение концентрации галектина-3 при верификации патологии трансплантата. При трансплантации почки менее выраженное повреждение канальцев, умеренная степень фиброза и более низкая инфильтрация иммунными клетками в трансплантате были связаны с более низким уровнем галектина-3. При трансплантации печени показатели концентрации галектина-3 были значительно выше у реципиентов с прогрессирующим фиброзом трансплантата и инфекционными осложнениями. У реципиентов сердца и легких была показана диагностическая значимость галектина-3 в отношении развития посттрансплантационных осложнений как в качестве независимого теста, так и в сочетании с молекулярно-генетичесикми маркерами (микроРНК). Все это позволяет рассматривать галектин-3 в качестве перспективного диагностического маркера повреждения органов после трансплантации.

Полученные в последние годы данные клинических исследований о фармакологическом ингибировании галектина-3 позволяют предположить возможность использования этого белка в качестве терапевтической мишени для замедления и предотвращения развития патологии трансплантата у реципиентов солидных органов.

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Шевченко АО.* Методы оценки и сравнительного анализа клинической эффективности биомаркеров при диагностике острого коронарного синдрома. *Биомаркеры в лабораторной диагностике.* Под ред. В.В. Долгова, О.П. Шевченко, А.О. Шевченко. М.: Триада, 2014. 288 с. *Shevchenko AO.* Metody ocenki i sravnitel'nogo analiza klinicheskoj jeffektivnosti biomarkerov pri diagnostike ostrogo koronarnogo sindroma. *Biomarkery v laboratornoj diagnostike.* Pod red. V.V. Dolgova, O.P. Shevchenko, A.O. Shevchenko. M.: Triada, 2014. 288 s.
2. *Шевченко ОП, Аксенова АВ, Улыбышева АА, Можейко НП, Никитина ЕА, Орлов ВИ и др.* Сравнительный анализ диагностической значимости панелей биомаркеров у реципиентов сердца в отдаленные сроки после трансплантации. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2017. 19 (2): 27–33. *Shevchenko OP, Aksyonova AV, Ulybysheva AA, Mozheiko NP, Nikitina EA, Orlov VI et al.* Comparative analysis of diagnostic significance of biomarkers' panels in cardiac recipients in the long term period after transplantation. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2017; 19 (2): 27–33.
3. *Park S, Nguyen NB, Pezhouman A, Ardehali R.* Cardiac fibrosis: potential therapeutic targets. *Transl Res.* 2019 Jul; 209: 121–137. doi: 10.1016/j.trsl.2019.03.001.
4. *Лахтин М, Лахтин В, Алешкин В, Афанасьев С.* Лектины полезных микробов: системная организация, функционирование и функциональное суперсемейство. *Польза. Микробы.* 2011; 2: 155–165. *Lahtin M, Lahtin V, Aleshkin V, Afanas'ev S.* Lektiny poleznyh mikrobov: sistemnaja organizacija, funkcionirovanie i funkcional'noe supersemejstvo. *Pol'za. Mikroby*. 2011; 2: 155–165.

5. *Slack RJ, Mills R, Mackinnon AC.* The Therapeutic Potential of Galectin-3 Inhibition in Fibrotic Disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2021; 130: 105881.
6. *Argüeso P, Panjwani N.* Focus on molecules: Galectin-3. *Exp Eye Res*. 2011 Jan; 92: 2–3.
7. *Saccon F, Gatto M, Ghirardello A, Iaccarino L, Punzi L, Doria A.* Role of galectin-3 in autoimmune and non-autoimmune nephropathies. *Autoimmun Rev*. 2017; 16: 34–47.
8. *Menon RP, Hughes RC.* Determinants in the N-terminal domains of galectin-3 for secretion by a novel pathway circumventing the endoplasmic reticulum-Golgi complex. *Eur J Biochem*. 1999; 264: 569–576.
9. *Newlaczyl AU, Yu LG.* Galectin-3 – a jack-of-all-trades in cancer. *Cancer Lett*. 2011; 313: 123–128.
10. *De Oliveira FL, Gatto M, Bassi N, Luisetto R, Ghirardello A, Punzi L, Doria A.* Galectin-3 in autoimmunity and autoimmune diseases. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2015; 240 (8): 1019–1028.
11. *Pugliese G, Iacobini C, Ricci C, Blasetti Fantauzzi C, Menini S.* Galectin-3 in diabetic patients. *Clin Chem Lab Med*. 2014; 52 (10): 1413–1423.
12. *Dumic J, Dabelic S, Flögel M.* Galectin-3: An open-ended story. *Biochim Biophys Acta*. 2006; 1760: 616–635.
13. *Ochieng J, Leite-Browning ML, Warfield P.* Regulation of cellular adhesion to extracellular matrix proteins by galectin-3. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998 May 29; 246 (3): 788–791. doi: 10.1006/bbrc.1998.8708.
14. *Karlsson A, Christenson K, Matlak M, Björstad A, Brown KL, Telemo E et al.* Galectin-3 functions as an opsonin and enhances the macrophage clearance of apoptotic neutrophils. *Glycobiology.* 2009 Jan; 19 (1): 16–20. doi: 10.1093/glycob/cwn104.
15. *Chen SC, Kuo PL.* The role of Galectin-3 in the kidneys. *Int J Mol Sci*. 2016; 17 (4): 565.
16. *Novak R, Dabelic S, Dumic J.* Galectin-1 and galectin-3 expression profiles in classically and alternatively activated human macrophages. *Biochim Biophys Acta*. 2012 Sep; 1820 (9): 1383–1390.
17. *Gao Z, Liu Z, Wang R, Zheng Y, Li H, Yang L.* Galectin-3 Is a Potential Mediator for Atherosclerosis. *J Immunol Res*. 2020 Feb 14; 2020: 5284728.
18. *Montes M, Sanford BL, Comiskey DF, Chandler DS.* RNA Splicing and Disease: Animal Models to Therapies. *Trends Genet.* 2019 Jan; 35 (1): 68–87.
19. *Gajendra Singh, Divisha Rao, Alok Kumar*. Chapter 1 – Molecular Basis of Neurological Disorders. *The Molecular Immunology of Neurological Diseases*. Academic Press, 2021: 1–13.
20. *Rabinovich GA, Rubinstein N, Toscano MA.* Role of galectins in inflammatory and immunomodulatory processes. *Biochim Biophys Acta*. 2002; 1572 (2–3): 274–284.
21. *Yang RY, Hill PN, Hsu DK, Liu FT.* Role of the carboxyl-terminal lectin domain in self-association of galectin-3. *Biochemistry*. 1998 Mar 24; 37 (12): 4086–4092. doi: 10.1021/bi971409c.
22. *Chen WJ, Yin K, Zhao GJ, Fu YC, Tang CK.* The magic and mystery of microRNA-27 in atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2012 Jun; 222 (2): 314–323. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2012.01.020.
23. *Song Z, Zhong X, Ning Z, Song X.* The Protective Effect of miR-27-3p on Ischemia-Reperfusion-Induced Myocardial Injury Depends on HIF-1α and Galectin-3. *J Cardiovasc Transl Res*. 2022 Aug; 15 (4): 772–785.
24. *Zhang M, Cheng K, Chen H, Tu J, Shen Y, Pang L, Wu W.* MicroRNA-27 attenuates pressure overload-Induced cardiac hypertrophy and dysfunction by targeting galectin-3. *Arch Biochem Biophys*. 2020 Aug 15; 689: 108405. doi: 10.1016/j.abb.2020.108405.
25. *El-Kott AF, Shati AA, Ali Al-Kahtani M, Alharbi SA.* The apoptotic effect of resveratrol in ovarian cancer cells is associated with downregulation of galectin-3 and stimulating miR-424-3p transcription. *J Food Biochem*. 2019 Oct 11; 43 (12).
26. *Lin HM, Moon BK, Yu F, Kim HR.* Galectin-3 mediates genisteininduced G(2)/M arrest and inhibits apoptosis. *Carcinogenesis*. 2000 Nov; 21 (11): 1941–1945. doi: 10.1093/carcin/21.11.1941.
27. *Dickstein K, Cohen-Solal A, Filippatos G, McMurray JJ, Ponikowski P, Poole-Wilson PA et al.* ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008: the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association of the ESC (HFA) and endorsed by the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM). *Eur J Heart Fail*. 2008 Oct; 10 (10): 933–989. doi: 10.1016/j.ejheart.2008.08.005.
28. *Dong R, Zhang M, Hu Q, Zheng S, Soh A, Zheng Y, Yuan H.* Galectin-3 as a novel biomarker for disease diagnosis and a target for therapy. *Int J Mol Med*. 2018 Feb; 41 (2): 599–614.
29. *Драпкина О.М., Деева Т.А.* Галектин-3 – биомаркер фиброза у пациентов с метаболическим синдромом. *Российский кардиологический журнал.* 2015; 9 (125): 96–102. *Drapkina O.M., Deeva T.A.* Galectin-3 – biomarker of fibrosis in patients with metabolic syndrome. *Russ J Cardiol.* 2015; 9 (125): 96–102.
30. *Blanda V, Bracale UM, Di Taranto MD, Fortunato G.* Galectin-3 in Cardiovascular Diseases. *Int J Mol Sci.* 2020 Dec 3; 21 (23): 9232.
31. *Shevchenko O, Tsirulnikova O, Sharapchenko S, Pashkov I, Bekov M, Shigaev E et al.* MiR-339 and galectin-3: diagnostic value in patients with airway obstruction after lung transplantation. *Transpl Int.* 2021 Sep; 34 (9): 1733–1739. doi: 10.1111/tri.13986.
32. *An Y, Xu S, Liu Y, Xu X, Philips CA, Chen J et al.* Role of Galectins in the Liver Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Med (Lausanne).* 2021 Oct 27; 8: 744518.
33. *Sotomayor CG, Te Velde-Keyzer CA, Diepstra A, van Londen M, Pol RA, Post A et al.* Galectin-3 and Risk of Late Graft Failure in Kidney Transplant Recipients: A 10-year Prospective Cohort Study. *Transplantation.* 2021 May 1; 105 (5): 1106–1115.
34. *Mackinnon AC, Gibbons MA, Farnworth SL, Leffler H, Nilsson UJ, Delaine T et al.* Regulation of transforming

growth factor-β1-driven lung fibrosis by galectin-3. *Am J Respir Crit Care Med.* 2012; 185: 537–546.
35. *Calvier L, Martinez-Martinez E, Miana M, Cachofeiro V, Rousseau E, Sádaba JR et al.* The impact of galectin-3 inhibition on aldosterone-induced cardiac and renal injuries. *JACC Heart Fail*. 2015; 3: 59–67.
36. *Tsai MT, Yang RB, Ou SM, Tseng WC, Lee KH, Yang CY et al.* Plasma Galectin-9 Is a Useful Biomarker for Predicting Renal Function in Patients Undergoing Native Kidney Biopsy. *Arch Pathol Lab Med.* 2023 Feb 1; 147 (2): 167–176.
37. *O'Seaghdha CM, Hwang SJ, Ho JE, Vasan RS, Levy D, Fox CS.* Elevated galectin-3 precedes the development of CKD. *J Am Soc Nephrol.* 2013; 24: 1470–1477.
38. *Boutin L, Dépret F, Gayat E, Legrand M, Chadjichristos CE.* Galectin-3 in Kidney Diseases: From an Old Protein to a New Therapeutic Target. *Int J Mol Sci*. 2022 Mar 14; 23 (6): 3124.
39. *Desmedt V, Desmedt S, Delanghe JR, Speeckaert R, Speeckaert MM.* Galectin-3 in Renal Pathology: More Than Just an Innocent Bystander. *Am J Nephrol*. 2016; 43 (5): 305–317.
40. *Prud'homme M, Coutrot M, Michel T, Boutin L, Genest M, Poirier F et al.* Acute kidney injury induces remote cardiac damage and dysfunction through the Galectin-3 pathway. *JACC Basic Transl Sci*. 2019; 4 (6): 717–732.
41. *Sun H, Jiang H, Eliaz A, Kellum JA, Peng Z, Eliaz I.* Galectin-3 in septic acute kidney injury: a translational study. *Crit Care.* 2021; 25 (1): 109.
42. *Ou SM, Tsai MT, Chen HY, Li FA, Lee KH, Tseng WC et al.* Urinary Galectin-3 as a Novel Biomarker for the Prediction of Renal Fibrosis and Kidney Disease Progression. *Biomedicines.* 2022 Mar 2; 10 (3): 585.
43. *Dang Z, MacKinnon A, Marson LP, Sethi T.* Tubular Atrophy and Interstitial Fibrosis after Renal Transplantation Is Dependent on Galectin-3. *Transplantation.* 2012; 93: 477–484.
44. *Karatolios K, Chatzis G, Holzendorf V, Störk S, Richter A, Binas D et al.* Galectin-3 as a Predictor of Left Ventricular Reverse Remodeling in Recent-Onset Dilated Cardiomyopathy. *Dis Markers*. 2018 Jun 19; 2018: 2958219.
45. *Binas D, Daniel H, Richter A, Ruppert V, Schlüter KD, Schieffer B, Pankuweit S.* The prognostic value of sST2 and galectin-3 considering different aetiologies in non-ischaemic heart failure. *Open Heart*. 2018 Feb 26; 5 (1): e000750. doi: 10.1136/openhrt-2017-000750.
46. *Щукин ЮВ, Березин ИИ, Медведева ЕА, Селезнев ЕИ, Дьячков ВА, Слатова ЛН.* О значении галектина-3 как маркера и медиатора эндогенного воспаления и окислительно-нитрозилирующего стресса у больных с хронической сердечной недостаточностью. *Российский кардиологический журнал*. 2013; 2 (100): 45–49. *Shchukin YuB, Berezin II, Medvedeva EA, Seleznev EI, Dyachkov VA, Slatova LN*. Galectin-3 as a marker and mediator of endogenous inflammation and nitrosylation oxidative stress in patients with chronic heart failure. *Russ J Cardiol* 2013; 2 (100): 45–49.
47. *Беленков ЮН, Татенкулова СН, Мареев ВЮ, Масенко ВП, Балахонова ТВ, Трипотень МИ и др.* Взаимосвязь уровня провоспалительных факторов с выраженностью сердечной недостаточности при ишемической болезни сердца. *Сердечная недостаточность* 2009; 10 (3): 137–139. *Belenkov YuN, Tatenkulova SN, Mareev VYu, Masenko VP, Balakhonova TV, Tripoten' MI i dr.* Vzaimosvjaz' urovnja provospalitel'nyh faktorov s vyrazhennost'ju serdechnoj nedostatochnosti pri ishemicheskoj bolezni serdca. *Serdechnaja nedostatochnost'*. 2009; 10 (3): 137–139.
48. *Шевченко АО, Никитина ЕА, Колоскова НН, Шевченко ОП, Готье СВ.* Контролируемая артериальная гипертензия и выживаемость без нежелательных событий у реципиентов сердца. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2018; 17 (4): 4–11. *Shevchenko AO, Nikitina EA, Koloskova NN, Shevchenko OP, Gautier SV.* Controlled arterial hypertension and adverse event free survival rate in heart recipients. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2018; 17 (4): 4–11.
49. *Hughes A, Okasha O, Farzaneh-Far A, Kazmirczak F, Nijjar PS, Velangi P et al.* Myocardial Fibrosis and Prognosis in Heart Transplant Recipients. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2019 Oct; 12 (10): e009060. doi: 10.1161/CIRCIMAGING.119.009060.
50. *Шевченко ОП, Улыбышева АА, Гичкун ОЕ, Можейко НП, Стаханова ЕА, Кван ВС, Шевченко АО.* Галектин-3 при отторжении и фиброзе трансплантированного сердца. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2019; 21 (3): 62–68. *Shevchenko OP, Ulybysheva AA, Gichkun OE, Mozheiko NP, Stakhanova EA, Kvan VS, Shevchenko AO.* Galectin-3 in heart transplant rejection and fibrosis. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2019; 21 (3): 62–68.
51. *Шевченко ОП, Улыбышева АА, Можейко НП, Гичкун ОЕ, Стаханова ЕА, Васильева ВП, Шевченко АО.* Диагностическая значимость галектина-3 при патологии миокарда трансплантированного сердца. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2020; 8–15. *Shevchenko OP, Ulybysheva AA, Mozheiko NP, Gichkun OE, Stakhanova EA, Vasilieva VP, Shevchenko AO.* Diagnostic value of galectin-3 in heart transplant recipients with myocardial complications. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs.* 2020; 22 (1): 8–15.
52. *Gyöngyösi M, Winkler J, Ramos I, Do QT, Firat H, McDonald K et al.* Myocardial fibrosis: biomedical research from bench to bedside. *Eur J Heart Fail*. 2017 Feb; 19 (2): 177–191. doi: 10.1002/ejhf.696.
53. *Kyselovic J, Leddy JJ.* Cardiac Fibrosis: The Beneficial Effects of Exercise in Cardiac Fibrosis. *Exercise for Cardiovascular Disease Prevention and Treatment: From Molecular to Clinical*. Part 1. 2017: 257–268.
54. *Cervantes-Alvarez E, Limon-de la Rosa N, Vilatoba M, Pérez-Monter C, Hurtado-Gomez S, Martinez-Cabrera C et al.* Galectin-3 is overexpressed in advanced cirrhosis and predicts post-liver transplant infectious complications. *Liver Int.* 2022 Oct; 42 (10): 2260–2273.

55. *Zimmermann HW, Seidler S, Gassler N, Nattermann J, Luedde T, Trautwein C, Tacke F.* Interleukin-8 is activated in patients with chronic liver diseases and associated with hepatic macrophage accumulation in human liver fibrosis. *PLoS One*. 2011; 6 (6): e21381.
56. *Bennett D, Fossi A, Bargagli E, Refini RM, Pieroni M, Luzzi L et al.* Mortality on the waiting list for lung transplantation in patients with idiopathic pulmonary fibrosis: a single-centre experience. *Lung*. 2015 Oct; 193 (5): 677–681.
57. *Bennett D, Lanzarone N, Fossi A, Perillo F, De Vita E, Luzzi L et al.* Pirfenidone in chronic lung allograft dysfunction: a single cohort study. *Panminerva Med.* 2020; 62 (3): 143–149.
58. *Cameli P, Bargagli E, Fossi A, Bennett D, Voltolini L, Refini RM et al.* Exhaled nitric oxide and carbon monoxide in lung transplanted patients. *Respir Med.* 2015; 109 (9): 1224–1229.
59. *Bergantini L, d'Alessandro M, De Vita E, Perillo F, Fossi A, Luzzi L et al.* Regulatory and effector cell disequilibrium in patients with acute cellular rejection and chronic lung allograft dysfunction after lung transplantation: comparison of peripheral and alveolar distribution. *Cells*. 2021; 10 (4): 780.
60. *DerHovanessian A, Wallace WD, Lynch JP 3rd, Belperio JA, Weigt SS.* Chronic lung allograft dysfunction: evolving concepts and therapies. *Semin Respir Crit Care Med*. 2018; 39 (2): 155–171.
61. *d'Alessandro M, Bergantini L, Fossi A, De Vita E, Perillo F, Luzzi L et al.* The Role of Galectins in Chronic Lung Allograft Dysfunction. *Lung*. 2021 Jun; 199 (3): 281–288. doi: 10.1007/s00408-021-00449-3.
62. A Phase 2a Study of Weekly Doses of GCS-100 in Patients with Chronic Kidney Disease, 9 January 2022.
63. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Diabetes Work Group. KDIGO 2022 Clinical Practice Guideline for Diabetes Management in Chronic Kidney Disease. *Kidney Int*. 2022 Nov; 102 (5S): S1–S127. doi: 10.1016.
64. *Lau ES, Liu E, Paniagua SM, Sarma AA, Zampierollo G, López B et al.* Galectin-3 Inhibition with Modified Citrus Pectin in Hypertension. *JACC Basic Transl Sci*. 2021 Jan 6; 6 (1): 12–21.
65. *Hirani N, MacKinnon AC, Nicol L, Ford P, Schambye H, Pedersen A et al.* Target-Inhibition of Galectin-3 by Inhaled TD139 in Patients with Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Eur Respir J*. 2021 May 27; 57 (5): 2002559. doi: 10.1183/13993003.02559-2020.

*Статья поступила в редакцию 02.05.2023 г.*
*The article was submitted to the journal on 02.05.2023*

DOI: 10.15825/1995-1191-2023-2-140-147

# ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ГОРМОНА РОСТА ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ ДЕТЯМ РАННЕГО ВОЗРАСТА

*Р.М. Курабекова[1], О.В. Силина[1], О.М. Цирульникова[1, 2], И.Е. Пашкова[1], О.Е. Гичкун[1, 2], Г.А. Олефиренко[1], С.Ю. Олешкевич[1], А.Р. Монахов[1, 2], О.П. Шевченко[1, 2]*

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

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

Гормон роста (ГР) играет ведущую роль в регуляции метаболизма и роста клеток и тканей. Его эффекты опосредованы через так называемые соматомедины, среди которых важнейший – продуцируемый в печени инсулиноподобный фактор роста 1 (ИФР-1). Было показано, что уровень ГР в крови реципиентов печени связан с клиническими результатами трансплантации. **Цель работы:** оценить прогностическую значимость гормона роста при трансплантации печени детям раннего возраста. **Материалы и методы.** В исследование включено 148 детей (61 мальчик) в возрасте от 2 до 60 месяцев (медиана – 8) в терминальной стадии болезней печени в исходе атрезии желчевыводящих путей (n = 86), гипоплазии желчевыводящих путей (n = 14), болезни Байлера (n = 15), синдрома Алажилля (n = 12), синдрома Кароли (n = 5) и других заболеваний печени (n = 16, криптогенный цирроз, фульминантный и аутоиммунный гепатит, синдромы Криглера–Найяра и Бадда–Киари, дефицит α-1 антитрипсина, гликогеноз и гепатобластома). Всем пациентам была проведена трансплантация левого латерального сектора печени от живого родственного донора. Концентрацию гормона роста измеряли с помощью иммуноферментного анализа до, через месяц и год после трансплантации. **Результаты.** Медиана уровня гормона роста в плазме крови детей с заболеваниями печени составляла 4,3 [1,6–7,2] нг/мл, была достоверно выше, чем у здоровых детей того же возраста – 1,2 [0,3–2,4] нг/мл, p = 0,001, в то время как средний рост и масса тела были ниже, чем у здоровых. Уровень ГР достоверно снижался после трансплантации; через месяц и спустя год не отличался от такового у здоровых детей (p = 0,74, p = 0,67 соответственно). Через месяц после трансплантации уровень ГР у переживших год реципиентов был ниже, чем у не переживших (p = 0,02); диагностически значимый пороговый уровень ГР составил 1,8 нг/мл. До трансплантации печени уровень ГР в крови не различался у реципиентов, переживших и не переживших год после трансплантации. У детей с уровнем ГР в крови после трансплантации печени ниже 1,8 нг/мл расчетная вероятность пережить год после трансплантации была в 9 раз выше, чем у пациентов с концентрацией гормона в крови выше порогового значения. **Заключение.** Уровень гормона роста в крови детей – реципиентов печени может служить позитивным прогностическим показателем результатов трансплантации печени детям раннего возраста.

*Ключевые слова: трансплантация печени, гормон роста, педиатрическая трансплантация, дети-реципиенты.*

**Для корреспонденции:** Курабекова Ривада Мусабековна. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, 1. Тел. (499) 190-53-41. E-mail: kourabr@yandex.ru

**Corresponding author:** Rivada Kurabekova. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (499) 190-53-41. E-mail: kourabr@yandex.ru

# PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF GROWTH HORMONE IN PEDIATRIC LIVER TRANSPLANTATION

*R.M. Kurabekova[1], O.V. Silina[1], O.M. Tsirulnikova[1, 2], I.E. Pashkova[1], O.E. Gichkun[1, 2], G.A. Olefirenko[1], S.Yu. Oleshkevich[1], A.R. Monakhov[1, 2], O.P. Shevchenko[1, 2]*

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

[2] Sechenov University, Moscow, Russian Federation

Growth hormone (GH) plays a leading role in the regulation of cell and tissue metabolism and growth. Its effects are mediated through the so-called somatomedins, among which the most important is the liver-produced insulin-like growth factor 1 (IGF-1). It has been reported that serum GH levels in liver recipients is related to the clinical transplant outcomes. **Objective:** to evaluate the prognostic significance of GH in pediatric liver transplantation (LT). **Materials and methods.** The study enrolled 148 children (61 boys) aged 2 to 60 months (median, 8) with end-stage liver disease resulting from biliary atresia (n = 86), biliary hypoplasia (n = 14), Byler disease (n = 15), Alagille syndrome (n = 12), Caroli syndrome (n = 5), and other liver diseases (n = 16, cryptogenic cirrhosis, fulminant and autoimmune hepatitis, Crigler–Najjar and Budd–Chiari syndromes, alpha-1 antitrypsin deficiency, glycogenosis and hepatoblastoma). All the patients were transplanted with the left lateral segment of the liver from a living related donor. GH concentrations were measured by enzyme immunoassay before, at one month and at one year after transplantation. **Results.** Median plasma GH levels in children with liver disease were 4.3 [1.6–7.2] ng/mL, significantly higher than in healthy children of the same age at 1.2 [0.3–2.4] ng/mL, p = 0.001, while mean height and body weight were lower than in healthy controls. GH levels decreased significantly after transplantation. At one month and one year later, the levels did not differ from those of healthy children (p = 0.74, p = 0.67, respectively). One month after transplantation, GH concentrations were lower in 1-year survivors than in non-survivors (p = 0.02); the diagnostically significant threshold GH level was 1.8 ng/mL. Prior to LT, plasma GH levels did not differ between 1-year survivors and non-survivors. Children with GH levels below 1.8 ng/mL post-LT were 9 times more likely to survive one year post-transplant than patients with levels above the threshold. **Conclusion.** GH concentrations in pediatric liver recipients is a positive prognostic indicator of pediatric LT outcomes.

*Keywords: liver transplantation, growth hormone, pediatric transplantation, pediatric recipients.*

## ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация печени детям с терминальной стадией болезней печени является в настоящее время единственным радикальным методом их лечения, позволяющим достичь не только высокой выживаемости, но и полноценной физической и социальной реабилитации. Выживаемость детей – реципиентов печени от живых родственных доноров, по данным международных исследователей, составляет через год 86–96% [1, 2]. Опыт НМИЦ ТИО им. академика В.И. Шумакова показывает, что выживаемость в течение первого года после трансплантации превышает 90% [3].

В настоящее время нет принятых методов прогнозирования результатов трансплантации у детей-реципиентов на основе объективных показателей. Валидизация методов прогнозирования является перспективным подходом к дальнейшему улучшению результатов трансплантации печени детям [4, 5].

Важными факторами, связанными с продолжительностью и качеством жизни, являются гормон роста и инсулиноподобный фактор роста 1 (ИФР-1), исследованию которых в последние десятилетия уделяется большое внимание [6, 7].

Гормон роста и ИФР-1 – значимые звенья гуморальной регуляции функции печени: ИФР-1 является медиатором анаболических и митогенных эффектов ГР в периферических тканях. Более 90% циркулирующего в системном кровотоке ИФР-1 синтезируется в печени. Продукция ИФР-1 регулируется ГР, который стимулирует его выработку клетками печени. В свою очередь, ИФР-1 регулирует продукцию ГР по типу обратной отрицательной связи [8, 9].

Система «гормон роста – ИФР-1» контролирует рост клеток и тканей, тесно связана с функцией печени и может влиять на выживаемость пациентов с заболеваниями печени и реципиентов после трансплантации [10, 11]. Предполагается, что ГР влияет на результаты трансплантации печени детям опосредованно через регуляцию роста и массы тела, функции гепатоцитов и активность иммунной системы [12–14]. У детей – реципиентов печени данных о нейрогуморальной регуляции функции трансплантата недостаточно.

Цель настоящей работы – оценить прогностическую значимость гормона роста при трансплантации печени детям раннего возраста.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 148 детей – 61 мальчик и 87 девочек в возрасте от 2 до 60 месяцев (медиана – 8) с терминальной стадией заболеваний печени. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом центра трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова. Для участия в исследовании законные представители пациентов подписали письменное информированное согласие, которое хранится в их истории болезни.

У включенных в исследование детей причинами печеночной недостаточности являлись: атрезия желчевыводящих путей (АЖВП, n = 86), гипоплазия желчевыводящих путей (ГЖВП, n = 14), болезнь Байлера (n = 15), синдром Алажилля (n = 12), синдром Кароли (n = 5) и другие заболевания (n = 16), такие как криптогенный цирроз, фульминантный гепатит, аутоиммунный гепатит, синдром Криглера–Найяра, синдром Бадда–Киари, дефицит α-1 антитрипсина, гликогеноз и гепатобластома. Всем пациентам была проведена трансплантация левого латерального сектора печени от живого родственного донора. После трансплантации пациенты получали 2- или 3-компонентную иммуносупрессивную терапию, включающую такролимус, микофенолаты и кортикостероиды.

Группа сравнения состояла из 16 практически здоровых детей, 9 мальчиков и 7 девочек, обследованных после лечения дисбактериоза кишечника. Медиана возраста детей в группе сравнения составляла 12 (6–25) месяцев. Для сравнения антропометрических показателей реципиентов, представленных средними значениями и среднеквартильным отклонением, использовали референтные данные ВОЗ для здоровых детей того же возраста [15].

Измерение содержания гормона роста проводили в плазме, полученной из венозной крови, взятой натощак между 8 и 10 часами утра. Кровь забиралась в одноразовые пластиковые пробирки (BD Vacutainer, Becton Dickinson, США), содержащие антикоагулянты (этилендиаминтетрауксусная кислота или цитрат натрия). Плазма крови, полученная путем центрифугирования при ускорении 1500 g в течение 10 минут, хранилась при температуре –50 °C до проведения анализа. Концентрацию ГР в плазме крови измеряли иммуноферментным методом с использованием набора реагентов (DBC, Канада) в соответствии с инструкцией производителя. Результаты измерения концентрации ГР представлены значениями медианы и интерквартильного размаха с 25-го по 75-й процентиль.

Статистический анализ проводили методами параметрической и непараметрической статистики. При сравнении параметрических выборок использовали t-критерий Фишера. Для сравнения независимых непараметрических переменных рассчитывали U-критерий Манна–Уитни, при сравнении зависимых выборок использовали парный критерий Вилкоксона, корреляционный анализ проводили по Спирману. Статистически значимыми считали различия, когда вероятность ошибки составляла менее 0,05 ($p < 0,05$).

Для оценки показателей информативности теста проводили ROC-анализ (от англ. receiver operating characteristic – рабочая характеристика приемника). Площадь под кривой ROC отражает вероятность, с которой тест способен отделить одну группу пациентов от другой. В качестве нулевой гипотезы принималось, что площадь под кривой ROC не отличается от величины 0,5. Пороговый уровень гормона роста, отделяющий больных от здоровых, определяли при построении графиков зависимостей чувствительности и специфичности от концентрации гормона в крови.

Диагностическую чувствительность и специфичность теста, а также оптимальное пороговое значение гормона роста определяли в точке максимальной суммы чувствительности и специфичности. Чувствительность теста определяли как долю больных с положительным тестом среди всех заболевших. Специфичность теста определяли как долю здоровых с отрицательным результатом среди всех здоровых.

Относительный риск, RR (relative risk), рассчитывали с помощью четырехпольной таблицы сопряженности для порогового значения концентрации маркера и оценивали 95% доверительный интервал (ДИ). Значение RR считали статистически достоверным ($p < 0,05$), если нижняя граница ДИ была выше 1.

Также рассчитывали точность теста (Ac, accuracy), прогностическую значимость положительного (PPV – positive predictive value) и отрицательного (NPV – negative predictive value) результатов. Точность метода определялась как доля правильных результатов, отношение числа истинно положительных и истинно отрицательных результатов к общему числу исследований. Прогностическая значимость положительного результата, отражающая вероятность заболеть при положительном тесте, определялась как доля истинно положительных от общего числа всех положительных. Прогностическая значимость отрицательного результата, т. е. вероятность не заболеть при отрицательном тесте: доля истинно отрицательных в общем числе отрицательных данных.

Расчет данных проводили с помощью компьютерных статистических программ: MS Office Excel (MS, США), SPSS Statistics 20 (IBM, США) и Statistica 7.0 (StatSoft, Inc., США).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Показанием к трансплантации печени детям в возрасте 2–60 месяцев (медиана – 8) была терминальная стадия печеночной недостаточности, причиной которой в 90% случаев были врожденные и наслед-

ственные заболевания гепатобилиарной системы и в 10% случаев – редкие метаболические нарушения. Основные характеристики включенных в исследование реципиентов представлены в табл. 1.

В группу сравнения вошли 16 практически здоровых детей – 9 мальчиков и 7 девочек, проходивших обследование после лечения дисбактериоза кишечника. Медиана возраста детей в группе сравнения составляла 12 (6–25) месяцев.

Таблица 1

**Основные характеристики реципиентов печени**

**Main characteristics of liver recipients**

| Характеристики | Показатели |
|---|---|
| Число, n | 148 |
| Возраст, мес., медиана (диапазон) | 8 (2–60) |
| Пол, n (%) | |
| мальчики | 61 (41) |
| девочки | 87 (59) |
| Заболевания печени, n (%): | |
| атрезия желчевыводящих путей | 86 (58,1) |
| гипоплазия желчевыводящих путей | 14 (9,5) |
| синдром Алажилля | 12 (8,1) |
| болезнь Байлера | 15 (10,1) |
| синдром Кароли | 5 (3,4) |
| другие: | 16 (10,8) |
| криптогенный цирроз, фульминантный гепатит, аутоиммунный гепатит, синдром Криглера–Найяра синдром Бадда–Киари, дефицит α-1 антитрипсина, гликогеноз, гепатобластома | |

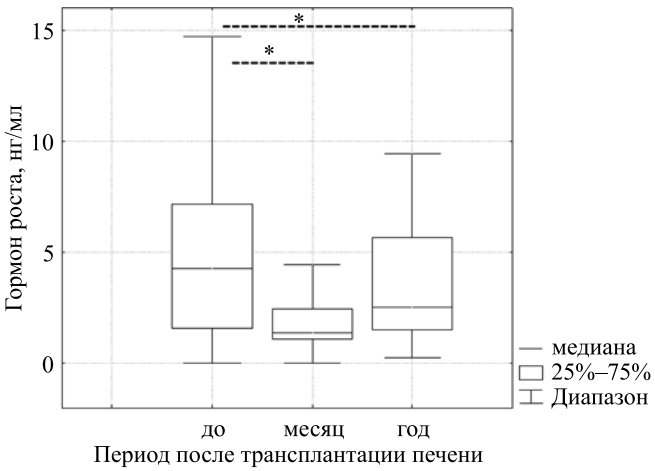


Рис. 1. Уровни гормона роста в крови детей до и в различные сроки после трансплантации печени, * – $p < 0,05$ в сравнении с уровнем до ТП

Fig. 1. GH levels in children before and at various times after LT. * – $p < 0.05$ compared to pre-transplant levels

Возраст и половой состав детей-реципиентов, включенных в исследование, и детей в группе сравнения не различалась ($p = 0,78$ и $p = 0,84$ соответственно).

Средний рост пациентов, включенных в исследование, составлял 71,2 ± 8,2 см и был значимо ниже среднего референтного значения для здоровых детей того же возраста (по данным ВОЗ – 75 ± 6 см, $p = 0,00$). Масса тела реципиентов составляла 7,9 ± 2,3 кг и была ниже, чем у здоровых детей – 9,5 ± 2 кг, $p = 0,00$.

Рост реципиентов через год после трансплантации в среднем составлял 82,1 ± 7,6 см и оставался достоверно ниже среднего референтного значения для здоровых пациентов того же возраста (по данным ВОЗ – 87 ± 7 см, $p = 0,00$) [15]. Среднее значение массы тела реципиентов – 11,5 ± 2,2 кг – статистически не отличалось от референтных значений для здоровых детей того же возраста – 12 ± 2 кг, $p = 0,06$.

Уровень ГР в плазме крови детей с заболеваниями печени составлял 4,3 [1,6–7,2] нг/мл и был достоверно выше, чем у здоровых детей того же возраста – 1,2 [0,3–2,4] нг/мл, $p = 0,001$. Данные о концентрации ГР представлены в виде медианы и интерквартильного размаха.

На рис. 1 представлен сравнительный анализ содержания ГР в плазме крови детей до, через месяц и год после трансплантации печени.

Через месяц после трансплантации печени содержание ГР в плазме крови реципиентов составило 1,4 [1,1–2,4] нг/мл и было достоверно ниже, чем до операции ($p = 0,001$). Через год после трансплантации концентрация ГР у реципиентов составила 2,5 [1,5–5,7] нг/мл и была достоверно ниже, чем до операции ($p = 0,049$). И через месяц после трансплантации, и через год уровень ГР в крови реципиентов не отличался от уровня у здоровых детей ($p = 0,74$, $p = 0,67$ соответственно).

Для изучения связи ГР с клиническими результатами трансплантации печени детям проведен сравнительный анализ содержания ГР в крови у детей, переживших и не переживших год после трансплантации. Содержание гормона роста в крови реципиентов до трансплантации не было связано с результатами трансплантации через год ($r = 0,03$, $p = 0,32$). Данные о содержании ГР до и через месяц после трансплантации в плазме крови реципиентов, переживших и не переживших год, представлены на рис. 2.

Уровень ГР через месяц после трансплантации у переживших год реципиентов составил 1,4 [1,1–2,4] нг/мл и был достоверно ниже такового до операции – 4,2 [1,5–7,2] нг/мл, $p = 0,00$. У реципиентов, не переживших этот период, содержание ГР через месяц – 5,6 [1,9–8,6] нг/мл – практически не отличалось от такового до операции – 4,5 [2,0–6,9] нг/мл, $p = 0,68$, т. е. при благоприятном результате транс-

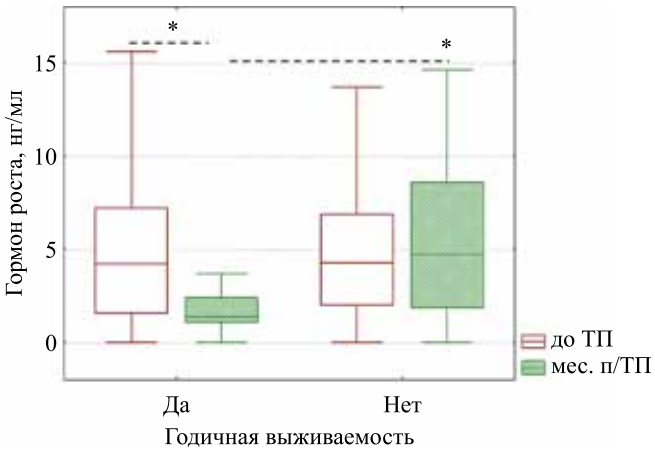


Рис. 2. Уровни гормона роста до и через месяц после трансплантации печени (ТП) у реципиентов, переживших и не переживших год, * – p < 0,05

Fig. 2. GH levels before and one month after liver transplantation in 1-year survivors and non-survivors. * – p < 0.05

плантации печени имеет место достоверное снижение уровня ГР в крови, при неблагоприятном уровень ГР не меняется. Концентрации ГР до трансплантации у переживших и не переживших год реципиентов не различались (p = 0,78); через месяц после нее содержание ГР в крови переживших год реципиентов было достоверно ниже, чем у непереживших.

Для определения возможности использовать данные о концентрации ГР в крови реципиентов через месяц для прогноза результатов через год проведен анализ зависимости между чувствительностью и специфичностью теста при различных концентрациях ГР в крови реципиентов (рис. 3).

Анализ показал, что значение площади под кривой ROC (AUC, area under the curve) составило 0,74 ± 0,10 [0,54–0,95] и статистически достоверно отличалось от величины 0,5 (p = 0,025).

Для определения диагностически значимой пороговой концентрации ГР в крови был проведен анализ на основе графиков зависимости чувствительности и специфичности теста от уровня ГР у детей-реципиентов через месяц после трансплантации печени (рис. 4).

Пороговое значение концентрации ГР, соответствующее максимальным значениям специфичности (0,614) и чувствительности (0,875) теста, составило 1,8 нг/мл. Полученный результат означает, что у пациентов с содержанием ГР после трансплантации ниже порогового значения вероятность пережить год после трансплантации составляет 61,4%, а при уровне ГР выше порогового вероятность не пережить этот период составляет 87,5%.

Расчет величины относительного риска (RR) показал, что при уровне ГР выше порогового относительный риск не пережить год составляет 9,06 ± 1,04 [ДИ 1,17–70,15], p < 0,05. Таким образом, у реципиентов с концентрацией ГР в крови через месяц после трансплантации выше 1,8 нг/мл риск не пережить год в 9 раз выше, чем у реципиентов с более низким уровнем гормона.

В табл. 2 представлены рассчитанные информативные характеристики теста.

Как видно из таблицы, точность теста составила 64%, что соответствует общей доле правильных результатов. Прогностическая значимость положительного результата, отражающая вероятность не пережить год при величине концентрации ГР выше 1,8 нг/мл, составляет 88%, а прогностическая значимость отрицательного результата, отражающая вероятность пережить год при значениях гормона ниже пороговых – 61%.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Прогнозирование результатов трансплантации печени детям имеет важное значение, так как дает возможность использовать более персонализированный подход к ведению пациентов на ранних сроках после операции. Широко применяемые в настоящее время методы прогнозирования выживаемости пациентов с печеночной недостаточностью на основе комплексных показателей или результатов биохимических исследований, отражающих функцию печени, например уровень альбумина, недостаточно эффек-

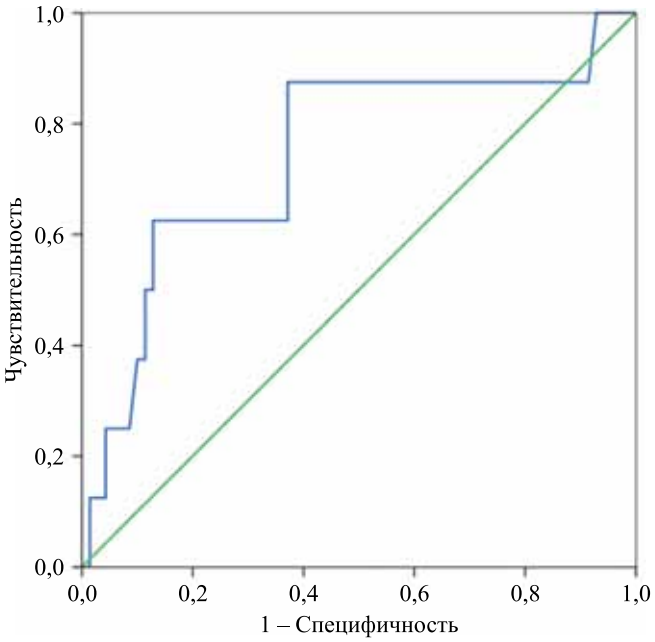


Рис. 3. ROC-анализ концентрации ГР в плазме крови детей-реципиентов через месяц после трансплантации печени для оценки годичной выживаемости, AUC = 0,74 ± 0,10; 95% ДИ 0,54–0,95, p < 0,05

Fig. 3. ROC analysis of plasma GH levels in pediatric recipients one month after LT to assess 1-year survival, AUC = 0.74 ± 0.10; 95% CI 0.54–0.95, p < 0.05

тивны; отчасти это может объясняться интенсивной заместительной терапией в раннем посттрансплантационном периоде у реципиентов печени [16–18].

Рост и масса тела детей с терминальной стадией заболеваний печени достоверно ниже, чем у здоровых детей того же возраста. В настоящем исследовании установлено, что после трансплантации печени у детей происходит восстановление массы тела до уровня здоровых детей того же возраста и имеет место тенденция к увеличению среднего роста реципиентов. Ранее в наших исследованиях было показано, что у детей с заболеваниями гепатобилиарной системы уровень ГР повышен, в сочетании с нарушением синтеза ИФР-1 в печени и снижением его содержания в крови, трансплантация печени детям сопровождается улучшением антропометрических показателей вследствие восстановления синтеза ИФР-1 клетками донорской печени и нормализации соотношений в системе «гормон роста – ИФР-1» [19, 20].

В настоящей работе установлено достоверное снижение уровня ГР в крови после трансплантации печени. Снижение ГР может объясняться продукцией ИФР-1 трансплантатом; отсутствие достоверной динамики ГР является косвенным свидетельством недостаточной продукции ИФР-1 трансплантатом, т. е. функциональной несостоятельностью трансплантата. Обнаруженные факты подтверждают наличие влияния трансплантата печени на продукцию ГР.

Результаты настоящей работы показали, что уровень ГР через месяц негативно коррелирует с результатами трансплантации через год, что позволяет предложить использовать тест на ГР в крови для прогнозирования результатов трансплантации печени детям раннего возраста.

На основе оценки диагностической эффективности уровня гормона роста с помощью общепринятых методов С-статистики – построения ROC-кривой, определения пороговых значений и расчета информативных характеристик теста – показано, что содержание ГР в крови детей – реципиентов печени через месяц после трансплантации позволяет прогнозировать годичную выживаемость с вероятностью 74 ± 10%. Уровень вероятности теста около 75% и более принято считать показателем «хорошего теста». Пороговый уровень гормона роста в крови в 1,8 нг/мл позволяет разделить реципиентов с высоким и низким риском не пережить 12 месяцев после трансплантации. У реципиентов с уровнем гормона роста

Таблица 2

**Характеристики теста для оценки годичной выживаемости реципиентов на основе определения уровня ГР через месяц после трансплантации печени**

**Characteristics of the test to assess 1-year recipient survival based on GH levels one month after LT**

| Характеристики | Значения |
|---|---|
| Площадь AUROC, 95% ДИ | 0,74 ± 0,10 [0,54–0,95]* |
| Чувствительность | 0,875 |
| Специфичность | 0,614 |
| Пороговое значение ГР | 1,8 нг/мл |
| Относительный риск, 95% ДИ | 9,06 ± 1,04 [1,17–70,15]* |
| Точность теста (Ac) | 64% |
| Прогностическая значимость положительного результата (PPV) | 88% |
| Прогностическая значимость отрицательного результата (NPV) | 61% |

* – p < 0,05.

* – p < 0.05.

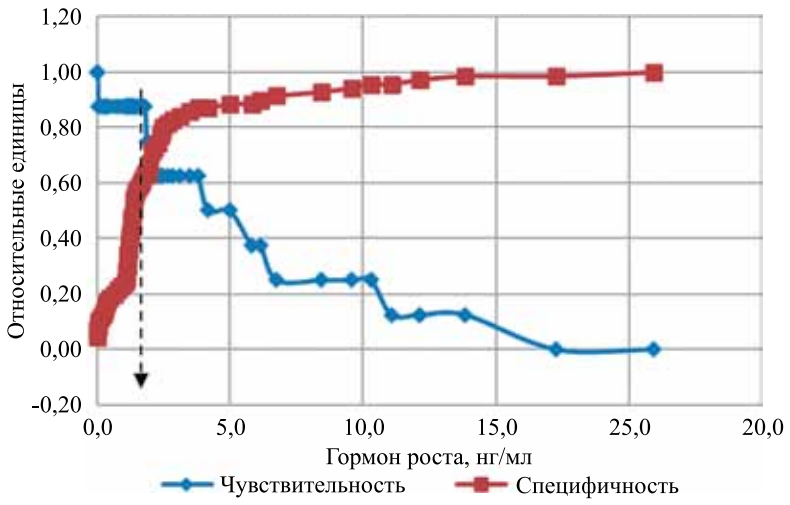


Рис. 4. Зависимость чувствительности и специфичности от уровня ГР в крови детей-реципиентов через месяц после трансплантации печени (ТП)

Fig. 4. Dependence of test sensitivity and specificity on GH concentrations in pediatric recipients one month post-LT

ниже порогового значения (1,8 нг/мл) вероятность пережить год в 9 раз выше, чем у детей с содержанием гормона выше порогового значения. Общая точность результатов данного теста составила 64%. Прогностическая значимость положительного (PPV) и отрицательного (NPV) результата составила 88 и 61% соответственно. При уровне гормона роста ниже порогового (отрицательный тест), вероятность годичного выживания составила 61%. При уровне гормона выше порогового (положительный тест) вероятность не пережить год после трансплантации – 88%. Таким образом, результаты теста с высокой вероятностью позволяют прогнозировать результаты трансплантации печени.

Полученные нами данные о связи результатов трансплантации с содержанием ГР в крови реципиентов печени согласуются с данными других авторов, показавших значение для выживаемости массы тела, которая прямо зависит от ГР. У взрослых реципиентов печени также выявлена положительная связь более низкой концентрации ГР в крови после трансплантации с 3-месячной и 3-летней выживаемостью [10, 21].

Настоящая работа является наблюдательным и ретроспективным исследованием, выдвигающим гипотезу. Для использования гормона роста в качестве объективного лабораторного критерия при прогнозировании результатов трансплантации печени детям необходимо провести проспективное клиническое исследование его диагностической эффективности.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В нашей работе показано, что уровень гормона роста в крови детей через месяц после трансплантации печени может служить позитивным прогностическим показателем результата трансплантации; у пациентов с уровнем ГР ниже порогового (1,8 нг/мл) вероятность пережить год после трансплантации может быть в 9 раз выше, чем у пациентов с уровнем гормона выше порогового. Полученные результаты могут быть полезны для персонификации ведения пациентов, а также и для понимания связей между нейроэндокринной системой и факторами, влияющими на функцию пересаженной печени.

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Moosburner S, Wiering L, Gül-Klein S, Ritschl P, Dziodzio T, Raschzok N et al*. Over 30 Years of Pediatric Liver Transplantation at the Charité-Universitätsmedizin Berlin. *J Clin Med.* 2022; 11 (4): 900. doi: 10.3390/jcm11040900.
2. *Yoon KC, Song S, Lee S, Kim OK, Hong SK, Yi NJ et al*. Outcomes of Split Liver Transplantation vs Living Donor Liver Transplantation in Pediatric Patients: A 5-Year Follow-Up Study in Korea. *Ann Transplant.* 2022; 3 (27): 935682. doi: 10.12659/AOT.
3. *Готье СВ, Хомяков СМ*. Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2021 году. XIV сообщение регистра Российского трансплантологического общества. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2022; 24 (3): 8–31. *Gautier SV, Khomyakov SM*. Organ donation and transplantation in the Russian Federation in 2021. 14th Report from the Registry of the Russian Transplant Society. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2022; 24 (3): 8–31. https://doi.org/10.15825/1995-1191-2022-3-8-31.
4. *Hong SK, Yi NJ, Hong K, Han ES, Lee JM, Choi Y et al*. Risk Factors Affecting Outcomes in Pediatric Liver Transplantation: A Real-World Single-Center Experience. *Ann Transplant.* 2021; 28 (26): 929145. doi: 10.12659/AOT.
5. *Minich A, Arisar FAQ, Shaikh NS, Herman L, Azhie A, Orchanian-Cheff A et al*. Predictors of patient survival following liver transplant in non-alcoholic steatohepatitis: A systematic review and meta-analysis. *EClinicalMedicine.* 2022; 50: 101534. doi: 10.1016/j.eclinm.2022.101534.
6. *Berryman DE, Christiansen JS, Johannsson G, Thorner MO, Kopchick JJ*. Role of the GH/IGF-1 axis in lifespan and healthspan: lessons from animal models. *Growth Horm IGF Res.* 2008; 18 (6): 455–471. doi: 10.1016/j.ghir.2008.05.005.
7. *Junnila RK, List EO, Berryman DE, Murrey JW, Kopchick JJ*. The GH/IGF-1 axis in ageing and longevity. *Nat Rev Endocrinol.* 2013; 9 (6): 366–376. doi: 10.1038/nrendo.2013.67.
8. *Maes M, Sokal E, Otte JB*. Growth factors in children with end-stage liver disease before and after liver transplantation: a review. *Pediatr Transplant.* 1997; 1 (2): 171–175.
9. *Takahashi Y*. The Role of Growth Hormone and Insulin-Like Growth Factor-I in the Liver. *Int J Mol Sci.* 2017; 18 (7): 1447. doi: 10.3390/ijms18071447.
10. *Nicolini D, Mocchegiani F, Palmonella G, Coletta M, Brugia M, Montalti R et al*: Postoperative Insulin-Like Growth Factor 1 Levels Reflect the Graft's Function and Predict Survival after Liver Transplantation. *PLoS One.* 2015; 10 (7): e0133153. doi: 10.1371/journal.pone.0133153.
11. *Wu D, Zhang L, Ma S, Zhao Y, Chen R, Zhang F et al*. Low Growth Hormone Levels Predict Poor Outcome of Hepatitis B Virus-Related Acute-on-Chronic Liver Failure. *Front Med.* 2021; 8: 655863. doi: 10.3389/fmed.2021.655863.
12. *Dichtel LE, Cordoba-Chacon J, Kineman RD*. Growth hormone and insulin-like growth factor I regulation of nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2022; 107 (7): 1812–1824. doi: 1210/clinem/dgac088.

13. *Abdel-Wahab R, Hassan MM, George B, Carmagnani Pestana R, Xiao L, Lacin S et al*. Impact of Integrating Insulin-Like Growth Factor 1 Levels into Model for End-Stage Liver Disease Score for Survival Prediction in Hepatocellular Carcinoma Patients. *Oncology.* 2020; 98 (12): 836–846. doi: 10.1159/000502482.
14. *Liu Z, Cordoba-Chacon J, Kineman RD, Cronstein BN, Muzumdar R, Gong Z et al*. Growth Hormone Control of Hepatic Lipid Metabolism. *Diabetes.* 2016; 65 (12): 3598–3609. doi: 10.2337/db16-0649.
15. WHO Child Growth Standards based on length/height, weight and age. *Acta Paediatr Suppl.* 2006; 450: 76–85. doi: 10.1111/j.1651-2227.2006.tb02378.x.
16. *Wong CS, Lee WC, Jenq CC, Tian YC, Chang MY, Lin CY et al*. Scoring short-term mortality after liver transplantation. *Liver Transpl.* 2010; 16 (2): 138–146. doi: 10.1002/lt.21969.
17. *Hayashi PH, Forman L, Steinberg T, Bak T, Wachs M, Kugelmas M et al*. Model for End-Stage Liver Disease score does not predict patient or graft survival in living donor liver transplant recipients. *Liver Transpl.* 2003; 9 (7): 737–740. doi: 10.1053/jlts.2003.50122.
18. *Pan HC, Jenq CC, Lee WC, Tsai MH, Fan PC, Chang CH et al*. Scoring systems for predicting mortality after liver transplantation. *PLoS One.* 2014; 9 (9): e107138. doi: 10.1371/journal.pone.0107138.
19. *Шевченко ОП, Цирульникова ОМ, Цирульникова ИЕ, Курабекова РМ, Олефиренко ГА, Степанова ОИ, Готье СВ*. Динамика инсулиноподобного фактора роста 1 (ИФР-1) при трансплантации печени детям от донора, не совместимого по группе крови. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2014; 16 (2): 46–51. *Shevchenko OP, Tsirulnikova OM, Tsirulnikova IE, Kurabekova RM, Olefirenko GA, Stepanova OI, Gautier SV*. Dynamics of insulin-like growth factor-1 (igf-1) in children after ab0-incompatible liver transplantation. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2014; 16 (2): 46–51. (In Russ.) https://doi.org/10.15825/1995-1191-2014-2-46-51.
20. *Курабекова РМ, Цирульникова ОМ, Пашкова ИЕ, Макарова ЛВ, Можейко НП, Монахов АР, Шевченко ОП*. Связь уровней гормона роста и инсулиноподобного фактора роста 1 (ИФР-1) с функцией печени и краткосрочной выживаемостью детей – реципиентов печени. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* 2020; 30 (4): 44–51. *Kurabekova RM, Tsiroulnikova OM, Pashkova IE, Makarova LV, Mozheiko NP, Monakhov AR, Shevchenko OP*. Association between Growth Hormone and Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1) Levels, Liver Function and Short-Term Survival of Paediatric Liver Recipients. *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*. 2020; 30 (4): 44–51. (In Russ.) https://doi.org/10.22416/1382-4376-2020-30-4-44-51.
21. *Salso A, Tisone G, Tariciotti L, Lenci I, Manzia TM, Baiocchi L*. Relationship between GH/IGF-1 axis, graft recovery, and early survival in patients undergoing liver transplantation. *Biomed Res Int.* 2014; 2014: 240873. doi: 10.1155/2014/240873.

*Статья поступила в редакцию 14.04.2023 г.*
*The article was submitted to the journal on 14.04.2023*

DOI: 10.15825/1995-1191-2023-2-148-157

# ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ И ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ТРАНСФОРМИРУЮЩЕГО ФАКТОРА РОСТА β1 ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СОЛИДНЫХ ОРГАНОВ: РЕЗУЛЬТАТЫ ПОСЛЕДНИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

*С.О. Шарапченко[1], А.А. Мамедова[1], О.П. Шевченко[1, 2]*

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

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

Клинические результаты трансплантации солидных органов зависят от многих факторов, и главным среди них остается риск развития посттрансплантационных осложнений, ограничивающих выживаемость аллотрансплантата и реципиента. Концепция многофакторности повреждения органа при развитии посттрансплантационных осложнений и поиск диагностических и прогностических индикаторов патологии способствовали изучению и отбору широкого спектра протеомных и молекулярно-генетических биомаркеров, показавших эффективность при трансплантации солидных органов. Применение биомаркеров открывает дополнительные возможности для оценки риска осложнений и ранней диагностики последних, что потенциально способствует сокращению частоты инвазивных диагностических процедур. Трансформирующий фактор роста-β1 (TGF-β1) регулирует множество биологических процессов, обладает противовоспалительным и иммуносупрессивным действием, участвует в развитии иммунного ответа, а также играет ключевую роль в синтезе белков внеклеточного матрикса, дисрегуляция которого приводит к гиперпролиферации фибробластов и повышенному синтезу коллагена, и как следствие к фиброзу тканей. Вариативность диагностического и прогностического потенциала TGF-β1 показана в результатах исследований реципиентов различных солидных органов. Целью настоящего обзора стал анализ последних данных о роли TGF-β1 в развитии посттрансплантационных осложнений, а также оценка перспективы его применения как маркера патологии трансплантата или в качестве мишени для терапии.

*Ключевые слова: трансплантация солидных органов, диагностика осложнений, трансформирующий фактор роста бета, TGF-β1, биомаркеры, фиброз, отторжение, нефротоксичность.*

# DIAGNOSTIC AND THERAPEUTIC POTENTIAL OF TRANSFORMING GROWTH FACTOR BETA 1 IN SOLID ORGAN TRANSPLANTATION: RECENT RESEARCH FINDINGS

*S.O. Sharapchenko[1], A.A. Mamedova[1], O.P. Shevchenko[1, 2]*

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

[2] Sechenov University, Moscow, Russian Federation

Clinical outcomes of solid organ transplantation depend on many factors. One of the main factors is the risk of post-transplant complications, which affect allograft and recipient survival. Multifactorial organ damage in post-transplant complications and the search for diagnostic and prognostic indicators of the condition have contributed to the study and selection of a wide range of proteomic and molecular genetic biomarkers, which have

**Для корреспонденции:** Шарапченко Софья Олеговна. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (499) 193-87-62. E-mail: transplant2009@mail.ru

**Corresponding author:** Sofya Sharapchenko. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (499) 193-87-62. E-mail: transplant2009@mail.ru

shown to be effective in solid organ transplantation. The use of biomarkers opens up additional possibilities for assessing the risk of complications and their early diagnosis. This potentially reduces the frequency of invasive diagnostic procedures. Transforming growth factor beta 1 (TGF-β1) regulates many biological processes, has anti-inflammatory and immunosuppressive effects, participates in immune response, and plays a key role in extracellular matrix (ECM) protein synthesis. ECM dysregulation leads to fibroblast hyperproliferation and increased collagen synthesis and, consequently, tissue fibrosis. The variability of the diagnostic and prognostic potential of TGF-β1 has been demonstrated in studies on recipients of various solid organs. The objective of this review is to analyze recent evidence on the role of TGF-β1 in the development of post-transplant complications and to assess its prospects as a marker of graft pathology or as a target for therapy.

*Keywords: solid organ transplantation, complications diagnosis, transforming growth factor beta, TGF-β1, biomarkers, fibrosis, rejection, nephrotoxicity.*

## ВВЕДЕНИЕ

Клинические результаты трансплантации солидных органов зависят от многих факторов, и главным среди них остается риск развития посттрансплантационных осложнений, ограничивающих выживаемость аллотрансплантата и реципиента. Концепция многофакторности повреждения органа при развитии посттрансплантационных осложнений и поиск диагностических и прогностических индикаторов патологии способствовали изучению и отбору широкого спектра протеомных и молекулярно-генетических биомаркеров, показавших эффективность при трансплантации сердца, печени, почек и легких.

Применение биомаркеров открывает дополнительные возможности для оценки риска осложнений и ранней диагностики последних, что потенциально способствует сокращению частоты инвазивных диагностических процедур [1].

Важным биомаркером посттрансплантационных осложнений выступает трансформирующий фактор роста бета 1 (TGF-β1), который регулирует множество биологических процессов, обладает противовоспалительным и иммуносупрессивным действием, участвует в развитии иммунного ответа, а также играет ключевую роль в синтезе белков внеклеточного матрикса, дисрегуляция которого приводит к гиперпролиферации фибробластов и повышенному синтезу коллагена, и как следствие к фиброзу тканей [2]. TGF-β1 участвует в патогенезе многих заболеваний, и что особенно привлекательно, обладает высоким терапевтическим потенциалом [3].

Целью настоящего обзора стал анализ последних данных о роли TGF-β1 в развитии посттрансплантационных осложнений у реципиентов солидных органов, а также оценка перспективы его применения как маркера патологии трансплантата или в качестве мишени для терапии.

## СТРУКТУРА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ

TGF-β1 – один из компонентов суперсемейства TGF-β, члены которого получали свои названия в соответствии с историей их молекулярной идентификации и включают активины (ACT), ингибрины (INH), костные морфогенетические белки (BMP), факторы дифференцировки роста (GDF), ингибирующее вещество Мюллера (MIS) [4]. TGF-β представляет собой гомодимер, состоящий из двух полипептидных цепей, каждая из которых содержит 112 аминокислотных остатков, соединенных дисульфидной связью и образующих комплекс общей молекулярной массы 25 кДа. В настоящее время известно три изоформы TGF-β: TGF-β1 (наиболее распространенный), TGF-β2 и TGF-β3 [5].

Изначально TGF-β относили к иммуномодулирующим цитокинам, индуцирующим и поддерживающим иммунную толерантность. TGF-β1 оказывает противовоспалительное и иммуносупрессивное действие за счет продукции цитокина Т-лимфоцитами; TGF-β2 участвует в развитии иммунной толерантности и эффективен в подавлении воспалительных реакций макрофагов. Однако несмотря на структурные сходства изоформ, все больше данных указывает на различия их биологических свойств: было показано, что TGF-β1 и TGF-β2 обладают преимущественно профибротическим эффектом, а TGF-β3, напротив, охарактеризован как фибромодулирующий партнер для двух других изоформ [6].

Биологические функции TGF-β реализуются через одноименные рецепторы TGFβRI, -II и -III. Когда TGF-β связывается с рецепторами, запускается активация сигнальных путей, включая Smad-зависимые.

Активированный TGF-β оказывает влияние на пролиферацию, дифференциацию и миграцию клеток частично благодаря своей способности инициировать осаждение белков внеклеточного матрикса (ВКМ), таких как коллаген, эластин, фибронектин. В частности, изоформы TGF-β обладают способностью индуцировать экспрессию этих белков в мезенхимальных клетках и стимулировать выработку ингибиторов протеазы, которые предотвращают ферментативное расщепление ВКМ. Дисрегуляция этих функций приводит к изменению в клеточной структуре, взамен эпителиальным свойствам клетки приобретают мезенхимальные [7].

Таким образом, различия эффектов TGF-β могут быть обусловлены разнообразием каскадов активации в различных типах клеток, особенностями клеточной среды, а также влиянием других регуляторных молекул.

## TGF-β1 И SMAD В РАЗВИТИИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Smad – основная группа медиаторов биологического действия TGF-β, которые активируются при развитии широкого круга патологических процессов как у людей, так и у животных [8].

Были идентифицированы три класса факторов транскрипции Smads, включая регулируемые рецепторами Smads (R-Smads), общие Smads (Co-Smads) и ингибирующие Smads (I-Smads). R-Smads, включая Smad1–Smad3, Smad5 и Smad8, напрямую активируются через фосфорилирование TGFβRI. Как только Smad2 и Smad3 активируются, они связываются со Smad4 с образованием гетеро-олигомерного комплекса Smad2–Smad3–Smad4, который может перемещаться в ядро клетки для регуляции транскрипции, чтобы напрямую связываться с последовательностями ДНК и регулировать гены-мишени [9].

Известно, что Smad3 оказывает профибротический эффект и участвует в патогенезе заболеваний почек; Smad2 и Smad7 осуществляют защитные функции; Smad4 выполняет двоякую роль: с одной стороны, способствует Smad3-зависимому фиброзу почек, с другой – подавляет NF-κB-опосредованное воспаление с помощью Smad7-зависимого механизма [10].

Поскольку комплекс TGF-β/Smad3 участвует в транскрипции ряда генов, это позволяет рассматривать TGF-β в качестве перспективного маркера структурных изменений органов, а факторы транскрипции Smad – в качестве мишени для коррекции данных процессов [11].

## СВЯЗЬ TGF-β1 С БИОМАРКЕРАМИ ПОСТТРАНСПЛАНТАЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ: МИКРОРНК

МикроРНК – группа малых некодирующих РНК длиной около 22 нуклеотидов, циркулирующих в биологических жидкостях и регулирующих экспрессию генов на посттранскрипционном уровне [12]. Последние исследования показали перспективность применения данного класса сигнальных молекул для диагностики осложнений после трансплантации солидных органов, а также в качестве потенциальных мишеней для терапии [13].

Удалось выделить целый ряд микроРНК, участвующих в реакциях иммунного ответа и развитии структурных изменений трансплантированных органов (первичной дисфункции, фиброза, острого клеточного и гуморального отторжения). При анализе механизмов действия некоторых микроРНК обнаружена связь с сигнальными путями TGF-β.

Имеются данные об участии микроРНК в воспалении и фиброгенезе почек и регулируемых TGF-β1 через Smad3-механизм: miR-21, miR-93, miR-192, miR-216a, miR-377, miR-29, miR-200 [14].

В исследовании X.L. Zhang et al. показано, что сверхэкспрессия miR-27 повышает активность кардиомиоцитов и ингибирует апоптоз, действие опосредовано через рецептор TGFβRI [15].

H.I. Suzuki с коллегами показали, что miR-27 при участии TGF-β положительно регулирует индукцию мезенхимального гена [16]. В работах X.H. Wang et al. циркулирующая miR-27 описана и в качестве регулятора миогенеза через сигнальный путь TGF-β: повышение экспрессии miR-27 сопровождалось сокращением уровня миостатина и пролиферацией мышечных клеток [17].

Проводились исследования влияния miR-27 на развитие облитерирующего бронхиолита, хронического отторжения и фиброзной облитерации мелких дыхательных путей после трансплантации легких. В экспериментах на модели ортотопической трансплантации трахеи у мышей было показано защитное действие miR-27a-3p путем регуляции TGF-β и Smad2/Smad4, а также за счет поддержания дендритных клеток в незрелом состоянии [18]. Авторы указывают на двоякую роль TGF-β, заключающуюся, с одной стороны, в индуцировании толерантности, с другой – в стимуляции трансдифференцировки миофибробластов.

Участие miR-27 в механизмах развития фиброза миокарда, синдрома облитерирующего бронхиолита, а также формировании иммунного ответа через влияние на TGF-β отражает перспективность последнего в качестве маркера структурных изменений трансплантированных органов. Подтверждение этому находят и наши более ранние исследования, в которых показана связь сверхэкспрессии miR-27 и -339 в плазме крови реципиентов с наличием гистологических признаков фиброза миокарда трансплантированного сердца [19]. Вместе с тем у реципиентов сердца с острым клеточным отторжением отмечается значимое снижение уровня miR-27 по сравнению с реципиентами без признаков отторжения [20].

Недавние исследования W. Cuiqiong et al. показали, что члены семейства miR-101 играют важную роль в патогенезе фиброза печени. Посредством сигнального пути TGF-β miR-101 регулирует активацию звездчатых клеток печени, индуцирует накопление в них белков внеклеточного матрикса [21].

В работах X. Li [22] и Z. Pan [23] показано, что miR-101 блокирует сигнальный путь TGF-β1/Smad2 путем подавления RUNX1, что препятствует развитию постинфарктного ремоделирования миокарда.

Сверхэкспрессия miR-142-3p в клетках альвеолярного эпителия и фибробластах легких способна снижать экспрессию TGFβ-R1 и профибротических генов. Кроме того, экзосомы, выделенные из макрофагов, обладают антифибротическими свойствами, частично обусловленными подавлением TGFβ-R1 переносом miR-142-3p в клетках-мишенях. Таким образом, экзосомы могут препятствовать прогрессированию легочного фиброза посредством доставки антифибротического miR-142-3p к эпителиальным клеткам альвеол и фибробластам легких [24].

## TGF-β1 У РЕЦИПИЕНТОВ СОЛИДНЫХ ОРГАНОВ

Широкий спектр иммунных и неиммунных клеток, таких как Т-лимфоциты, моноциты, сосудистый эндотелий и стромальные клетки, продуцируют TGF-β в различных условиях. Согласно многочисленным данным, уровень TGF-β1 в крови у здоровых людей варьирует в широких пределах (от 0,5 до 80 нг/мл) и не зависит от пола [25, 26], однако может изменяться в зависимости от возраста. Более подробно данный факт был освещен в работе Y. Okamoto et al.: в сыворотке крови здоровых детей до 14 лет отмечались значимо более высокие концентрации TGF-β1 в сравнении с группой взрослых здоровых лиц ($p < 0,01$), что, очевидно, служит разумным основанием к изучению TGF-β1 у пациентов в соответствии с их принадлежностью к соответствующей возрастной группе [27]. Эти результаты подтверждаются и нашими исследованиями, показавшими почти трехкратные различия уровня TGF-β1 в плазме здоровых детей и взрослых [28].

Будучи многофункциональным цитокином, TGF-β1 синтезируется широким спектром клеток в различных тканях и органах, стимулируя аккумуляцию белков внеклеточного матрикса.

## TGF-β1 У РЕЦИПИЕНТОВ ПЕЧЕНИ

Главным источником TGF-β1 в тканях печени выступают звездчатые клетки, профибротические свойства которых активируются под воздействием различных факторов [29].

В этом аспекте содержание TGF-β1 может рассматриваться в качестве диагностического или прогностического маркера патологии печени. Исследования педиатрической группы пациентов с терминальной стадией печеночной недостаточности, проводимые в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, показали связь уровня TGF-β1 с наличием патологии, и более того, степенью поражения органа [30].

Клинические исследования пациентов, перенесших трансплантацию печени, показали тенденцию к повышению содержания TGF-β1 в крови при сохранной функции трансплантата (44,7 ± 7 нг/мл) в сравнении с реципиентами, имеющими в анамнезе кризы отторжения (32,7 ± 3 нг/мл) [31].

## TGF-β1 У РЕЦИПИЕНТОВ ПОЧКИ

Источником TGF-β в почке являются клетки паренхимы, лимфоциты или циркулирующие в крови молекулы TGF-β. Внеклеточная концентрация TGF-β в первую очередь регулируется преобразованием неактивного TGF-β в активную форму, что нередко упускается исследователями ввиду сложности биологической природы TGF-β [32].

Величина уровня TGF-β1 в плазме крови является потенциальным индикатором прогрессирования хронической болезни почек [33]. Эксперименты на животных показали, что сверхэкспрессия TGF-β1 в почках индуцировала интерстициальную пролиферацию, аэрофагию эпителия канальцев и фиброз почки с аккумуляцией внеклеточного матрикса в тубулоинтерстиции, капиллярах и клубочках, сопровождающейся снижением скорости клубочковой фильтрации [34]. Прогрессирующий фиброз почек способствовал нарушению функции нефронов и альбуминурии [35]. Генетически обусловленный дефицит TGF-β1 у мышей также приводил к воспалению сразу нескольких органов, в том числе почек [36].

Влияние TGF-β на трансплантированную почку изучено недостаточно. Исследование уровня TGF-β1 в отдаленные сроки (6 месяцев) после трансплантации почки показало более высокие значения в группе реципиентов с хроническим отторжением по сравнению с группой без такового, также имела место положительная корреляция содержания TGF-β1 с общим показателем содержания клеточного инфильтрата в биоптатах почки. Важно, что у пациентов в обеих группах в анамнезе были эпизоды острого отторжения, подтвержденные биопсией, что характеризует TGF-β именно как маркер хронического отторжения [37].

Однако X.X. Du et al. обнаружили, что уровень TGF-β1 в крови прямо коррелирует с длительностью выживаемости трансплантата [38]. Вместе с тем уровень TGF-β1 положительно коррелировал с расчетной скоростью клубочковой фильтрации и отрицательно – с уровнем креатинина в сыворотке крови.

Недавнее обсервационное когортное исследование реципиентов и доноров почки в 1271 паре показало, что частота генотипа rs1800472 донора в TGF-β1 значительно различалась у реципиентов с сохранен-

ной функцией трансплантата и без нее (p = 0,014), а реципиенты, которым была пересажена почка, несущая Т-аллель полиморфизма rs1800472 TGF-β1, имели более высокий риск потери трансплантата в отдаленные сроки. Учитывая, что Т-аллель имеет более низкий уровень экспрессии TGF-β1, эти результаты позволяют сделать вывод о позитивном влиянии передачи сигналов TGF-β1 на отдаленную выживаемость трансплантированной почки [39].

Ввиду как профиброгенного, так и защитного эффекта TGF-β1 в литературе встречаются противоречивые данные о влиянии этого фактора роста на выживаемость почечного трансплантата.

## TGF-β1 У РЕЦИПИЕНТОВ СЕРДЦА

Инфильтрация макрофагами, подавление функции лимфоцитов, пролиферация фибробластов и синтез коллагена – важные процессы, регулируемые TGF-β1 и влекущие развитие хронической сердечной недостаточности (ХСН). В сердце TGF-β1 синтезируется кардиомиоцитами и фибробластами, высвобождается при инфаркте миокарда, перегрузке давлением, введении ангиотензина II и норадреналина, ингибируется оксидом азота [40].

Многочисленные исследования пациентов с хронической сердечной недостаточностью показывают, что экспрессия генов коллагена I и III типа ассоциирована с TGF-β1 [41]. Исследование пациентов с дилатационной кардиомиопатией в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России показало соответствующие результаты: уровень TGF-β1 в плазме крови пациентов с ХСН был выше, чем у здоровых лиц (29,9 ± 19,7 нг/мл *vs* 8,7 ± 7,5 нг/мл, p = 0,001) [42]. При этом после трансплантации сердца уровень TGF-β1 в плазме крови реципиентов значимо снижался, а в отдаленные сроки достигал уровня, характерного для здоровых лиц.

Очевидно, что роль TGF-β1 при патологии трансплантата у реципиентов сердца представляет отдельный практический интерес. Выявление фиброза миокарда, ассоциированного с терапией циклоспорином, послужило основанием для предположения о том, что данный препарат может способствовать развитию диастолической дисфункции сердечного аллотрансплантата [43]. При этом эффекты TGF-β1 на пролиферацию фибробластов сердца различны. В некоторых исследованиях сообщалось, что TGF-β1 стимулирует пролиферацию сердечных фибробластов, тогда как в других продемонстрированы его антипролиферативные эффекты [44]. Столь различающиеся результаты могут объясняться возможными различиями в дифференцировке популяций фибробластов, а также влиянием иных факторов роста.

Пятилетнее наблюдение E. Aziz за 152 реципиентами сердца позволило оценить величину экспрессии TGF-β1 в сердечных трансплантатах [45]. Согласно полученным результатам, частые эпизоды клеточного отторжения в течение первых двух лет после трансплантации сопровождались более высоким содержанием TGF-β1 в тканях и инициировали серию воспалительных и иммунных ответов с последующим нарушением диастолической функции и фиброзом миокарда. В другом исследовании авторам удалось показать связь экспрессии TGF-β1 в образцах биопсии трансплантированного сердца с развитием васкулопатии и низкими показателями выживаемости [46].

У реципиентов сердца с генотипом AA полиморфизма rs1800470 гена TGF-β1 фиброз миокарда, верифицированный по результатам эндомиокардиальной биопсии, выявлялся чаще, нежели у носителей аллеля G, что также может указывать на связь полиморфизма гена TGF-β1 с фиброзом миокарда трансплантата [47].

## TGF-β1 У РЕЦИПИЕНТОВ ЛЕГКИХ

По данным Международного общества трансплантации сердца и легких, пятилетняя выживаемость реципиентов легких составляет около 53%. Основным фактором, ограничивающим отдаленную выживаемость, выступает хроническое отторжение трансплантата, гистологически характеризующееся синдромом облитерирующего бронхиолита (СОБ), вызванным воспалительным или фиброзным процессом в бронхиолах [48]. Физиологически СОБ сопровождается ограничением воздушного потока ввиду существенных структурных изменений трансплантата (частичной или полной окклюзией просвета дыхательных путей). Окклюзия часто связана с разрушением гладкомышечных и эластиновых волокон дыхательных путей, и среди множества цитокинов и факторов роста наиболее значимая роль в данном процессе принадлежит TGF-β [49].

В ряде исследований авторами изучались механизмы развития СОБ и была установлена прямая зависимость частоты данного осложнения от уровня экспрессии TGF-β1 [50]. Более того, еще в 1997 г. в эксперименте на мышах было показано прямое влияние экспрессии TGF-β на развитие тяжелого интерстициального фиброза [51], а в 1998 г. J. Charpin et al. показали, что экспрессия TGF-β возрастает у реципиентов легких еще до проявления явных клинических признаков СОБ [52]. Так, у нескольких пациентов максимальные значения содержания TGF-β1 в ткани были зафиксированы за несколько месяцев до постановки диагноза СОБ, и эти пациенты скончались в течение 2 лет после постановки диагноза. Описан-

ные результаты позволили рассматривать повышение уровня TGF-β в качестве раннего прогностического маркера хронического отторжения трансплантированных легких.

Ряд исследований также демонстрируют механизм активации сигнального каскада TGFβ/Smad в процессах фиброгенеза в легочном трансплантате, а концепция ингибирования TGF-β как мишени для терапии лежит в основе большинства идей, направленных на улучшение результатов трансплантации легких [53, 54].

## TGF-β1 И ИММУНОСУПРЕССИЯ

Применение ингибиторов кальциневрина привело к значительным достижениям в области трансплантации с отличным краткосрочным результатом. Так, с 1970-х годов циклоспорин А (CsA) произвел настоящую революцию в трансплантологии благодаря иммунодепрессивному действию [55]. Позже, в 1984 году, были обнаружены мощные иммуносупрессивные свойства такролимуса [56].

Однако, несмотря на почти полувековой опыт успешного применения данных препаратов, ахиллесовой пятой большинства иммуносупрессивных схем остается широкий круг побочных эффектов, сокращающих отдаленную выживаемость реципиентов, и главный из них – нефротоксичность.

Развитие фиброза происходит посредством индукции процессов эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМТ) TGF-β1, продуцируемого поврежденными клетками паренхимы и макрофагами. Запуск сигнального каскада PI3K/Akt/GSK-3β приводит к повышенной экспрессии Ser-9-фосфорилированной неактивной формы GSK-3β и накоплению β-катенина в цитоплазме с последующей ядерной транслокацией [57]. Факт участия TGF-β1 в CsA-индуцированном ЭМТ позволяет оценить возможные пути ингибирования данного процесса.

В недавнем исследовании R.R. Nagavally et al. описана нефропротекторная роль природного флавоноида – кризина, который ингибировал передачу сигналов TGF-β1 и препятствовал накоплению цитоплазматического β-катенина. Авторы приводят многообещающие результаты и указывают на эффективность и безопасность применения CsA в сочетании с кризином, что позволит значительно снизить нежелательные эффекты от иммуносупрессивной терапии [58].

Поскольку такролимус прямо или косвенно индуцирует экспрессию TGF-β1, разрабатываются пути борьбы с хронической нефропатией и в отношении схем иммуносупрессивной терапии [59].

L.Y. Zhang с коллегами на крысах изучили влияние традиционного китайского фитотерапевтического средства, применяемого при различных воспалительных процессах в почках, на действие такролимуса. В ходе экспериментов совместное применение препаратов подавляло экспрессию TGF-β1/Smad2/3/βig-h3 и провоспалительных цитокинов, а также ослабляло оксидативный стресс и апоптоз [60].

В дополнение стоит отметить, что оппортунистическая инфекция остается серьезным осложнением на протяжении всего срока после трансплантации, ставя под угрозу преимущества любой длительной иммуносупрессивной терапии. С этой точки зрения немалый интерес представляют данные F. Boix о TGF-β1 как о предикторе развития оппортунистических инфекций в первый год после трансплантации печени и почки [61]. В своем исследовании авторы приводят пороговые концентрации TGF-β1 у реципиентов печени и почки (363,2 и 808,5 пг/мл соответственно), превышение которых свидетельствует о высоком риске развития инфекционных осложнений, а чувствительность и специфичность разработанного теста составила более 70%.

Таким образом, регуляция TGF-β выступает важным этиологическим фактором хронической нефротоксичности и других осложнений, вызванных приемом иммуносупрессантов, а воздействие на этот путь способно снизить нежелательные эффекты от терапии и потенциально улучшить отдаленные результаты трансплантации.

## TGF-β1 КАК МИШЕНЬ ДЛЯ ТЕРАПИИ

Одна из главных задач трансплантологии – достижение длительной выживаемости трансплантата и реципиента, снижение возможных рисков после трансплантации. Наряду с разработкой новых эффективных методов диагностики осложнений ведутся активные поиски терапевтических мишеней как возможного пути решения проблемы.

Данные о роли TGF-β в развитии фиброза стали прорывными и стимулировали рост числа исследований, направленных на поиск новых лекарственных средств, среди которых антисмысловые олигонуклеотиды, нейтрализующие антитела, циклические пентапептиды, ловушки для лигандов TGF-β и ингибиторы маломолекулярной киназы и др. [62].

Впервые, чтобы остановить прогрессирующий фиброз при экспериментальном гломерулонефрите, W.A. Border et al. применили инъекции *in vivo* анти-TGF-β1 нейтрализующих антител. Введение анти-TGF-β1 антител при остром мезенхимальном пролиферативном гломерулонефрите подавляло выработку белков внеклеточного матрикса и замедляло прогрессирование фиброза, что было гистологически подтверждено [63].

Другим исследованием, направленным на разработку экспериментальной терапии, было введение антител против рецептора TGF-β II типа (TGFβRII), ингибирующих разрастание мезенхимального матрикса, что подтверждалось снижением протеинурии в сравнении с контрольной группой крыс с гломерулонефритом [64].

В настоящее время разрабатываются препараты, нацеленные на представителей суперсемейства TGF-β или их рецепторы, испытываются десятки противофиброзных агентов с различными мишенями, в основном – химически синтезированные олигонуклеотиды. Например, инъекции miR-326 мышам с индуцированным фиброзом легких сопровождались противофиброзными эффектами за счет регуляции Smad7 и значимого снижения TGF-β1, Smad3, матричной металлопротеиназы-9 (MMP-9) [65].

Доклиническими испытаниями показана эффективность терапии антисмысловыми олигонуклеотидами**,** ингибирующими экспрессию гена TGF-β и снижающими фиброзирование ткани при гломерулонефрите [66]. Также изучаются возможности высокоселективных антител SRK-181, ключевой механизм которых состоит в предотвращении расщепления предшественника TGF-β1 и высвобождении зрелого TGF-β1 [67].

Еще один высокоэффективный селективный ингибитор – AVID200 нацелен на измененный рецептор TGFβRII. Он усиливает связывающую активность TGFβRII с TGF-β1 и TGF-β3, и таким образом, значительно снижает связывающую активность с TGF-β2 [68].

В работе T. Luangmonkong et al. не обнаружили видимых побочных эффектов пожизненной блокировки активности TGF-β у мышей, хотя в организме человека его длительное системное подавление влекло высокий риск токсичности терапии и снижение регенеративной функции тканей, что обусловлено функциональной плейотропностью TGF-β [69].

Опубликованные к настоящему времени результаты раскрывают сложность процесса разработки терапевтических подходов с применением TGF-β1 в организме человека, которые требуют всестороннего изучения для минимизации нежелательных эффектов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Состоятельность концепции применения TGF-β1 в качестве диагностического и прогностического маркера риска нежелательных событий при трансплантации солидных органов находит подтверждение в многочисленных исследованиях последних лет. Как на экспериментальных моделях, так и в клинике показана ключевая роль TGF-β1 в широком спектре биологических процессов: механизмах фиброзирования тканей аллотрансплантата, формировании иммунной толерантности, в каскаде воспалительных реакций на фоне нефротоксичности применяемых иммуносупрессивных препаратов. В центре внимания исследователей по-прежнему остается вопрос о роли TGF-β1 при наиболее тяжелых посттрансплантационных осложнениях – отторжении и фиброзе трансплантата.

Вариативность диагностического и прогностического потенциала TGF-β1 показана в результатах исследований реципиентов различных солидных органов. Так, после трансплантации легких развитие облитерирующего бронхиолита и хронического отторжения сопряжено с повышением концентрации TGF-β1 в крови реципиентов, а при трансплантации печени, напротив, нежелательные события (прогрессирование печеночной недостаточности и фиброз) ассоциированы со снижением уровня TGF-β1, и его более высокие значения характерны для реципиентов с сохранной функцией трансплантата печени. Исследования при трансплантации сердца и почки демонстрируют противоречивые данные о профибротических и антипролиферативных эффектах TGF-β1.

Не менее важен факт изменения содержания TGF-β1 с возрастом, что влечет необходимость отдельного изучения TGF-β1 в педиатрической группе реципиентов.

Участие TGF-β1 в механизмах реакции отторжения и фиброза открывает перспективы для применения в реальной клинической практике в качестве диагностического маркера и мишени для терапии, однако неоднозначность описанных в современной литературе эффектов, обусловленных плейотропностью TGF-β1, требует проведения дальнейших исследований в этой области.

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Choi J, Bano A, Azzi J.* Biomarkers in Solid Organ Transplantation. *Clin Lab Med.* 2019; 39 (1): 73–85.
2. *Tzavlaki K, Moustakas A*. TGF-β Signaling. *Biomolecules*. 2020; 10 (3): 487.
3. *Zhang H, Yang P, Zhou H, Meng Q, Huang X*. Involvement of Foxp3-expressing CD4+ CD25+ regulatory T cells in the development of tolerance induced by transforming growth factor-beta2-treated antigen-presenting cells. *Immunology.* 2008; 124: 304–314.
4. *Javelaud D, Mauviel A*. Mammalian transforming growth factor-βs: smad signaling and physio-pathological roles. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 2004; 36 (7): 1161–1165.

5. *Poniatowski LA, Wojdasiewicz P, Gasik R, Szukiewicz D.* Transforming growth factor beta family: insight into the role of growth factors in regulation of fracture healing biology and potential clinical applications. *Mediators Inflamm.* 2015; 2015: 137823.
6. *Wilson SE.* TGF beta-1, -2 and -3 in the modulation of fibrosis in the cornea and other organs. *Exp Eye Res.* 2021; 207: 108594.
7. *Verrecchia F, Mauviel A.* Transforming growth factor-β signaling through the smad pathway: role in extracellular matrix gene expression and regulation. *J Invest Dermatol.* 2002; 118 (2): 211–215.
8. *Wang W, Huang XR, Canlas E, Oka K, Truong LD, Deng C et al.* Essential role of Smad3 in angiotensin II-induced vascular fibrosis. *Circ Res.* 2006; 98 (8): 1032–1039.
9. *Vander Ark A, Cao J, Li X.* TGF-β receptors: in and beyond TGF-β signaling. *Cell Signal.* 2018; 52: 112–120.
10. *Chen L, Yang T, Lu DW, Zhao H, Feng YL, Chen H et al.* Central role of dysregulation of TGF-β/Smad in CKD progression and potential targets of its treatment. *Biomed Pharmacother.* 2018; 101: 670–681.
11. *Fujimoto M, Maezawa Y, Yokote K, Joh K, Kobayashi K, Kawamura H et al.* Mice lacking Smad3 are protected against streptozotocin-induced diabetic glomerulopathy. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003; 305: 1002–1007.
12. *Shah R, Tanriverdi K, Levy D, Larson M, Gerstein M, Mick E et al.* Discordant expression of circulating microRNA from cellular and extracellular sources. *PLoS One.* 2016; 11 (4): e0153691.
13. *Novák J, Macháčková T, Krejčí J, Bienertová-Vašků J, Slabý O.* MicroRNAs as theranostic markers in cardiac allograft transplantation: from murine models to clinical practice. *Theranostics.* 2021; 11 (12): 6058–6073.
14. *Gu YY, Dou JY, Huang XR, Liu XS, Lan HY.* Transforming growth factor-β and long non-coding rna in renal inflammation and fibrosis. *Front Physiol.* 2021; 12: 684236.
15. *Zhang XL, An BF, Zhang GC.* MiR-27 alleviates myocardial cell damage induced by hypoxia/reoxygenation via targeting TGFBR1 and inhibiting NF-κB pathway. *Kaohsiung J Med Sci.* 2019; 35 (10): 607–614.
16. *Suzuki HI, Katsura A, Mihira H, Horie M, Saito A, Miyazono K.* Regulation of TGF-β-mediated endothelial-mesenchymal transition by microRNA-27. *J Biochem.* 2017; 161 (5): 417–420.
17. *Wang XH.* MicroRNA in myogenesis and muscle atrophy. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2013; 16 (3): 258–266.
18. *Dong M, Wang X, L T, Wang J, Yang Y, Liu Y et al.* Mir-27a-3p attenuates bronchiolitis obliterans *in vivo* via the regulation of dendritic cells' maturation and the suppression of myofibroblasts' differentiation. *Clin Transl Med.* 2020; 10 (4): e140.
19. *Шевченко ОП, Великий ДА, Шарапченко СО, Гичкун ОЕ, Марченко АВ, Улыбышева АА и др.* МикроРНК-27 и -339 при фиброзе миокарда трансплантированного сердца: анализ диагностической значимости. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2021; 23 (3): 73–81. *Shevchenko OP, Velikiy DA, Sharapchenko SO, Gichkun OE, Marchenko AV, Ulybysheva AA et al.* Diagnostic value of microRNA-27 and -339 in heart transplant recipients with myocardial fibrosis. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs.* 2021; 23 (3): 73–81.
20. *Великий ДА, Гичкун ОЕ, Шарапченко СО, Можейко НП, Курабекова РМ, Шевченко ОП и др.* Диагностическое значение микроРНК-101 и микроРНК-27 при остром отторжении трансплантированного сердца. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2020; 22 (4): 20–26. *Velikiy DA, Gichkun OE, Sharapchenko SO, Mozheiko NP, Kurabekova RM, Shevchenko OP et al.* Diagnostic value of mirna-101 and mirna-27 in acute heart transplant rejection. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs.* 2020; 22 (4): 20–26.
21. *Cuiqiong W, Chao X, Xinling F, Yinyan J.* Schisandrin B suppresses liver fibrosis in rats by targeting miR-101-5p through the TGF-β signaling pathway. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 2020; 48 (1): 473–478.
22. *Li X, Zhang S, Wa M, Liu Z, Hu S.* MicroRNA-101 protects against cardiac remodeling following myocardial infarction via downregulation of runt-related transcription factor 1. *J Am Heart Assoc.* 2019; 8 (23): e013112.
23. *Pan Z, Sun X, Shan H, Wang N, Wang J, Ren J et al.* MicroRNA-101 inhibited postinfarct cardiac fibrosis and improved left ventricular compliance via the FBJ osteosarcoma oncogene/transforming growth factor-β1 pathway. *Circulation.* 2012; 126 (7): 840–850.
24. *Guiot J, Cambier M, Boeckx A, Henket M, Nivelles O, Gester F et al.* Macrophage-derived exosomes attenuate fibrosis in airway epithelial cells through delivery of antifibrotic miR-142-3p. *Thorax.* 2020; 75 (10): 870–881.
25. *Jung B, Staudacher JJ, Beauchamp D.* Transforming growth factor β super-family signaling in development of colorectal cancer. *Gastroenterology.* 2017; 152: 36–52.
26. *Meng XM, Nikolic-Paterson DJ, Lan HY.* TGF-β: the master regulator of fibrosis. *Nat Rev Nephrol.* 2016; 12 (6): 325–338.
27. *Okamoto Y, Gotoh Y, U emura O, Tanaka S, Ando T, Nishida M.* Age-dependent decrease in serum transforming growth factor TGF-beta 1 in healthy Japanese individuals; population study of serum TGF-beta 1 level in Japanese. *Dis Markers.* 2005; 21 (2): 71–74.
28. *Курабекова РМ, Шевченко ОП, Цирульникова ОМ, Можейко НП, Цирульникова ИЕ, Олефиренко ГА.* Связь уровня трансформирующего фактора роста бета 1 с фиброзом печени у детей с врожденными заболеваниями гепатобилиарной системы. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2017; 62 (4): 221–225. *Kurabekova RM, Shevchenko OP, Tsirulnikova OM, Mozheiko NP, Tsirulnikova IE, Olefirenko GA.* The relationship of level of transforming growth factor beta 1 with liver fibrosis in children with congenital diseases of hepatobilliary system. *Klinicheskaya Laboratornaya*

*Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2017; 62 (4): 221–225 (in Russ.).
29. *Travis MA, Sheppard D.* TGF-b Activation and Function in Immunity. *Annu Rev Immunol.* 2014; 32 (1): 51–82.
30. *Курабекова РМ, Шевченко ОП, Цирульникова ОМ, Можейко НП, Цирульникова ИЕ, Монахов АР, Готье СВ*. Уровень трансформирующего фактора роста бета-1 связан с тяжестью врожденных заболеваний печени у детей раннего возраста. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2016; 18 (3): 16–21. *Kurabekova RM, Shevchenko OP, Tsiroulnikova OM, Mozheyko NP, Tsiroulnikova IE, Monakhov AR, Gautier SV.* Level of transforming growth factor beta-1 relates to congenital liver disease severity in children of early age. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs.* 2016; 18 (3): 16–21 (In Russ.).
31. *Briem-Richter A, Leuschner A, Krieger T, Grabhorn E, Fischer L, Nashan B et al*. Peripheral blood biomarkers for the characterization of alloimmune reactivity after pediatric liver transplantation. *Pediatr Transplant*. 2013; 17 (8): 757–764.
32. *Israni AK, Li N, Cizman BB, Snyder J, Abrams J, Joffe M et al*. Association of donor inflammation- and apoptosis-related genotypes and delayed allograft function after kidney transplantation. *Am J Kidney Dis.* 2008; 52: 331–339.
33. *Lee SB, Kanasaki K, Kalluri R.* Circulating TGF-B1 as a reliable biomarker for chronic kidney disease progression in the African-American population. *Kidney Int*. 2009; 76: 10–12.
34. *Meng XM, Nikolic-Paterson DJ, Lan HY.* Inflammatory processes in renal fibrosis. *Nat Rev Nephrol.* 2014; 10: 493–503.
35. *Yuan Q, Tan RJ, Liu Y.* Myofibroblast in kidney fibrosis: origin, activation, and regulation. *Adv Exp Med Biol.* 2019; 1165: 253–283.
36. *Shull MM, Ormsby I, Kier AB, Pawlowski S, Diebold RJ, Yin M et al.* Targeted disruption of the mouse transforming growth factor-β1 gene results in multifocal inflammatory disease. *Nature.* 1992; 359: 693–699.
37. *Eikmans M, Sijpkens YW, Baelde HJ, de Heer E, Paul LC, Bruijn JA*. High transforming growth factor-β and extracellular matrix mRNA response in renal allografts during early acute rejection is associated with absence of chronic rejection. *Transplantation.* 2002; 73: 573–579.
38. *Du XX, Guo YL, Yang M, Yu Y, Chang S, Liu B et al.* Relationship of transforming growth factor-βl and arginase-1 levels with long-term survival after kidney transplantation. *Curr Med Sci.* 2018; 38: 455–460.
39. *Poppelaars F, Gaya da Costa M, Faria B, Eskandari SK, Damman J, Seelen MA.* A functional TGFB1 polymorphism in the donor associates with long-term graft survival after kidney transplantation. *Clin Kidney J.* 2021; 15 (2): 278–286.
40. *Sun Y, Weber KT.* Infarct scar: a dynamic tissue. *Cardiovasc Res.* 2000; 46 (2): 250–256.
41. *Moses HL.* TGF-beta regulations of epithelial cell proliferation. *Mol Prod Dev.* 1992; 32 (2): 179–183.
42. *Гичкун ОЕ, Курабекова РМ, Олефиренко ГА, Стаханова ЕА, Макарова ЛВ, Шмерко НП и др*. Динамика трансформирующего фактора роста бета-1 у реципиентов сердца. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2019; 21: 56. *Gichkun OE, Kurabekova RM, Olefirenko GA, Stahanova EA, Makarova LV, Shmerko NP et al.* Dinamika transformiruyushchego faktora rosta beta-1 u recipientov serdca. *Vestnik transplantologii i iskusstvennyh organov.* 2019; 21: 56.
43. *Karch DB, Billingham ME.* Cyclosporin-induced myocardial fibrosis: An unequally controlled case report. *Heart Transplant.* 1985; 4: 210–212.
44. *Frangogiannis NG.* Cardiac fibrosis. *Cardiovasc Res.* 2021; 117 (6): 1450–1488.
45. *Aziz T, Saad RA, Burgess M, Yonan N, Hasleton P, Hutchinson IV.* Transforming growth factor beta and myocardial dysfunction following heart transplantation. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery.* 2001; 20 (1): 177–186.
46. *Aziz T, Saad RA, Burgess M, Yonan N, Hasleton P, Hutchinson IV.* Transforming growth factor β in relation to cardiac allograft vasculopathy after heart transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2000; 119: 700–708.
47. *Гичкун ОЕ, Шевченко ОП, Курабекова РМ, Можейко НП, Шевченко АО.* Полиморфизм rs1800470 гена tgfb1 связан с фиброзом миокарда у реципиентов сердца. *Acta Naturae (русскоязычная версия)*. 2021; 13 (4): 42–46. *Gichkun OE, Shevchenko OP, Kurabekova RM, Mozheiko NP, Shevchenko AO.* The rs1800470 Polymorphism of the TGFB1 Gene Is Associated with Myocardial Fibrosis in Heart Transplant Recipients. *Acta Naturae.* 2021; 13 (4): 42–46.
48. *DerHovanessian A, Weigt SS, Palchevskiy V, Shino MY, Sayah DM, Gregson AL et al.* The role of TGF-β in the association between primary graft dysfunction and bronchiolitis obliterans syndrome. *Am J Transplant.* 2016; 16 (2): 640–649.
49. *Stewart S, Fishbein MC, Snell GI, Berry GJ, Boehler A, Burke MM et al.* Revision of the 1996 working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of lung rejection. *J Heart Lung Transplant.* 2007; 26: 1229–1242.
50. *Westall GP, Snel GI, Loskot M, Levvey B, O'Hehir RE, Hedger MP, de Kretser DM.* Activin biology after lung transplantation. *Transplant Direct.* 2017; 3 (6): e159.
51. *Sime PJ, Xing Z, Graham FL, Csaky KG, Gauldie J.* Adenovector-mediated gene transfer of active transforming growth factor-beta1 induces prolonged severe fibrosis in rat lung. *J Clin Invest.* 1997; 100: 768–776.
52. *Charpin JM, Valcke J, Kettaneh L, Epardeau B, Stern M, Israël-Biet D.* Peaks of transforming growth factor-β in alveolar cells of lung transplant recipients as an early marker of chronic rejection. *Transplantation.* 1998; 65 (5): 752–755.
53. *Yue YL, Zhang MY, Liu JY, Fang LJ, Qu YQ*. The role of autophagy in idiopathic pulmonary fibrosis: from mechanisms to therapies. *Ther Adv RespirDis*. 2022; 16: 17534666221140972.

54. *Ye Z, Hu Y.* TGF-β1: Gentlemanly orchestrator in idiopathic pulmonary fibrosis (Review). *Int J Mol Med.* 2021; 48 (1): 132.
55. *Cohen DJ, Loertcher R, Rubin MF, Tilney NL, Carpenter CB, Strom TB.* Cyclosporine: A New Immunosuppressive Agent for Organ Transplantation. *Ann Intern Med.* 1984; 101: 667–682.
56. *Bentata Y.* Tacrolimus: 20 years of use in adult kidney transplantation. What we should know about its nephrotoxicity. *Artif Organs.* 2020; 44 (2): 140–152.
57. *Liu Q, Ye J, Yu L, Dong X, Feng J, Xiong Y et al.* Mitigates Cyclosporine A (CsA)-Induced Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT) and Renal Fibrosis in Rats. *Int Urol Nephrol.* 2017; 49: 345–352.
58. *Nagavally RR, Sunilkumar S, Akhtar M, Trombetta LD, Ford SM.* Chrysin Ameliorates Cyclosporine-A-Induced Renal Fibrosis by Inhibiting TGF-β1-Induced Epithelial-Mesenchymal Transition. *Int J Mol Sci.* 2021; 22 (19): 10252.
59. *Khanna A, Plummer M, Bromberek C, Bresnahan B, Hariharan S.* Expression of TGF-beta and fibrogenic genes in transplant recipients with tacrolimus and cyclosporine nephrotoxicity. *Kidney Int.* 2002; 62: 2257–2263.
60. *Zhang LY, Jin J, Luo K, Piao SG, Zheng HL, Jin JZ et al.* Shen-Kang protects against tacrolimus-induced renal injury. *Korean J Intern Med.* 2019; 34 (5): 1078–1090.
61. *Boix F, Alfaro R, Jiménez-Coll V, Mrowiec A, Martínez-Banaclocha H, Botella C, Muro M.* A high concentration of TGF-β correlates with opportunistic infection in liver and kidney transplantation. *Human Immunology.* 2021; 82 (6): 414–421.
62. *Neuzillet C, Tijeras-Raballand A, Cohen R, Cros J, Faivre S, Raymond E, de Gramont A.* Targeting the TGFβ pathway for cancer therapy. *Pharmacol Ther.* 2015; 147: 22–31.
63. *Border WA, Okuda S, Languino LR, Sporn MB, Ruoslahti E.* Suppression of experimental glomerulonephritis by antiserum against transforming growth factor beta 1. *Nature.* 1990; 346: 371–374.
64. *Kasuga H, Ito Y, Sakamoto S, Kawachi H, Shimizu F, Yuzawa Y, Matsuo S.* Effects of anti-TGF-β type II receptor antibody on experimental glomerulonephritis. *Kidney Int.* 2001; 60: 1745–1755.
65. *Das S, Kumar M, Negi V, Pattnaik B, Prakash YS, Agrawal A, Ghosh B.* MicroRNA-326 regulates profibrotic functions of transforming growth factor-β in pulmonary fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2014; 50 (5): 882–892.
66. *Isaka Y.* Targeting TGF-β Signaling in Kidney Fibrosis. *Int J Mol Sci.* 2018; 19 (9): 2532.
67. *De Streel G, Bertrand C, Chalon N, Liénart S, Bricard O, Lecomte S et al.* Selective inhibition of TGF-β1 produced by GARP-expressing Tregs overcomes resistance to PD-1/PD-L1 blockade in cancer. *Nat Commun.* 2020; 11 (1): 4545.
68. *Nakano T, Lai CY, Goto S, Hsu LW, Kawamoto S, Ono K et al.* Immunological and regenerative aspects of hepatic mast cells in liver allograft rejection and tolerance. *PloS One.* 2012; 7 (5): 15.
69. *Luangmonkong T, Suriguga S, Bigaeva E, Boersema M, Oosterhuis D, de Jong KP et al.* Evaluating the antifibrotic potency of galunisertib in a human *ex vivo* model of liver fibrosis. *Br J Pharmacol.* 2017; 174: 3107–3117.

*Статья поступила в редакцию 05.05.2023 г.*
*The article was submitted to the journal on 05.05.2023*

DOI: 10.15825/1995-1191-2023-2-158-166

# *EX VIVO* ПЕРФУЗИЯ ДОНОРСКИХ ЛЕГКИХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗРАБОТАННОГО РАСТВОРА С ПОСЛЕДУЮЩЕЙ ОРТОТОПИЧЕСКОЙ ЛЕВОСТОРОННЕЙ ТРАНСПЛАНТАЦИЕЙ ЛЕГКОГО (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

*С.В. Готье[1, 2], И.В. Пашков[1], В.К. Богданов[1], Д.О. Олешкевич[1], Д.М. Бондаренко[1], Н.П. Можейко[1], Н.С. Буненков[3–5], Н.В. Грудинин[1]*

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

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

[3] ФБГОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Российская Федерация

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

[5] СПб ГБУЗ «Клиническая больница Святителя Луки», Санкт-Петербург, Российская Федерация

На сегодняшний день в трансплантологии дефицит донорских органов остается главной проблемой. Особенно это ощущается в трансплантации легких. Трансплантация легких является единственным эффективным методом лечения пациентов с терминальными стадиями респираторной недостаточности. С целью расширения пула эффективных доноров предлагается технология нормотермической *ex vivo* перфузии, хорошо зарекомендовавшей себя в ряде клинических исследований. Возможность восстанавливать субоптимальные донорские легкие, считавшиеся ранее не пригодными для трансплантации, позволяет улучшить функциональные возможности органа и тем самым увеличить число трансплантаций легких. Однако широкое внедрение технологии *ex vivo* перфузии сопряжено с высокими финансовыми затратами на расходные материалы и перфузионный раствор. **Цель:** апробировать разработанный раствор на модели *ex vivo* перфузии донорских легких с последующей ортотопической трансплантацией легкого в условиях эксперимента. **Материалы и методы.** Эксперимент включал стадии эксплантации легких, статическое гипотермическое хранение, процедуру нормотермической *ex vivo* перфузии и ортотопическую левостороннюю трансплантацию. Перфузия проводилась в замкнутом контуре. В качестве перфузата использовали собственный перфузионный раствор на основе альбумина человека. Время перфузии составляло 2 часа, оценка проводилась каждые 30 минут. Период статического гипотермического хранения после перфузии составил 4 часа во всех наблюдениях. Процедуру ортотопической однолегочной трансплантации выполняли с применением вспомогательного кровообращения, дополненного мембранной оксигенацией. Период наблюдения в послеоперационном периоде составлял 2 часа, после чего проводилась эвтаназия экспериментального животного. **Результаты.** Показатель респираторного индекса до момента эксплантации донорских легких составлял 310 ± 40 мм рт. ст. На протяжении всей процедуры *ex vivo* перфузии отмечалась положительная динамика роста $PaO_2/FiO_2$. Спустя 120 минут перфузии индекс оксигенации составил 437 ± 25 мм рт. ст. Исходно показатель легочного сосудистого сопротивления (ЛСС) составлял 300 ± 100 Дин×с/см$^5$, на протяжении всей *ex vivo* перфузии прослеживалась динамика к снижению показателя ЛСС; на окончание перфузии показатель ЛСС составил 38,5 ± 12 Дин×с/см$^5$. **Заключение.** Экспериментальное исследование показало возможность проведения безопасной и эффективной процедуры нормотермической *ex vivo* перфузии с использованием отечественного перфузионного раствора. Разработанный протокол ортотопической трансплантации левого

**Для корреспонденции:** Грудинин Никита Владимирович. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (903) 805-63-58. E-mail: Zbignev.religa@mail.ru

**Corresponding author:** Nikita Grudinin. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (903) 805-63-58. E-mail: Zbignev.religa@mail.ru

легкого в условиях вспомогательного кровообращения, дополненного мембранной оксигенацией, показал свою эффективность и надежность.

*Ключевые слова: трансплантация легких, донорство, перфузионные растворы, перфузия.*

# NORMOTHERMIC *EX VIVO* LUNG PERFUSION USING A DEVELOPED SOLUTION FOLLOWED BY ORTHOTOPIC LEFT LUNG TRANSPLANTATION (EXPERIMENTAL STUDY)

*S.V. Gautier[1, 2], I.V. Pashkov[1], V.K. Bogdanov[1], D.O. Oleshkevich[1], D.M. Bondarenko[1], N.P. Mozheiko[1], N.S. Bunenkov[3–5], N.V. Grudinin[1]*

[1] Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation
[2] Sechenov University, Moscow, Russian Federation
[3] Pavlov University, St. Petersburg, Russian Federation
[4] Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russian Federation
[5] St. Luke's Clinical Hospital, St. Petersburg, Russian Federation

The continued unavailability of adequate organs for transplantation to meet the existing demand has resulted in a major challenge in transplantology. This is especially felt in lung transplantation (LTx). LTx is the only effective method of treatment for patients with end-stage lung diseases. Normothermic *ex vivo* lung perfusion (EVLP) has been proposed to increase the number of donor organs suitable for transplant – EVLP has proven itself in a number of clinical trials. The ability to restore suboptimal donor lungs, previously considered unsuitable for transplantation, can improve organ functionality, and thus increase the number of lung transplants. However, widespread implementation of *ex vivo* perfusion is associated with high financial costs for consumables and perfusate. **Objective:** to test the developed solution on an *ex vivo* lung perfusion model, followed by orthotopic LT under experimental conditions. **Materials and methods.** The experiment included lung explantation stages, static hypothermic storage, EVLP and orthotopic left LTx. Perfusion was performed in a closed perfusion system. We used our own made human albumin-based perfusion solution as perfusate. Perfusion lasted for 2 hours, and evaluation was carried out every 30 minutes. In all cases, static hypothermic storage after perfusion lasted for 4 hours. The orthotopic single-lung transplantation procedure was performed using assisted circulation, supplemented by membrane oxygenation. Postoperative follow-up was 2 hours, after which the experimental animal was euthanized. **Results.** Respiratory index before lung explantation was 310 ± 40 mmHg. The $PaO_2/FiO_2$ ratio had positive growth dynamics throughout the entire EVLP procedure. Oxygenation index was 437 ± 25 mm Hg after 120 minutes of perfusion. Throughout the entire EVLP procedure, there was a steady decrease in pulmonary vascular resistance (PVR). Initial PVR was 300 ± 100 dyn×s/cm$^5$; throughout the EVLP, PVR tended to fall, reaching 38,5 ± 12 dyn×s/cm$^5$ at the end of perfusion. **Conclusion.** A safe and effective EVLP using our perfusate is possible. The developed orthotopic left lung transplantation protocol under circulatory support conditions, supplemented by membrane oxygenation, showed it is efficient and reliable.

*Keywords: lung transplantation, donation, perfusate, perfusion.*

## ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день в трансплантологии дефицит донорских органов остается главной проблемой. Особенно остро в таком направлении, как трансплантация легких. Трансплантация легких является единственным эффективным методом лечения пациентов с терминальными стадиями респираторной недостаточности. С целью расширения пула эффективных доноров используется технология нормотермической *ex vivo* перфузии, хорошо зарекомендовавшей себя в ряде клинических исследований [1, 2].

Возможность восстанавливать субоптимальные донорские легкие, считавшиеся ранее не пригодными для трансплантации, позволяет улучшить их функциональные возможности. Однако распространение в клинической практике технологии *ex vivo* перфузии сопряжено с высокими финансовыми затратами на расходные материалы и перфузионный раствор [3]. На мировом рынке лидирующую позицию по производству перфузионного раствора для донорских легких занимает шведская компания XVIVO, обеспечивающая около 70% рынка. В силу малых про-

изводственных мощностей компании-монополиста создается определенный дефицит в странах, которые только внедряют технологию *ex vivo* перфузии [4].

В России метод *ex vivo* перфузии начинает развиваться, и его активное внедрение сдерживается высокой стоимостью оригинального перфузионного раствора (Steen Solution™). В предыдущих статьях нами представлен положительный опыт использования собственного раствора на основе альбумина человека. Единственным недостатком предложенного раствора является необходимость его приготовления перед каждой процедурой нормотермической *ex vivo* перфузии.

Целью представленного пилотного исследования является апробация разработанного раствора в условиях эксперимента на модели *ex vivo* перфузии донорских легких с последующей ортотопической трансплантацией легкого.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В экспериментальном исследовании использованы изолированные легкие, полученные от баранов Романской породы массой 25–30 кг. Программа экспериментальной работы была одобрена комитетом по биологической безопасности и биоэтике ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России. Работы проводились с соблюдением правил Европейской конвенции по обращению с лабораторными животными и директивы 2010/63/EU [5].

Эксперимент включал стадии эксплантации легких, статическое гипотермическое хранение, процедуру нормотермической *ex vivo* перфузии и ортотопическую левостороннюю трансплантацию.

Наркотизацию донора и реципиента проводили раствором золезепама в дозе 10 мг/кг, с последующей комбинацией ингаляционным анестетиком изофлуран 2,5–3% об. Во время эксплантации проводились центральный мониторинг давления и искусственная вентиляция в режиме контроля по объему из расчета 8–10 мл/кг, пиковое давление на вдохе не превышало 25 см вод. ст., положительное давление конца выдоха не превышало 5 см вод. ст., частота дыхания составляла 25 д/мин, глубину анестезии регулировали использованием испарителя для изофлурана. Техника эксплантации детально описана в одной из наших предыдущих публикаций [6]. В качестве консервирующего агента использовался раствор Celsior.

Перфузия проводилась в замкнутом контуре с использованием перфузионной системы Ex Stream («Трансбиотех», Россия), к оксигенатору подключался баллон с деоксигинирующей смесью ($N_2$ – 86%, $CO_2$ – 8%, $O_2$ – 6%). В системе магистралей между кардиотомным резервуаром и оксигенатором устанавливался центробежный насос искусственного кровообращения с гидрофильной головкой. Магистраль после оксигенатора соединялась с канюлей, установленной в легочной артерии 18 Fr. Отток осуществлялся активным способом через воронкообразную канюлю, подшитую к площадке левого предсердия. Измерение давления в системе магистралей проводилось путем установки трех инвазивных датчиков: первый устанавливается после оксигенатора для измерения давления в проксимальном отделе перфузионного контура, второй – непосредственно в канюле легочной артерии для измерения перфузионного давления в легочной артерии. Третий датчик измеряет давление в канюле, установленной в левое предсердие. Трансплантат легких в момент перфузии располагался в разработанной камере, позволяющей проводить процедуру *ex vivo* перфузии в стерильных условиях [7]. В качестве перфузата использовали собственный перфузионный раствор на основе альбумина человека. Объем перфузата составил во всех группах 1,5 литра. Эритроцитарная масса заготавливалась путем центрифугирования цельной делейкоцитурированной крови в течение 15 минут со скоростью 3500 оборотов в минуту. К перфузату добавляли: меропенем 1000 мг, метилпреднизолон 1000 мг, инсулин короткого действия 10 ЕД. Целевой уровень гематокрита составлял 15%. Общий вид перфузионного контура представлен на рис. 1.

Время перфузии составило 2 часа, оценка проводилась каждые 30 минут. Оценивались показатели легочного сосудистого сопротивления, динамический комплаенс, респираторный индекс, темп утилизации глюкозы и прирост лактата. По окончании перфузии легкие повторно консервировались экспериментальным раствором в объеме 2000 мл антеградно. Период статического гипотермического хранения после перфузии составил 4 часа во всех наблюдениях. Период наблюдения в послеоперационном периоде составлял

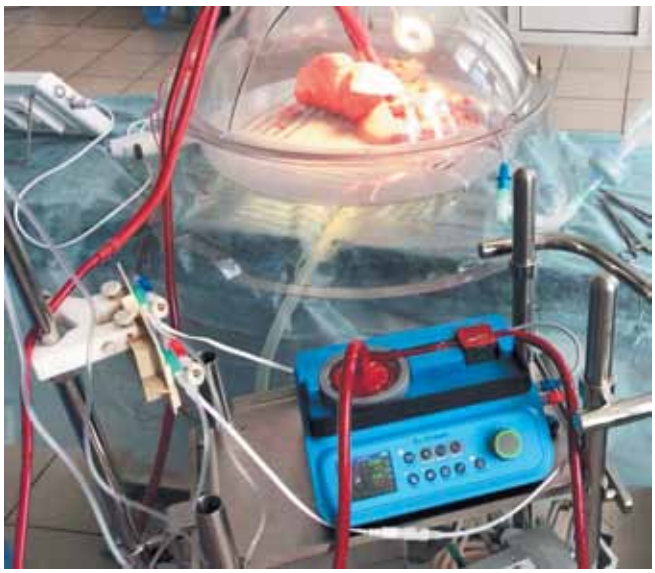

Рис 1. Общий вид замкнутого перфузионного контура

Fig 1. General view of the closed perfusion system

2 часа, после чего проводилась эвтаназия экспериментального животного.

## Процедура ортотопической трансплантации левого легкого складывалась из трех этапов

*1-й этап – наркотизация экспериментального животного:* проводилась в том же порядке, как и в донорской процедуре. Все трансплантации проводились в условиях искусственного кровообращения. В качестве вспомогательного кровообращения использовался аппарат Ex Stream («Биософт-М», Россия) с центробежным насосом Rotaflow (MAQUET, Германия) и оксигенатором Affinity Fusion (Medtronic, США) с набором магистралей. Катетеризацию наружной яремной вены и общей сонной артерии с целью инвазивного мониторинга проводили с правой стороны, с левой стороны проводили артерио- и венесекцию с последующей канюляцией после системной гепаринизации. Венозную канюлю 20 Fr заводили до отметки 20–25 см, что соответствовало ее положению в синусе полых вен. Артериальная канюля 12 Fr заводилась в общую сонную артерию на глубину 5–6 см. После позиционирования канюль начинали искусственное кровообращение на половине от расчетного объема 1500 мл/мин.

*2-й этап – левосторонняя торакотомия, пневмонэктомия.* Кожный разрез выполняли на уровне 5-го межреберного промежутка, края раны разводились лестничным ретрактором. С целью лучшей визуализации анатомических структур корня прекращалась вентиляция и переходили на искусственное кровообращение на полном расчетном объеме. При выделении корня в первую очередь выделяли и брали в турникет легочную артерию, далее выделяли и брали на держалки легочные вены. После выделения всех сосудистых структур легочную артерию прошивали сшивающим аппаратом, легочные вены перевязывались вручную. Последним прошивался и пересекался левый главный бронх с отступом на 0,5 см от бифуркации трахеи. По завершении пневмонэктомии выполнялся тщательный гемостаз.

*3-й этап – трансплантация левого легкого.* Трансплантат легких извлекался из стерильного пакета с консервантом и размещался на манипуляционном столике, проводили сепарацию левого легкого. Легочная артерия отсекалась от бифуркации, левый главный бронх пересекался с отступом на одно полукольцо от бифуркации. После размещения трансплантата в ране в первую очередь накладывался бронхиальный анастомоз, непрерывным обвивным швом PDS 4/0 (Ethicon, США). Далее накладывался предсердный анастомоз, непрерывным обвивным швом Prolen 5/0 (Ethicon, США) на атравматической игле, и в последнюю очередь накладывался анастомоз легочной артерии, также непрерывным обвивным швом Prolen 7/0 (Ethicon, США) на атравматической игле.

По завершении анастомозов возобновляли искусственную вентиляцию, приоткрывали зажим на легочной артерии и под визуальным контролем проводили процедуру деаэрации трансплантата через незавязанный предсердный анастомоз. Далее на предсердном анастомозе узел затягивали и завязывали, выполняли контроль гемостаза. После стабилизации гемодинамики останавливалось искусственное кровообращение и вводился протамин в расчетной дозе. Период наблюдения составлял 4 часа, торакотомная рана не ушивалась. Каждый час проводили забор проб крови селективно из левых легочных вен. Полученные данные переносили на график (оценивали $pCO_2$, $pO_2$ и респираторный индекс).

Все эксперименты заканчивались взятием биоптатов трансплантата с последующим морфологическим исследованием. Микроскопический анализ проводили на световом микроскопе, фотосъемку проводили с помощью цифровой фотокамеры. Полученные срезы оценивали на предмет тромбоза сосудов, кровоизлияний, явлений развития интерстициального, альвеолярного отека, а также клеточной инфильтрации.

Эксперимент заканчивался эвтаназией животного посредством остановки сердца раствором с высоким содержанием калия.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Показатель респираторного индекса до момента эксплантации донорских легких составлял 310 ± 40 мм рт. ст. На протяжении всей процедуры *ex vivo* перфузии отмечалась положительная динамика роста $PaO_2/FiO_2$. Спустя 120 минут перфузии индекс оксигенации составил 437 ± 25 мм рт. ст., что является хорошим показателем восстановления респираторной функции легких (рис. 2).

С момента начала перфузии уровень лактата в перфузате составлял 1,2 ммоль/л, в течение всей процедуры *ex vivo* перфузии отмечается плавный рост концентрации лактата. По окончании процедуры EVLP значения лактата в растворе составляли 7,4 ммоль/л, что свидетельствовало об адекватном метаболизме в перфузируемых легких (рис. 3).

На протяжении всей процедуры *ex vivo* перфузии отмечалось стабильное снижение легочного сосудистого сопротивления (ЛСС). Исходно показатель ЛСС составлял 300 ± 100 Дин×с/см$^5$, по окончании перфузии – 38,5 ± 12 Дин×с/см$^5$, динамика изменения легочного сосудистого сопротивления представлена на рис. 4.

Соотношение $PaO_2/FiO_2$ спустя 60 минут после ортотопической трансплантации левого легкого составляло 345 ± 25 мм рт. ст., спустя 120 минут респираторный индекс составил 360 ± 25 мм рт. ст. (рис. 5).

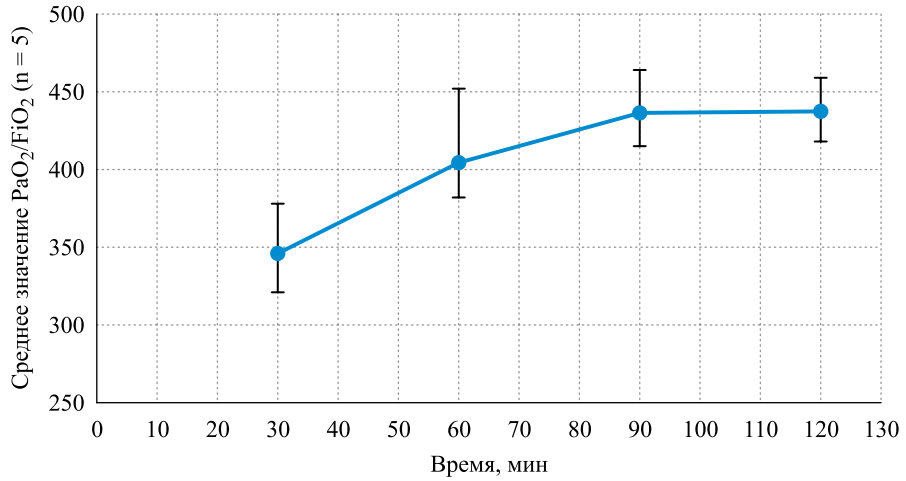


Рис. 2. Динамика изменения показателей на этапе *ex vivo* перфузии $PaO_2/FiO_2$

Fig. 2. Dynamics of the $PaO_2/FiO_2$ ratio at the *ex vivo* perfusion stage

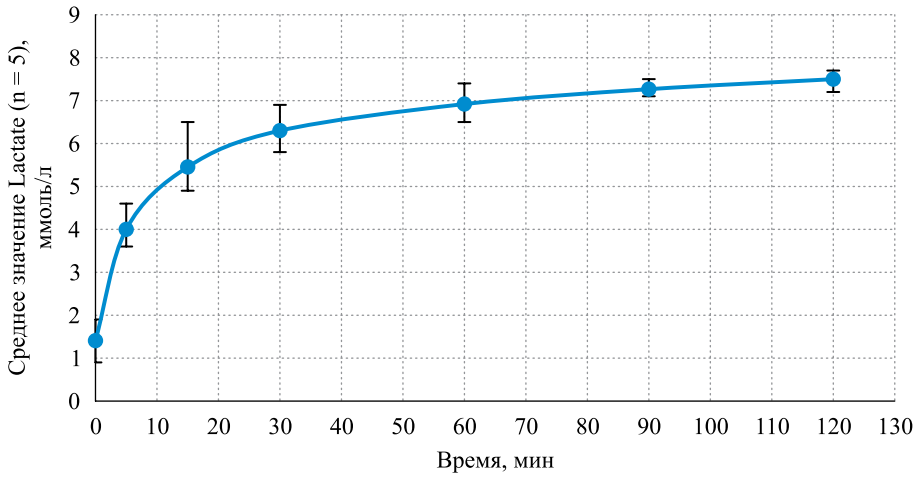


Рис. 3. График прироста уровня лактата во время *ex vivo* перфузии

Fig. 3. Lactate levels during *ex vivo* perfusion

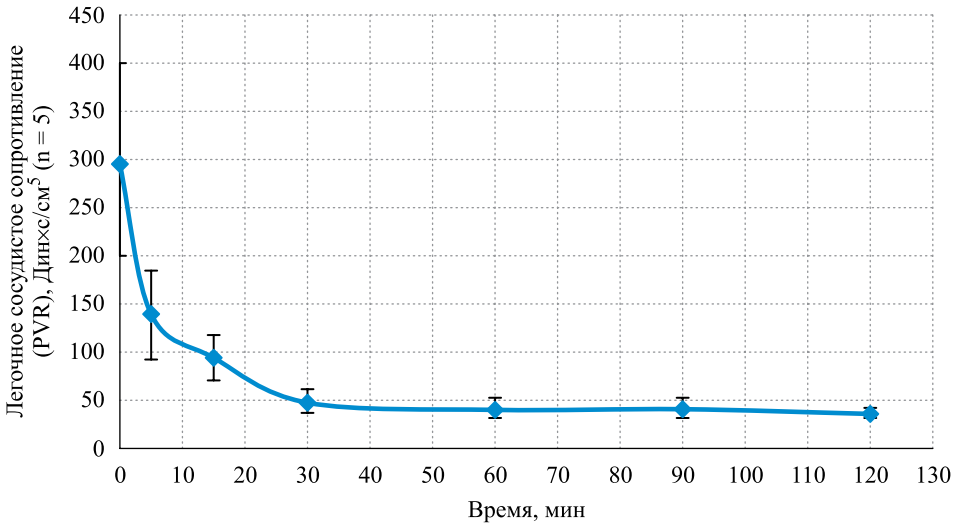


Рис. 4. Динамика легочного сосудистого сопротивления

Fig. 4. Pulmonary vascular resistance dynamics

Изменение показателей податливости легких (динамический комплаенс) во время процедуры нормотермической машинной перфузии *ex vivo* представлено на графике (рис. 6). Положительный прирост значений от момента инициации перфузии до заключительного измерения косвенно указывал на снижение количества внесосудистой воды в донорских легких, являясь критерием эффективности EVLP, и отражал положительную динамику функционального статуса трансплантата.

На протяжении всей процедуры *ex vivo* перфузии отмечалось стабильное снижение сопротивления в дыхательных путях (resistance). В начале перфузии значение resistance составляло 1,4 ± 0,5 см вод. ст./л/с. По окончании перфузии resistance составляло 0,7 ± 0,4 см вод. ст./л/с (рис. 7).

## Данные морфологического исследования

Перед проведением *ex vivo* перфузии проводили забор гистологического материала из зон ателектазов преимущественно заднебазальных отделов. На срезах отмечалась классическая картина ателектазированной легочной паренхимы в виде спадания альвеолярных воздушных пространств (рис. 8).

При морфологическом исследовании фрагментов легких из зон расправленных массивных ателектазов, полученных спустя 120 минут перфузии, отмечалась сохранная архитектоника легочной паренхимы во всех наблюдениях, в большинстве срезов наблюдались хорошо раздутые альвеолы. Микроателектатические зоны были распределены неоднородно и встречались только на отдельных сегментах. Альвеолярные воздушные пространства, а также периброн-

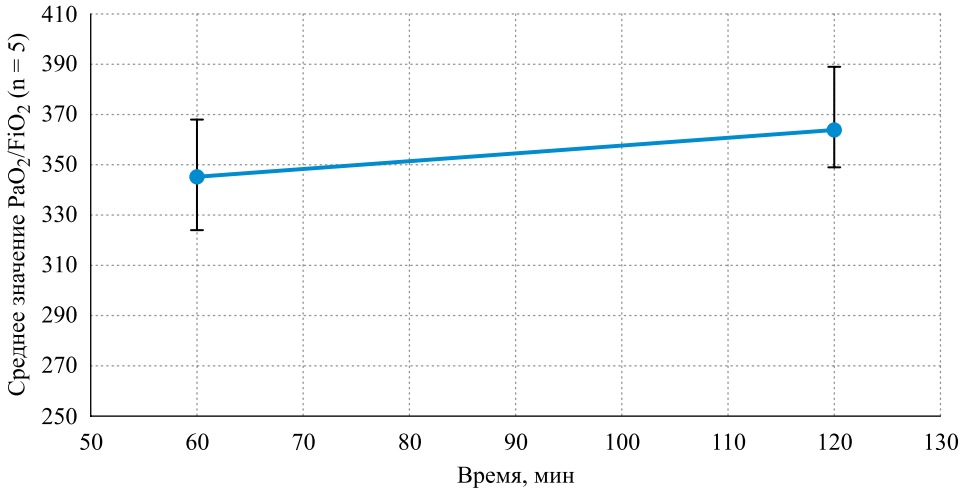


Рис. 5. Динамика изменения показателей индекса оксигенации после трансплантации

Fig. 5. Oxygenation index dynamics after transplantation

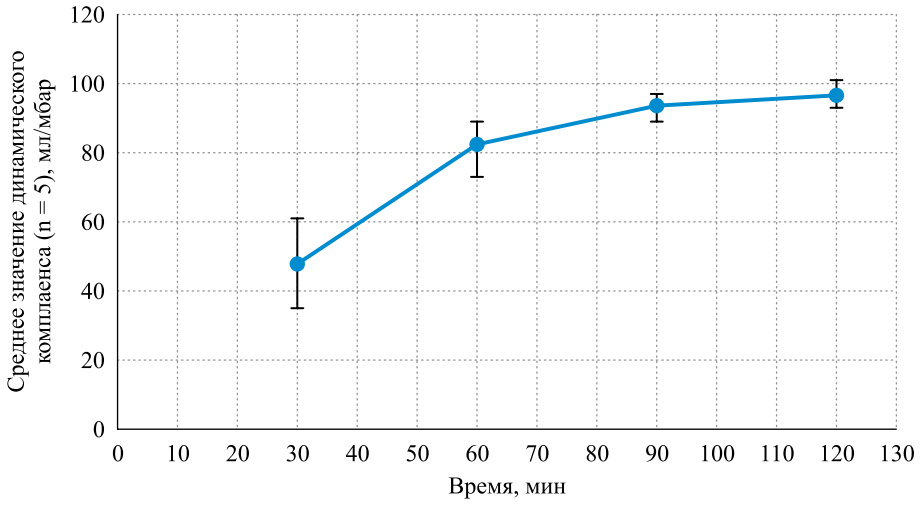


Рис. 6. Динамика изменения показателей динамического комплаенса

Fig. 6. Dynamic compliance dynamics

ховаскулярная соединительная ткань незначительно утолщена (рис. 9).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Высокая потребность в процедуре нормотермической *ex vivo* перфузии создает предпосылки к созданию альтернативных, наиболее технологически выгодных решений. Все чаще в мировой литературе встречаются работы с авторскими модификациями оригинального раствора, также предпринимаются попытки к созданию раствора на основе официальных, общедоступных в клинике препаратов [10].

Разработанный оригинальный отечественный раствор для нормотермической *ex vivo* перфузии на основе общедоступных зарегистрированных препаратов, безусловно, является оптимальным решением для преодоления существующих проблем. В предыдущих работах были получены положительные результаты экспериментальной апробации перфузионного раствора, приготовленного на основе общедоступных в клинике препаратов. Однако после *ex vivo* перфузии трансплантация легких в условиях эксперимента не проводилась [11, 12]. В данном исследовании главной задачей было создание модели на крупном животном, максимально приближенной к клиническим условиям. Процедура нормотермической *ex vivo* перфузии проводилась по описанному ранее протоколу с использованием оригинального раствора. После *ex vivo* перфузии трансплантат легких консервировался перед предстоящей трансплантацией. В исходе научно-исследовательской работы был разработан протокол однолегочной трансплантации на экспериментальной модели барана.

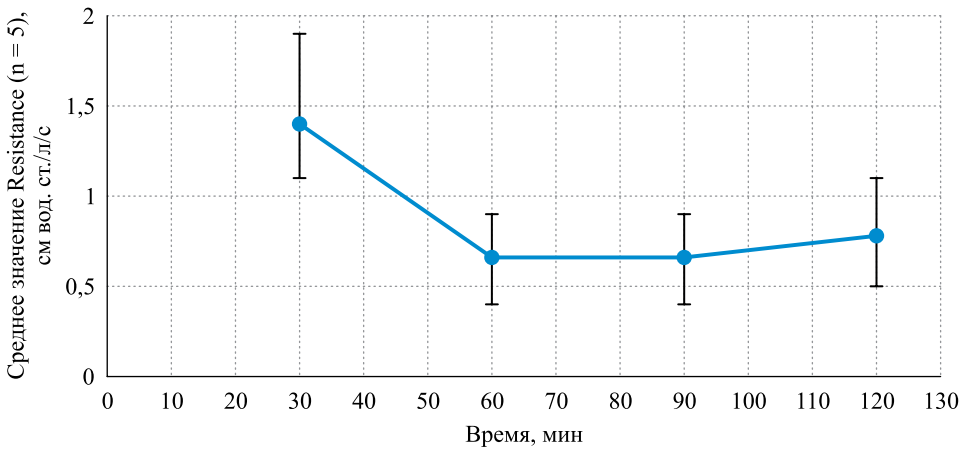


Рис. 7. Динамика показателей сопротивления дыхательных путей во время *ex vivo* перфузии

Fig. 7. Airway resistance dynamics during *ex vivo* perfusion

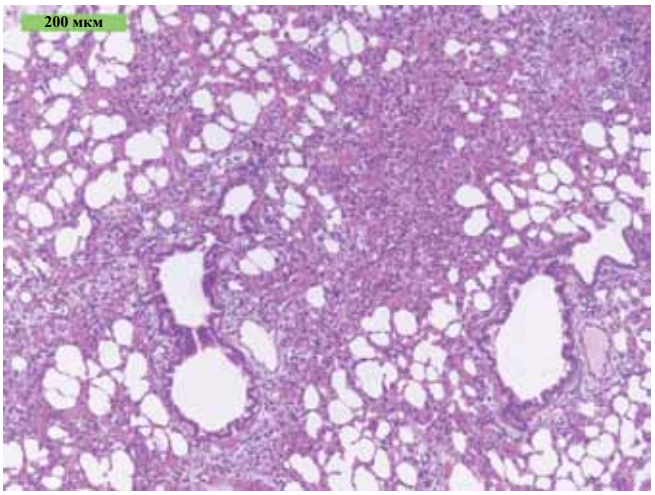


Рис. 8. Гистологическая картина области ателектаза, взятого до начала перфузии

Fig. 8. Histological pattern, area of atelectasis taken before perfusion

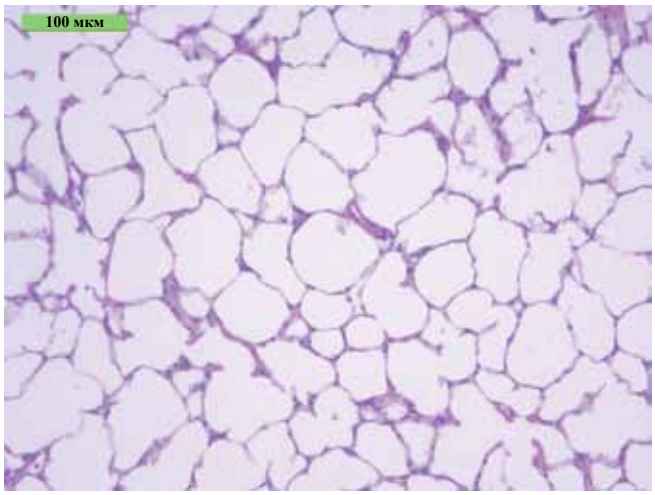


Рис. 9. Гистологическая картина области расправленного ателектаза после *ex vivo* перфузии

Fig. 9. Histological pattern, areas of expanded atelectasis, after *ex vivo* perfusion

В мировой литературе предложено несколько животных моделей, однако в настоящем исследовании было отдано предпочтение баранам в связи с наиболее приемлемой с хирургической точки зрения анатомией магистральных сосудов в области шеи, что необходимо для проведения адекватного анестезиологического обеспечения [13, 14]. Помимо постановки центрального доступа и инвазивного мониторинга артериального давления с контралатеральной стороны возможно выполнение канюляции центральных сосудов с целью имплантации системы механической поддержки кровообращения, дополненной мембранной оксигенацией, что также было реализовано в рамках данной работы. Во время трансплантации с целью предотвращения гидростатического отека легких и поддержания адекватной гемодинамики имплантировали систему вспомогательного кровообращения. Выполнение ортотопической трансплантации легкого в условиях вспомогательного кровообращения значительно увеличивает время для проведения экспериментальной работы, но при этом позволяет избежать множества осложнений и максимально приближает эксперимент к реальной клинической практике [15–17]. В исходе экспериментального исследования удалось добиться удовлетворительных показателей индекса оксигенации во время *ex vivo* перфузии и спустя 2 часа после ортотопической трансплантации легкого. Показатели динамического комплаенса в раннем посттрансплантационном периоде косвенно отражали степень ишемически-реперфузионных повреждений в донорском легком, а значения более 50 мл/мбар наравне с другими показателями позволяют сделать вывод о низком риске возникновения ранней первичной дисфункции трансплантата. Предельные значения сопротивления дыхательных путей во время процедуры нормотермической машинной перфузии и в раннем посттрансплантационном периоде оставались в границах физиологической нормы и были значительно ниже общепринятых констант во время ИВЛ. Низкие показатели сопротивления дыхательных путей являются косвенным признаком удовлетворительного функционального статуса донорских легких, а также свидетельствуют об отсутствии паренхиматозного отека, сопровождающего процесс первичной дисфункции трансплантата.

Динамика снижения показателей легочного сосудистого сопротивления во время перфузии говорит о ее адекватности и эффективности. Методика экспериментальной ортотопической однолегочной трансплантации в условиях вспомогательного кровообращения с применением периферической канюляции центральных сосудов показала простоту в реализации и высокую эффективность. Отсутствие явлений отека легочной паренхимы и отсутствие патологических изменений во время перфузии и после ортотопической трансплантации по результатам гистологического исследования говорит об эффективности и безопасности методики [18, 19].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментальное исследование показало возможность проведения безопасной и эффективной процедуры нормотермической *ex vivo* перфузии с использованием отечественного перфузионного раствора. Разработанный протокол ортотопической трансплантации левого легкого в условиях вспомогательного кровообращения, дополненного мембранной оксигенацией, показал свою эффективность и надежность.

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ


1. *Chambers DC, Perch M, Zuckermann A, Cherikh WS, Harhay MO, Hayes DJ et al.* The International Thoracic Organ Transplant Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-sixth adult lung and heart–lung transplantation Report – 2019; Focus theme: Donor and recipient size match. *Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2019; 38 (10): 1042–1055. doi: 10.1016/j.healun.2021.07.021.
2. *Ohsumi A, Kanou T, Ali A, Guan Z, Hwang DM, Thomas KW et al*. A method for translational rat *ex vivo* lung perfusion experimentation. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology.* 2020; 319 (1): 61–70. doi: 10.1152/ajplung.00256.2019.
3. *Chakos A, Ferret P, Muston B, Yan TD, Tian DH. Ex vivo* lung perfusion versus standard protocol lung transplantation-mid-term survival and meta-analysis. *Annals of Cardiothoracic Surgery*. 2020; 9 (1): 1–9.
4. *Nilsson T. Ex vivo* Lung Perfusion – Experimental and Clinical Studies. 2018: 88.
5. *Zoeller KA.* Pulsatile flow does not improve efficacy in *ex vivo* lung perfusion. *The University of Louisville s Institutional Repository. Electronic Theses and Dissertations*. 2013: 1651.
6. *Готье СВ, Цирульникова ОМ, Пашков ИВ, Грудинин НВ, Олешкевич ДО, Бондаренко ДМ и др.* Оценка эффективности разработанного перфузионного раствора для нормотермической *ex vivo* перфузии легких по сравнению со Steen Solution™ (экспериментальное исследование). *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2021; 23 (3): 82–89. *Gautier SV, Tsirulnikova OM, Pashkov IV, Grudinin NV, Oleshkevich DO, Bondarenko DM et al.* Evaluation of the efficacy of a novel perfusion solution for normothermic *ex vivo* lung perfusion compared with Steen solution™ (animal experimental study). *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2021; 23 (3): 82–89. doi: 10.15825/1995-1191-2021-3-82-89.

7. *Готье СВ, Цирульникова ОМ, Пашков ИВ, Филатов ИА, Богданов ВК, Грудинин НВ и др.* Нормотермическая *ex vivo* перфузия изолированных легких в эксперименте с использованием отечественного перфузионного аппаратного комплекса. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2022; 24 (2): 94–101. *Gautier SV, Tsirulnikova OM, Pashkov IV, Filatov IA, Bogdanov VK, Grudinin NV et al.* Normothermic *ex vivo* perfusion of isolated lungs in an experiment using a Russian made perfusion system. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2022; 24 (2): 94–101. doi: 10.15825/1995-1191-2022-2-94-101.
8. *Mohan S, Chiles MC, Patzer RE, Pastan SO, Husain SA, Carpenter DJ et al.* Factors leading to the discard of deceased donor kidneys in the United States. *Kidney.* 2018; 94 (1): 187–198. doi: 10.1016/j.kint.2018.02.016.
9. *Mattar A, Chatterjee S, Loor G.* Bridging to Lung Transplantation. *Critical Care Clinics*. 2019; 35 (1): 11–25. doi: 10.1016/j.ccc.2018.08.006.
10. *Buchko MT, Sayed H, Nader SA, Catherine JS, Sanaz H et al.* A low-cost Perfusate Alternative for *ex vivo* lung perfusion. *Transplant Proc*. 2020; 52 (10): 2941–2946. doi: 10.1016/j.transproceed.2020.05.007.
11. *Грудинин НВ, Богданов ВК, Шарапов МГ, Бунёнков НС, Можейко НП, Гончаров РГ и др.* Применение пероксиредоксина для прекондиционирования трансплантата сердца крысы. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2020; 22 (2): 158–164. *Grudinin NV, Bogdanov VK, Sharapov MG, Bunenkov NS, Mozheiko NP, Goncharov RG et al.* Use of peroxiredoxin for preconditioning of heterotopic heart transplantation in a rat. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2020; 22 (2): 158–164. doi: 10.15825/1995-1191-2020-2-158-164.
12. *Cypel M, Keshavjee S. Ex vivo* Lung Perfusion. *Operative Techniques in Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2014; 19 (4): 433–442. doi: 10.1053/j.optechstcvs.2015.03.001.
13. *Kotecha S, Jamie H, Jeremy F, Eldho P, Bronwyn JL, Helen W et al.* Continued Successful Evolution of Extended Criteria Donor Lungs for Transplantation. *Annals of Thoracic Surgery*. 2017; 104 (5): 1702–1709.
14. *Raghu G, Carbone RG.* Lung Transplantation: Evolving Knowledge and New Horizons. 2018. 370. doi. 10.1007/978-3-319-91184-7.
15. *Lee HJ, Hwang Y, Hwang HY, Park IK, Kang CH, Kim YW, Kim YT.* Use of Extracorporeal Membrane Oxygenation Prior to Lung Transplantation Does Not Jeopardize Short-term Survival. *Transplant Proc.* 2015; 47 (9): 2737–2742. doi: 10.1016/j.transproceed.2015.09.061. PMID: 26680084.
16. *Loor G Warnecke G, Villavicencio MA, Smith MA, Kukreja J, Ardehali A et al.* Portable normothermic ex-vivo lung perfusion, ventilation, and functional assessment with the Organ Care System on donor lung use for transplantation from extended-criteria donors (EXPAND): a single-arm, pivotal trial. *The Lancet Respiratory Medicine.* 2019; 7 (11): 975–984. doi: 10.1016/S2213-2600(19)30200-0.
17. *Tane S, Noda K, Shigemura N. Ex vivo* Lung Perfusion: A Key Tool for Translational Science in the Lungs. *Chest*. 2017; 151 (6): 1220–1228. doi: 10.1016/j.chest.2017.02.018.
18. *Ordies S, Frick AE, Claes S, Schols D, Verleden SE, Raemdonck DE et al.* Prone Positioning During *Ex vivo* Lung Perfusion Influences regional Edema Accumulation. *Journal of Surgical Research*. 2019; 239 (16): 300–308. doi: 10.1016/j.jss.2019.02.003.
19. *Yusen RD, Edwards LB, Kucheryavaya AY, Benden C, Dipchand AI, Goldfarb SB et al.* The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-third Adult Heart Transplantation Report – 2016; Focus Theme: Primary Diagnostic Indications for Transplant. *Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2016; 35 (10): 1158–1169. doi: 10.1016/j.healun.2015.08.014.

*Статья поступила в редакцию 27.03.2023 г.*
*The article was submitted to the journal on 27.03.2023*

DOI: 10.15825/1995-1191-2023-2-167-169

# СЛУЧАЙ УСПЕШНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ ОТ ПОСМЕРТНОГО ДОНОРА, НАХОДИВШЕГОСЯ НА ЛЕЧЕНИИ ПРОГРАММНЫМ ГЕМОДИАЛИЗОМ НА ПРОТЯЖЕНИИ 10 ЛЕТ

*Д.А. Альтман[1], О.М. Цирульникова[2, 3], А.Е. Полторак[1], В.В. Пчельников[2], Б.Х. Сарсенбаев[1], А.С. Рыжих[1], И.Я. Бондаревский[1], Е.Г. Муравьева[1]*

[1] ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», Челябинск, Российская Федерация
[2] ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» 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:** проанализировать возможность использовать печень донора, находившегося на лечении программным гемодиализом, в качестве трансплантата. **Материалы и методы.** Описан случай успешной трансплантации печени от посмертного донора 40 лет, который получал лечение программным гемодиализом на протяжении 10 лет по поводу хронического пиелонефрита, нефросклероза. Из известных осложнений хронической почечной недостаточности в медицинской документации зафиксирована анемия и артериальная гипертензия третьей степени. **Результаты.** Течение послеоперационного периода у пациента после трансплантации печени от данного донора не имело существенных различий с послеоперационным периодом реципиентов печени от доноров со стандартными критериями. **Заключение.** Наш первый опыт использования трансплантата печени от донора, находившегося на лечении программным гемодиализом, при отсутствии других факторов риска говорит о возможности использования печени данной категории доноров для трансплантации.

*Ключевые слова: донор печени с терминальной хронической почечной недостаточностью, трансплантация печени.*

# SUCCESSFUL LIVER TRANSPLANTATION FROM A DECEASED DONOR WHO WAS ON HEMODIALYSIS FOR 10 YEARS

*D.A. Altman[1], O.M. Tsirulnikova[2, 3], A.E. Poltorak[1], V.V. Pchelnikov[2], B.Kh. Sarsenbayev[1], A.S. Ryzhykh[1], I.Ya. Bondarevsky[1], E.G. Muravyeva[1]*

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

**Objective:** to analyze the possibility of using the liver of a donor undergoing hemodialysis as a transplant. **Materials and methods.** A case of successful liver transplantation (LT) from a 40-year-old deceased donor, who had been on hemodialysis for 10 years for chronic pyelonephritis and nephrosclerosis, is presented. Of the known hemodialysis complications of chronic kidney disease, the donor's medical records showed anemia and grade 3 arterial hypertension. **Results.** The recipient's post-LT period had no significant differences from the postoperative period of those that received liver from donors with standard criteria. **Conclusion.** Our first experience with the use of a liver transplant from a donor who was on hemodialysis, in the absence of other risk factors, suggests that the liver of this category of donors can be used for transplantation.

*Keywords. Liver donor with end-stage renal disease, liver transplantation.*

**Для корреспонденции:** Полторак Александр Евгеньевич. Адрес: 454048, Челябинск, ул. Воровского, 70. Тел. (908) 062-49-26. E-mail: aleksandrpoltorak@yandex.ru

**Corresponding author:** Aleksandr Poltorak. Address: 70, Vorovskogo str., Chelyabinsk, 454048, Russian Federation. Phone: (908) 062-49-26. E-mail: aleksandrpoltorak@yandex.ru

## ВВЕДЕНИЕ

При терминальной хронической почечной недостаточности страдают практически все органы и системы организма. Очевидно, что доноры с терминальной хронической почечной недостаточностью относятся к группе доноров с расширенными критериями. И использование в качестве доноров печени подобных пациентов укладывается в общемировую тенденцию, то есть расширение критериев донорства печени, а в отечественных публикациях не описано подобных случаев [2]. Такой фактор, как терминальная хроническая почечная недостаточность, вероятнее всего, оказывает значимое влияние на качество печеночного трансплантата. Органы пищеварительной системы поражаются наиболее часто, что обусловлено влиянием уремии [3]. Доказано, что печень участвует в экскреции азотистых продуктов. У большинства пациентов с хронической почечной недостаточностью выявляются различные патологические изменения со стороны органов желудочно-кишечного тракта, которые могут быть выявлены при инструментальном и лабораторном исследованиях [4]. Но учитывая качество заместительной почечной терапии в настоящее время, встречаются пациенты, у которых за многие годы терапии программным гемодиализом изменения в органах желудочного тракта минимальны.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Описан случай успешной трансплантации печени от посмертного донора 40 лет, который получал лечение программным гемодиализом на протяжении 10 лет по поводу хронического пиелонефрита, нефросклероза. Из известных осложнений лечения гемодиализом в медицинской документации зафиксирована анемия и артериальная гипертензия третьей степени. Причиной смерти явилось паренхиматозно-вентрикулярное кровоизлияние в правую гемисферу головного мозга, гемотампонада III и IV желудочков головного мозга, отек головного мозга и дислокационный синдром на фоне кризового течения гипертонической болезни. Доноры с такой причиной смерти встречаются наиболее часто [6]. После проведения сеанса гемодиализа, исключения уремической интоксикации произведена констатация смерти головного мозга. Учитывая высокий риск инфицирования вирусными гепатитами пациентов, получающих лечение программным гемодиализом, произведено исследование крови с помощью ИФА и ПЦР на наличие вирусных гепатитов В и С, ВИЧ-инфекцию, сифилис, результат – инфекции не обнаружены. Антропометрические данные донора: рост – 178 см, масса тела – 60 кг. Уровень лабораторных показателей (АЛТ, АСТ, общий и прямой билирубин, уровень натрия крови) был в пределах нормы. Срок наблюдения в отделении реанимации и искусственной вентиляции легких составил трое суток. Вазопрессорная поддержка гемодинамики проводилась норадреналином в дозировке 0,13 мкг/кг/мин. По данным ультразвукового исследования переднезадний размер правой доли печени составлял 145 мм, левой доли – 78 мм, паренхима печени была умеренной эхогенности и нормальной звукопроводимости, признаков жирового гепатоза не отмечалось. Макроскопическая оценка печени: край печени острый, признаков жирового гепатоза не отмечено (рис. 1, 2). Признаков атеросклероза аорты и крупных артерий также не выявлено. Причин для отказа от трансплантации органа не выявлено. Решение о возможности трансплантации органа от данного донора принято совместно со специалистами ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Некоторые авторы отмечают, что в ряде случаев предпочтительнее трансплантация с использованием доступного органа с расширенными критериями, чем ожидание донора со стандартными критериями, что обусловлено отрицательной динамикой состояния

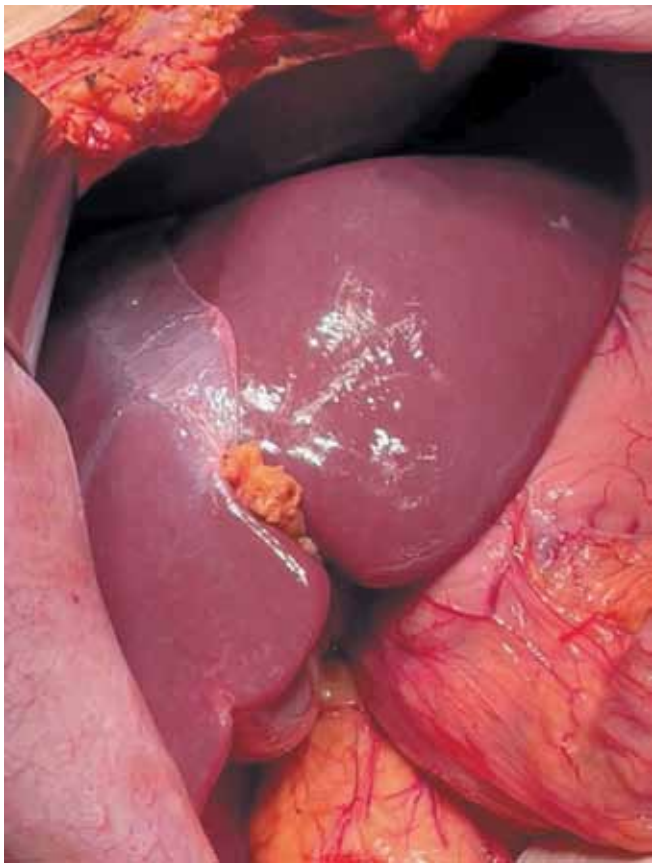

Рис. 1. Визуальная оценка печени донора, получавшего лечение программным гемодиализом

Fig. 1. Visual assessment of a liver from a donor who was on long-term hemodialysis

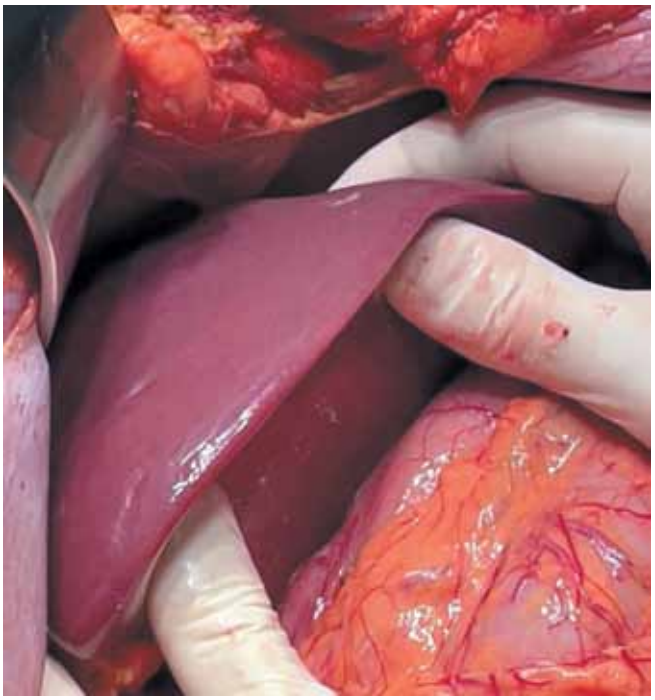

Рис. 2. Край левой доли печени донора, получавшего лечение программным гемодиализом

Fig. 2. Edge of the left lobe of the liver of a donor who was on long-term hemodialysis

пациента во время ожидания операции [1]. И в нашем случае течение послеоперационного периода у пациента, требующего операции в кратчайшие сроки, после трансплантации печени от данного донора не имело существенных различий с послеоперационным периодом реципиентов печени от доноров со стандартными критериями. Время нахождения в реанимации, динамика лабораторных показателей сопоставимы с другими реципиентами.

Ретроспективная оценка морфологической картины в трансплантате также подтвердила отсутствие признаков жирового гепатоза, выявила единичные зональные некрозы, а портальные тракты были слабо фиброзированы.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Первый опыт использования трансплантата печени от донора, находившегося на лечении программным гемодиализом, при отсутствии таких факторов риска, как возраст, уровень трансаминаз, нестабильность гемодинамики, длительность холодовой ишемии, значимый стеатоз и гипернатриемия [5], говорит о возможности использования печени данной категории доноров для трансплантации. Это позволяет сократить время ожидания трансплантата печени пациентами, находящимися в листе ожидания.

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES


1. *Flores A, Asrani SK.* The donor risk index: A decade of experience. *Liver Transpl*. 2017; 23 (9): 1216–1225. doi: 10.1002/lt.24799.
2. *Минина МГ, Воронов ДВ, Тенчурина ЭА.* Эволюция донорства печени в Москве. Движение в направлении расширенных критериев донорства. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2022; 24 (3): 102–110. *Minina MG, Voronov DV, Tenchurina EA.* Evolution of liver donation in Moscow. Movement towards expanded donor selection criteria. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2022; 24 (3): 102–110. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2022-3-102-110.
3. *Рысс ЕС, Рябов СИ, Лутошкин МБ, Панина ИЮ.* Пищеварительная система. *Лечение хронической почечной недостаточности*. Под ред. С.И. Рябова. СПб.: Фолиант, 1997: 11–25. *Ryss ES, Ryabov SI, Lutoshkin MB, Panina IYu.* Pishchevaritel'naya sistema. *Lechenie khronicheskoy pochechnoy nedostatochnosti.* Pod red. S.I. Ryabova. SPb.: Foliant, 1997: 11–25. [In Russ].
4. *Levey AS, Coresh J, Balk E, Kausz AT, Levin A, Steffes MW et al.* National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Ann Intern Med*. 2003; 139 (2): 137–147. doi: 10.7326/0003-4819-139-2-200307150-00013.
5. *Nemes B, Gámán G, Polak WG, Gelley F, Hara T, Ono S et al.* Extended criteria donors in liver transplantation Part I: reviewing the impact of determining factors. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016; 10 (7): 827–839. doi: 10.1586/17474124.2016.1149061.
6. *Готье СВ, Хомяков СМ.* Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2021 году. XIV сообщение регистра Российского трансплантологического общества. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2022; 24 (3): 8–31. *Gautier SV, Khomyakov SM.* Organ donation and transplantation in the Russian Federation in 2021 14th Report from the Registry of the Russian Transplant Society. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2022; 24 (3): 8–31. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2022-3-8-31.


*Статья поступила в редакцию 31.03.2023 г.*
*The article was submitted to the journal on 31.03.2023*

DOI: 10.15825/1995-1191-2023-2-170-177

# СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ТРАНСДЕРМАЛЬНОЙ И ИНЪЕКЦИОННОЙ ФОРМ НИКОТИНАМИДА

*В.А. Рыжикова[1], Е.Г. Кузнецова[1], О.М. Курылева[1], Л.А. Саломатина[1], С.В. Курсаков[2], А.О. Никольская[1], В.И. Севастьянов[1, 2]*

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

[2] Автономная некоммерческая организация «Институт медико-биологических исследований и технологий», Москва, Российская Федерация

В последние годы окислительный стресс, характеризующийся избыточным содержанием свободных радикалов в организме, называют причиной многих заболеваний. Ведется активный поиск лекарственных средств, обладающих антиоксидантными свойствами и подходящих для длительной поддерживающей терапии. Антиоксидант никотинамид применяют при лечении самых разных заболеваний, как правило, в пероральной или инъекционной форме. Учитывая особенности режима приема препарата (доза, длительный прием), предложена новая лекарственная форма никотинамида – эмульсионная трансдермальная терапевтическая система (ТТС), содержащая 20 мг/10 см$^2$ никотинамида. Целью данной работы является сравнение фармакокинетических параметров внутримышечного и трансдермального введений никотинамида в экспериментах на животных на протяжении 24 ч. **Материалы и методы.** В работе использовали лабораторные образцы ТТС никотинамида на основе эмульсионной системы чрескожной доставки (СЧД) с различным содержанием активатора переноса докузата натрия. Изучение фармакокинетики при трансдермальном и внутримышечном введениях выполняли на кроликах-самцах породы Шиншилла массой 3,5–4,0 кг. Определение концентрации никотинамида в плазме крови экспериментальных животных проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии по специально разработанной методике на колонках NUCLEODUR PFP (5 мкм, 250 × 4,6 мм) с использованием подвижной фазы ацетонитрил : вода деионизированная. Предварительно проводили очистку образцов методом твердофазной экстракции с использованием патронов Chromabond C18 Hydra. **Результаты.** При внутримышечном введении максимальная концентрация никотинамида в крови составила 13,3 ± 1 мкг/мл, а при аппликации трансдермальных форм никотинамида в той же дозировке с разным содержанием активатора переноса достоверно не отличалась и составила 3,1 и 3,2 мкг/мл. Показано, что при трансдермальном введении никотинамида концентрация действующего вещества поддерживалась на постоянном уровне на протяжении ~6 часов. Рассчитана биодоступность никотинамида при трансдермальном введении относительно внутримышечного: 1,43 для ТТС с 9,8% докузата натрия и 1,84 с 3,3% докузата натрия. **Заключение.** В ходе фармакокинетических исследований показана более высокая биодоступность исследуемого вещества при использовании трансдермальной терапевтической системы никотинамида 20 мг, чем при его внутримышечном введении в той же дозе. Также при трансдермальном введении выявлена возможность поддержания концентрации никотинамида на постоянном уровне длительное время, без скачков, характерных для внутримышечного введения.

*Ключевые слова: трансдермальная терапевтическая система, антиоксидант, никотинамид, фармакокинетика.*

**Для корреспонденции:** Рыжикова Варвара Андреевна. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (499) 196-26-61. E-mail: gavrjuchenkova@rambler.ru

**Corresponding author:** Varvara Ryzhikova. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (499) 196-26-61. E-mail: gavrjuchenkova@rambler.ru

# COMPARATIVE ANALYSIS OF THE PHARMACOKINETIC PARAMETERS OF TRANSDERMAL AND INJECTABLE FORMS OF NICOTINAMIDE

*V.A. Ryzhikova[1], E.G. Kuznetsova[1], O.M. Kuryleva[1], L.A. Salomatina[1], S.V. Kursakov[2], A.O. Nikolskaya[1], V.I. Sevastianov[1, 2]*

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

[2] Institute of Biomedical Research and Technology, Moscow, Russian Federation

In recent years, oxidative stress, characterized by excess free radicals in the body, has been called the cause of many diseases. There is an active search for drugs with antioxidant properties that are suitable for long-term maintenance therapy. Nicotinamide (NAM), an antioxidant, is used to treat a variety of diseases, usually in oral or injectable form. Given the peculiarities of the drug regimen (dose, prolonged administration), a new dosage form of NAM, a microemulsion-based transdermal patch (TP), containing 20 mg/10 $cm^2$ of NAM, has been proposed. The objective of this work is to compare the pharmacokinetic parameters of intramuscular and transdermal NAM administration in animal experiments for 24 hours. **Materials and methods.** We used laboratory samples of nicotinamide TP based on a microemulsion-based transdermal delivery emulsion (TDS) with different content of sodium docusate transfer activator**.** The pharmacokinetics of transdermal and intramuscular injections were studied in male Chinchilla rabbits weighing 3.5–4.0 kg. Plasma NAM levels of the experimental animals were determined by high-performance liquid chromatography using a specially designed method on NUCLEODUR PFP columns (5 μm, 250 × 4.6 mm) using the mobile phase acetonitrile: deionized water. The samples were preliminarily purified by solid-phase extraction using Chromabond C18 Hydra cartridges. **Results.** When administered intramuscularly, the maximum blood NAM level was 13.3±1 μg/mL; when NAM transdermal forms were applied in the same dosage with different contents of the transfer activator, the levels did not differ significantly – 3.1 and 3.2 μg/mL. It was shown that in transdermal administration of NAM, concentration of the active substance remained at a constant level for ~6 hours. The bioavailability of NAM with transdermal administration was calculated relative to intramuscular administration: 1.43 for TP with 9.8% docusate sodium and 1.84 with 3.3% docusate sodium. **Conclusion.** NAM has a higher bioavailability when administered transdermally at 20 mg than when administered intramuscularly in the same dose. With transdermal administration, NAM concentration can be maintained at a constant level for a long time, without the jumps that are typical of intramuscular administration.

*Keywords: transdermal therapeutic system, transdermal patch, antioxidant, nicotinamide, pharmacokinetics.*

## ВВЕДЕНИЕ

В последние годы активно изучается возможность применения антиоксидантов в качестве как основных, так и вспомогательных средств при лечении ряда заболеваний, причиной которых может послужить окислительный стресс [1, 2]. Данное состояние приводит как к повреждениям на клеточном уровне, так и к нарушению работы целых органов и систем, в результате чего могут развиваться такие заболевания, как онкология, атеросклероз, хроническая почечная недостаточность, сахарный диабет (СД) и характерные для него осложнения, аутоиммунные заболевания, геморрагический шок, инфаркты, ишемические состояния и пр. Известно, что окислительный стресс сопровождает и хирургические манипуляции, связанные с обратимой ишемией сосудов [3]. Стоит отметить, что реакцию отторжения трансплантата, как и его дисфункцию, вызванные ишемическим или реперфузионным повреждением, часто связывают с окислительным стрессом [3–5]. На практике активно используются различные способы предварительной подготовки донора и антиоксидантной обработки донорских органов. В то же время антиоксидантная терапия показана и реципиентам для улучшения работы трансплантата, однако в основном применяются достаточно сложные для реализации инструментальные методы [4, 6]. Рациональным способом представляется комбинация антиоксидантных подходов [4]. Имеются подтвержденные данные о преимуществах использования среди реципиентов органов как антиоксидантных ферментов, так и некоторых витаминных препаратов, обладающих антиоксидантными свойствами. Природные антиоксиданты также способны снижать повреждения при окислительном стрессе, что было показано в экспериментах на модели ишемии–реперфузии печени, однако их применение ограничено необходимостью длительного непрерывного введения и больших доз [6]. Так, рекомендовано применение витаминов Е и С после трансплантации сердца с целью защиты сосудов,

однако никаких масштабных исследований в этой области не проводилось [7].

В литературе в качестве перспективной альтернативной терапии СД упоминается трансплантация островковых клеток поджелудочной железы [8], которая на всех этапах сопровождается использованием антиоксидантов, способствующих приживлению островковых клеток, улучшению васкуляризации, а также проявляющих иммуносупрессивные свойства [9]. В более ранних исследованиях при трансплантации β-клеток отмечается положительный эффект антиоксидантных препаратов, в том числе витаминов Е и С [8].

Нами в качестве антиоксиданта была выбрана водорастворимая амидная форма витамина $B_3$ – никотинамид (НА) – предшественник никотинамид аденин нуклеотида (НАД), никотинамид аденин динуклеотид фосфата ($НАД^+$) и их восстановленных форм. Производные $НАД^+$ играют огромную роль в клеточном гомеостазе, генерации и ингибировании активных форм кислорода [10, 11].

Защитное действие НА в отношении инсулинпродуцирующих β-клеток давно представляет особый интерес, помимо этого, отмечается его стимулирующий эффект на секрецию инсулина [12–17]. Помимо защитного действия при лечении СД витамин РР также играет большую роль при восстановлении островковых клеток [18]. При использовании НА в терапии СД можно снизить частоту либо интенсивность проявления наиболее распространенных при данном заболевании осложнений, таких как ангиопатии, ретинопатии, нейропатии, обусловленные окислительным стрессом [11, 19–21]. Регенеративное действие НА было продемонстрировано при восстановлении тканей печени и ее функции в эксперименте после частичной гепатэктомии [22]. Была показана возможность применения НА для снижения уровня фосфатов при гиперфосфатемии среди больных с почечной недостаточностью, находящихся на гемодиализе [23].

Важным условием антиоксидантной терапии при трансплантациях является постоянная, контролируемая скорость введения соответствующих препаратов [4]. Решением этой проблемы могло бы стать использование обратных эмульсий в составе трансдермальных терапевтических систем (ТТС), которые обеспечивают контролируемое непрерывное дозирование активного компонента в течение продолжительного периода времени, доставку его к органам-мишеням в неизменном виде через системный кровоток без первого прохождения через печень. К основным преимуществам ТТС относят пролонгированное высвобождение активного вещества без скачков концентраций в крови, способных привести к неблагоприятным последствиям [24].

Учитывая физико-химические свойства никотинамида (небольшая молекулярная масса – 122,1 г/моль, гидрофильность) [25] и особенности режима приема (длительные курсы, пероральное или инъекционное введение от 1 до 4 раз в сутки, высокие дозировки, необходимость разделения суточной дозы на несколько приемов) [26], авторами была разработана ТТС никотинамида (20 мг/10 $см^2$) с эмульсионной системой чрескожной доставки [27]. Целью работы является сравнительный анализ фармакокинетических параметров никотинамида при его трансдермальном и внутримышечном способах введения.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Материалы и оборудование

В качестве активного вещества использовали никотинамид (молекулярная масса 122 г/моль Sigma, США) в виде порошка.

Лабораторные образцы ТТС никотинамида были изготовлены с использованием материалов и вспомогательных веществ, разрешенных к медицинскому применению и отвечающих требованиям действующей нормативной документации.

В состав эмульсионной системы чрескожной доставки никотинамида входили следующие компоненты: вода деионизированная, додецилсульфат натрия (AppliChem Panreac, Испания), масло ядер косточек абрикоса (Desert Whale Jojoba Company Ltd., США), α-токоферола ацетат (BASF SE, Германия), натрия диоктил сульфосукцинат (докузат натрия) (Sigma, США), Декаглин ПР (Decaglyn PR-20, Nikko Chemicals Co., Ltd, Япония).

Для создания ТТС никотинамида были выбраны вспомогательные материалы: эластичный микрогубчатый материал Foam tape 9773 (3M, США), сорбирующая основа ПАЛВ-01 (ООО «Группа компаний Пальма», Россия), пленка Skotchpak 9730 (3M, США).

При проведении исследования *in vivo* для стабилизации образцов крови применяли цитрат натрия (НПО «РЕНАМ», Россия).

Для очистки от примесей всех образцов плазмы, включая калибровочные растворы, использовали метод твердофазной экстракции (ТФЭ). Очистку проводили на картриджах Chromabond C18 Hydra (Macherey-Nagel, Германия) объемом 3 мл и массой сорбента 200 мг, подготовку которых осуществляли с помощью растворителей, используемых для создания подвижной фазы при проведении хроматографического анализа: ацетонитрил (PanReac, Испания) и вода деионизированная.

Количественное определение никотинамида в образцах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) проводили на колонке NUCLEODUR PFP (5 мкм, 250 × 4,6 мм Macherey-

Nagel, Германия) с предколонкой NUCLEODUR PFP (4 × 3 мм, 5 мкм) Macherey-Nagel, Германия).

Оборудование, использованное в работе: диспергатор DIAX 900 (Heidolph, Германия), ультразвуковой гомогенизатор UIS250V (Heilscher, Германия), весы аналитические GH-200 (AND, Япония), центрифуга Rotina 38R (Hettich, Германия), система очистки Simplicity (Millipore, Германия), вакуумная система с манифолдом и насосом LiChrolut (Merck, Германия), хроматограф Agilent 1260 Infinity (Agilent Technologies, США), оснащенный диодно-матричным детектором, термостатом колонок и программным обеспечением Chem Station (Agilent, США).

## Дизайн исследования

Изучение фармакокинетики никотинамида при трансдермальном и внутримышечном введениях выполняли на кроликах-самцах породы Шиншилла массой 3,5–4,0 кг.

Кролики получены из питомника лабораторных животных ООО «КролИнфо». Производитель предоставил ветеринарное свидетельство последнего контроля здоровья животных. Все экспериментальные животные разведены специально и ранее не участвовали в исследованиях. Карантин составил 14 дней. Все манипуляции не причиняли животным боли и проводились согласно правилам, принятым Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследований и других научных целей (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123) Strasbourg, 1986) и в соответствии с российским законодательством: ГОСТ 33215-2014 (Руководство по содержанию лабораторных животных и уходу за ними. Правила оборудования помещений и организации процедур) и ГОСТ 33216-2014 (Руководство по размещению лабораторных животных и уходу за ними. Правила содержания лабораторных грызунов и кроликов и ухода за ними).

Исследование концентрации никотинамида в плазме крови кроликов при трансдермальном и внутримышечном введениях проводили согласно разработанному дизайну. Животные были разделены на три группы случайным образом. Первой группе животных (n = 5) никотинамид вводили однократно внутримышечно в дозе 20 мг, во второй (n = 7) и третьей группах (n = 5) исследовали фармакокинетические параметры трансдермальной терапевтической системы с лекарственным веществом (ЛВ) в той же дозе, но с разным содержанием чрескожного переносчика натрия диоктил сульфосукцината (3,3 и 9,8% соответственно) в эмульсионной СЧД.

Кроликам 2-й и 3-й групп аппликацию ТТС производили на предварительно выбритый участок кожи спины у основания шеи. Препарат наклеивали на здоровую кожу не ранее чем через сутки после процедуры удаления шерсти.

Забор крови экспериментальных животных производился до введения препарата, а также в дискретные интервалы времени из краевой ушной вены в пробирки с 3,8% раствором цитрата натрия. Время забора крови при использовании ТТС составило 40, 50, 60 минут, далее каждый час на протяжении 8 часов, 12, 15, 18 и 24 часа аппликации. Для инъекционной формы: 5, 10 минут, далее на протяжении 1 часа каждые 10 минут, после чего каждый час на протяжении 8 часов после в/м введения никотинамида.

Пробирки с образцами крови экспериментальных животных центрифугировали в течение 5 минут при 1500 об/мин при комнатной температуре, затем аккуратно отбирали плазму.

## Методика ВЭЖХ для количественного определения никотинамида в плазме крови экспериментальных животных

### *Пробоподготовка*

В пробирки Эппендорфа вносили 500 мкл образца плазмы крови и разбавляли дистиллированной водой в соотношении 1 : 1. После перемешивания переносили содержимое пробирок в активированный ранее картридж для ТФЭ. Образец пропускали со скоростью 1–1,5 мл/мин, регулируя скорость с помощью крана манифолда. Далее осуществляли трехкратную промывку водой (по 1 мл), после чего элюировали никотинамид подвижной фазой (ацетонитрил : вода деионизированная, 20 : 80, 1 мл). Далее элюат анализировали на жидкостном хроматографе.

При подготовке калибровочных растворов в 480 мкл плазмы вносили 20 мкл стандартного раствора никотинамида с известной концентрацией (6,25; 12,5; 25; 125; 250 мкг/мл), далее добавляли 500 мкл воды деионизированной и проводили ТФЭ калибровочных растворов по описанной выше методике.

Поскольку НА присутствует во всех тканях организма животного, для корректной оценки количества НА в исследуемых образцах учитывали его фоновые значения, проводя исследования плазмы до аппликации ТТС и вычитая полученные значения при обработке полученных данных.

### *Количественное определение никотинамида*

Количественное определение НА в плазме крови после проведения ТФЭ осуществляли методом ВЭЖХ в следующих условиях:

*Подвижная фаза:* ацетонитрил : вода деионизированная.

*Режим элюирования:* градиентный (табл. 1).

*Скорость потока подвижной фазы:* 1 мл/мин.

*Температура термостата колонки:* 40 °С.

*Объем вводимой пробы:* 20 мкл.

*Длина волны детектирования:* 262 нм.
*Время хроматографирования:* 30 мин.
*Время удерживания НА:* около 11,8 мин.

## Расчет фармакокинетических параметров

Фармакокинетический метод исследования позволяет дать ряд количественных характеристик процессам всасывания, метаболизма (биотрансформации), распределения и выведения ЛВ из организма. Для этого рассчитывали следующие параметры [28]:

– $C_{макс}$ – максимальная концентрация препарата в плазме крови (мкг/мл);
– $T_{макс}$ – время достижения максимальной концентрации препарата (ч);
– AUC – суммарная площадь под кривой концентрации лекарственного препарата от момента его попадания в организм до полного удаления из него (ч·мкг/мл);
– AUMC – суммарная площадь под кривой произведения времени на концентрацию ЛВ в организме от момента его попадания в организм до полного удаления из него ($ч^2$·мкг/мл);
– $T_{1/2}$ – период полувыведения лекарственного препарата из организма – период, характеризующий скорость снижения концентрации ЛВ в исследуемых жидкостях и тканях организма (ч);
– MRT – среднее время удержания препарата в организме (ч);
– β – константа скорости элиминации ($ч^{-1}$);
– F – биодоступность.

Относительную биодоступность определяли путем сравнения суммарных площадей под кривой концентрации лекарственного препарата от момента его попадания в организм до полного удаления из него при трансдермальном и внутримышечном введениях и рассчитывали по формуле:

$$F = \frac{AUC_{(ТТС)} \times D_{(инъекция)}}{AUC_{(инъекция)} \times D_{(ТТС)}},$$

где AUC – площадь под кинетической кривой; D – доза препарата.

Расчет фармакокинетических параметров проводили модельно-независимым методом.

## Статистическая обработка результатов

Используя тест Шапиро–Уилкса на небольшом количестве выборок ($n \geq 5$), было доказано нормальное распределение экспериментальных данных. Достоверность различий определялась с помощью t-критерия Стьюдента (стандартный программный пакет Microsoft Excel 2010). Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Таблица 1

**Состав подвижной фазы**

**Composition of the mobile phase**

| Время, мин | Соотношение компонентов подвижной фазы, % | |
|---|---|---|
| | Ацетонитрил | Вода деионизированная |
| 0 | 0 | 100 |
| 5 | 0 | 100 |
| 6 | 5 | 95 |
| 11 | 5 | 95 |
| 16 | 30 | 70 |
| 21 | 30 | 70 |
| 24 | 0 | 100 |
| 30 | 0 | 100 |

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате исследования проведен сравнительный анализ фармакокинетических показателей никотинамида при внутримышечном и трансдермальном введениях у кроликов.

Усредненные фармакокинетические кривые никотинамида, полученные при аппликации ТТС с разным содержанием чрескожного переносчика докузата натрия (9,8 и 3,3%) и внутримышечной инъекции (в одинаковой дозе 20 мг) представлены на рисунке.

Как видно из рисунка, при внутримышечном введении НА максимальная концентрация (ЛВ) в крови была достигнута через 20 минут и составила 13,3 ± 1,0 мкг/мл. Далее происходило ее резкое снижение до значения 5,3 ± 0,7 мкл/мл к 2 часам с момента введения препарата, к 8 часам эксперимента концентрация определялась на уровне 0,30 ± 0,35 мкг/мл.

При аппликации трансдермальных форм никотинамида с той же дозировкой ЛВ с различным содержанием переносчика нарастание концентрации в крови происходило медленнее, чем при внутримышечном введении, что видно из рисунка. К первому часу в крови было обнаружено 2,2 ± 0,85 и 1,4 ± 0,44 мкг/мл ЛВ при аппликации ТТС с 3,3% и 9,8% переносчика соответственно.

При данном способе введения максимальная концентрация НА в крови для ТТС с разным содержанием активатора переноса достоверно не отличалась (~3,1 и 3,2 мкг/мл) и оставалась постоянной в пределах статистической погрешности в течение примерно 6 часов.

Для ТТС с меньшим содержанием переносчика снижение концентрации НА начиналось через 7 часов аппликации, а через 15 часов НА в крови уже не обнаруживался. В случае аппликации форм с большим количеством переносчика прослеживается более плавное уменьшение концентрации НА: начало снижения отмечалось через 8 часов аппликации, через 15 часов концентрация ЛВ составила

0,55 ± 0,35 мкг/мл, а к 24 часам НА в плазме крови не определялся.

Таким образом, при трансдермальном способе доставки никотинамида мы наблюдали более равномерное и длительное поступление ЛВ в кровь, при этом концентрация поддерживалась на постоянном уровне на протяжении ~6 часов.

Рассчитанные фармакокинетические параметры при однократном трансдермальном и внутримышечном введениях никотинамида экспериментальным животным представлены в табл. 2.

Среднее время присутствия НА в организме (MRT) в группах с аппликацией ТТС в обоих случаях составило более 6 часов, тогда как в случае внутримышечного введения этот показатель равен 1,9 часа. Таким образом, при использовании трансдермальной терапевтической системы никотинамида можно увеличить среднее время удержания ЛВ в организме примерно в 3 раза по сравнению с внутримышечным введением.

Период полувыведения $T_{1/2}$, который характеризует снижение концентрации действующего вещества в крови, составил 3,7 и 2,3 часа для лекарственных форм с большим и меньшим содержанием активатора чрескожного переноса соответственно, в то время как при внутримышечном введении НА данный параметр был ниже почти в 2,5 раза и составил 1,4 часа.

Расчет показал более высокую биодоступность никотинамида при трансдермальном введении относительно внутримышечного (1,43 для ТТС с 9,8% переносчика и 1,84 с 3,3% переносчика).

Таким образом, результаты проведенных исследований *in vivo* и сравнительный анализ фармакокинетических параметров никотинамида при трансдермальном и внутримышечном введениях показали перспективность чрескожного способа введения исследуемого антиоксиданта.

Таблица 2

**Фармакокинетические параметры никотинамида при его трансдермальном и внутримышечном введениях кроликам**

**Pharmacokinetic parameters of nicotinamide with transdermal and intramuscular administration in rabbits**

| Параметры | Способ введения | | |
|---|---|---|---|
| | Внутримышечный, n = 5 | Трансдермальный | |
| | | Содержание чрескожного переносчика | |
| | | 3,3%, n = 7 | 9,8%, n = 5 |
| $C_{макс}$, мкг/мл | 13,3 | 3,2 | 3,1 |
| $T_{макс}$, ч | 0,33 | 4 | 5 |
| β, 1/ч | 0,495 | 0,301 | 0,187 |
| $T_{1/2}$, ч | 1,4 | 2,3 | 3,7 |
| AUC, ч·мкг/мл | 27,01 | 49,75 | 38,58 |
| AUMC, ч²·мкг/мл | 50,12 | 320,89 | 245,5 |
| MRT, ч | 1,9 | 6,5 | 6,4 |

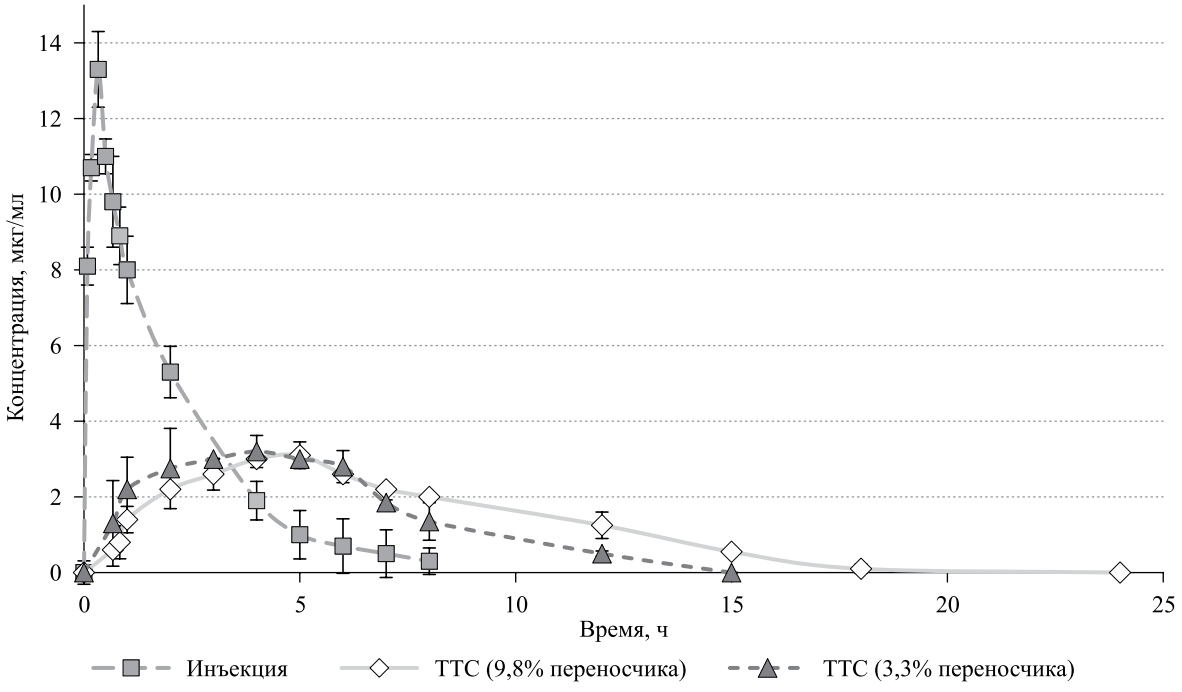


Рис. Усредненная динамика концентрации никотинамида в плазме крови экспериментальных животных при внутримышечном и трансдермальном введениях. Различия значений точек (Δ) и (◊) статистически не достоверны (p > 0,05)

Fig. Averaged dynamics of plasma NAM levels in experimental animals with intramuscular and transdermal administration. Differences in the values of points (Δ) and (◊) are not statistically significant (p > 0.05)

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе работы были проведены исследования фармакокинетики внутримышечного и трансдермального способов введения никотинамида *in vivo* с использованием ТТС с разным содержанием активатора чрескожного переноса натрия диоктил сульфосукцината.

Было показано, что аппликация трансдермальной терапевтической системы никотинамида 20 мг обеспечивает более высокую биодоступность, чем при внутримышечном введении данного ЛВ в той же дозе. При этом в 4 раза снижается максимальная концентрация ЛВ в крови и более чем в 3 раза увеличивается время его удержания в организме, что может способствовать пролонгированию лекарственного эффекта. Изменение концентрации ЛВ в крови при аппликации ТТС происходит постепенно в течение нескольких часов в отличие от ее резкого скачка при внутримышечном введении. Это несомненное преимущество трансдермальной системы никотинамида в случае длительного применения для профилактики и поддерживающей терапии.

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES


1. *Олефир ЮВ, Романов БК, Кукес ВГ, Сычев ДА, Прокофьев АБ, Парфенова ОК и др.* Роль окислительного стресса в патогенезе социально значимых заболеваний человека и пути его медикаментозной коррекции. *Медицинский вестник Северного Кавказа.* 2021; 16 (4): 450–455. *Olefir YuV, Romanov BK, Kukes VG, Sychev DA, Prokofiev AB, Parfenova OK et al.* The role of oxidative stress in the pathogenesis of socially significant human diseases and ways of its drug correction. *Medical News of North Caucasus*. 2021; 16 (4): 450–455. [In Russ, English abstract]. https://doi.org/10.14300/mnnc.2021.16109.
2. *Ветшева МС, Свиридов СВ, Подкорытова ЛО.* Антиоксидантная терапия при различных заболеваниях. Предупреждающие возможности (литературный обзор). *Кремлевская медицина. Клинический вестник.* 2022; 1: 71–77. *Vetsheva MS, Sviridova V, Podkorytova LO.* Antioxidant therapy in various deseases. Preventing opportunities (a literature review). *Kremlin medicine. Clinical Bulletin*. 2022; 1: 71–77. [In Russ, English abstract]. doi: 10.26269/y0z6-xs61.
3. *Ma A, Qi S, Chen H.* Antioxidant therapy for prevention of inflammation, ischemic reperfusion injuries and allograft rejection. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*. 2008; 6 (1): 20–43. doi: 10.2174/187152508783329966. PMID: 18220719.
4. *Shi S, Xue F.* Current Antioxidant Treatments in Organ Transplantation. *Oxid Med Cell Longev.* 2016; 8678510. doi: 10.1155/2016/8678510; PMID: 27403232; PMCID: PMC4926011.
5. *Gori F, Fumagalli J, Lonati C, Caccialanza R, Zanella A, Grasselli G.* Ascorbic acid in solid organ transplantation: A literature review. *Clin Nutr.* 2022; 41 (6): 1244–1255. doi: 10.1016/j.clnu.2022.04.004; PMID: 35504167.
6. *Elias-Miró M, Jiménez-Castro MB, Rodés J, Peralta C.* Current knowledge on oxidative stress in hepatic ischemia/reperfusion. *Free Radic Res*. 2013; 47 (8): 555–568. doi: 10.3109/10715762.2013.811721; PMID: 23738581.
7. *Patel J.* Vitamin therapy after heart transplantation. *Expert Review of Cardiovascular Therapy*. 2015; 13 (10): 1071–1074. doi: 10.1586/14779072.2015.1086268.
8. *Mohseni Salehi Monfared SS, Larijani B, Abdollahi M.* Islet transplantation and antioxidant management: a comprehensive review. *World J Gastroenterol*. 2009; 15 (10): 1153–1161. doi: 10.3748/wjg.15.1153; PMID: 19291814; PMCID: PMC2658860.
9. *Eguchi N, Damyar K, Alexander M, Dafoe D, Lakey JRT, Ichii H.* Anti-Oxidative Therapy in Islet Cell Transplantation. *Antioxidants (Basel)*. 2022; 11 (6): 1038. doi: 10.3390/antiox11061038; PMID: 35739935; PMCID: PMC9219662.
10. *Makarov MV, Trammell SAJ, Migaud ME.* The chemistry of the vitamin $B_3$ metabolome. *Biochem Soc Trans*. 2019; 47 (1): 131–147. doi: 10.1042/BST20180420; PMID: 30559273; PMCID: PMC6411094.
11. *Maiese K.* Nicotinamide as a Foundation for Treating Neurodegenerative Disease and Metabolic Disorders. *Curr Neurovasc Res*. 2021; 18 (1): 134–149. doi: 10.2174/1567202617999210104220334; PMID: 33397266; PMCID: PMC8254823.
12. *Дедов ИИ, Горелышева ВА, Смирнова ОМ, Романовская ГА, Филиппов ИК.* Влияние антиоксидантов на состояние перекисного окисления липидов и функцию бета-клеток у больных с впервые выявленным инсулинзависимым сахарным диабетом. *Проблемы эндокринологии*. 1995; 41 (5): 16–20. *Dedov II, Gorelysheva VA, Smirnova OM, Romanovskaya GA, Filippov IK.* Effects of antioxidants on lipid peroxidation and beta-cell function in patients with newly detected insulin-dependent diabetes mellitus. *Problems of Endocrinology*. 1995; 41 (5): 16–20. [In Russ]. https://doi.org/10.14341/probl199541516-20.
13. *Горелышева ВА, Смирнова ОМ, Дедов ИИ.* Использование никотинамида при лечении инсулинзависимого сахарного диабета в дебюте заболевания. *Проблемы эндокринологии*. 1996; 42 (6): 26–30. *Gorelysheva VA, Smirnova OM, Dedov II.* Nicotinamide in the treatment of insulin-dependent diabetes mellitus at the debut of the disease. *Problems of Endocrinology*. 1996; 42 (6): 26–30. [In Russ]. https://doi.org/10.14341/probl12057.
14. *Фадеева НИ, Балаболкин МИ, Мамаева ГГ, Кравченко ТВ, Мищенко БП, Князева АП.* Применение никотинамида и других антиоксидантных препаратов в комплексной терапии сахарного диабета 2-го типа. *Сахарный диабет*. 2001; 4 (1): 21–23. *Fadeeva NI, Balabolkin MI, Mamaeva GG, Kravchenko TV, Mishchenko BP, Knyazeva AP.* Primenenie nikotinamida i drugikh

antioksidantnykh preparatov v kompleksnoy terapii sakharnogo diabeta 2-go tipa. *Diabetes mellitus*. 2001; 4 (1): 21–23. [In Russ]. https://doi.org/10.14341/2072-0351-6103.

15. *Бондарь ИА, Климентов ВВ.* Антиоксиданты в лечении и профилактике сахарного диабета. *Сахарный диабет*. 2001; 4 (1): 47–52. *Bondar' IA, Klimentov VV.* Antioksidanty v lechenii i profilaktike sakharnogo diabeta. *Diabetes mellitus*. 2001; 4 (1): 47–52. [In Russ]. https://doi.org/10.14341/2072-0351-6108.
16. *Pandey A, Tripathi P, Pandey R, Srivatava R, Goswami SH.* Alternative therapies useful in the management of diabetes: A systematic review. *J Pharm Bioallied Sci.* 2011; 3 (4): 504–512. doi: 10.4103/0975-7406.90103.
17. *Alenzi FQ.* Effect of nicotinamide on experimental induced diabetes. *Iran J Allergy Asthma Immunol.* 2009; 8 (1): 11–18. PMID: 19279354.
18. *Banerje M, Kanitkar M, Bhonde RR.* Approaches towards endogenous pancreatic regeneration. *Rev Diabet Stud*. 2005; 2 (3): 165–176. doi: 10.1900/RDS.2005.2.165; PMCID: PMC1783561; PMID: 17491691.
19. *Ахмад ААРАА, Сакович ВН.* Изучение клинической эффективности применения никотинамид содержащих препаратов у больных начальными формами диабетической ретинопатии. *Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології*. 2013; 1 (115): 153–161. *Ahmad AARAA, Sakovich VN.* The study of the clinical efficacy of nicotinamide-containing drugs in patients with initial forms of diabetic retinopathy. *Problems of environmental and medical genetics and Clinical Immunology*. 2013; 1 (115): 153–161. [In Russ, English abstract].
20. *Chandrasekaran K, Najimi N, Sagi AR, Yarlagadda S, Salimian M, Arvas MI et al.* NAD+ Precursors Repair Mitochondrial Function in Diabetes and Prevent Experimental Diabetic Neuropathy. *Int J Mol Sci*. 2022; 23 (9): 4887. doi: 10.3390/ijms23094887. PMID: 35563288; PMCID: PMC9102948.
21. *Jung KI, Han JS, Park CK.* Neuroprotective Effects of Nicotinamide (Vitamin $B_3$) on Neurodegeneration in Diabetic Rat Retinas. *Nutrients*. 2022; 14 (6): 1162. doi: 10.3390/nu14061162. PMID: 35334819; PMCID: PMC8950738.
22. *Wan HF, Li JX, Liao HT, Liao MH, Luo L, Xu L et al.* Nicotinamide induces liver regeneration and improves liver function by activating SIRT1. *Mol Med Rep*. 2019; 19 (1): 555–562. doi: 10.3892/mmr.2018.9688. Epub 2018 Nov 22. PMID: 30483782.
23. *Lenglet A, Liabeuf S, El Esper N, Brisset S, Mansour J, Lemaire-Hurtel AS et al.* Efficacy and safety of nicotinamide in haemodialysis patients: the NICOREN study. *Nephrol Dial Transplant.* 2017; 32 (5): 870–879. doi: 10.1093/ndt/gfw042. PMID: 27190329.
24. *Арефьев АС, Жукова ИВ.* Трансдермальные терапевтические системы, их типы и преимущества. *Инновационные научные исследования*. 2022; 1–3 (15): 13–20. *Arefev AS, Zhukova IV.* Transdermal therapeutic systems, their types and advantages. *Innovative scientific research*. 2022; 1–3 (15): 13–20. doi: 10.5281/zenodo.6368638. – EDN CBFERX. [In Russ, English abstract].
25. Femb.ru [Internet]. Федеральная электронная медицинская библиотека. Государственная фармакопея Российской Федерации, XIV издание, том 3. Никотинамид. ФС.2.1.0143.18 [дата обращения: 17.04.2023]. Доступно на: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol3/1211. Federal'naya elektronnaya meditsinskaya biblioteka. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii, XIV izdanie, tom 3. Nikotinamid. FS.2.1.0143.18 [data obrashcheniya: 17.04.2023]. Dostupno na: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol3/1211.
26. Vidal.ru [Internet]. Справочник лекарственных средств Vidal [дата обращения: 17.04.2023]. Доступно на: https://www.vidal.ru/drugs/molecule/735. Spravochnik lekarstvennykh sredstv Vidal [data obrashcheniya: 17.04.2023]. Dostupno na: https://www.vidal.ru/drugs/molecule/735.
27. *Кузнецова ЕГ, Рыжикова ВА, Саломатина ЛА, Курылева ОМ, Севастьянов ВИ.* Система чрескожной доставки для трансдермальной терапевтической системы никотинамида. *Перспективные материалы*. 2023; 7: 12–24. *Kuznetsova EG, Ryzhikova VA, Salomatina LA, Kuryleva OM, Sevastianov VI.* Percutaneous Delivery System for Nicotinamide Transdermal Therapeutic System. *Perspektivnye materialy*. 2023; 7: 12–24. [In Russ, English abstract].
28. *Белоусов ЮБ.* Клиническая фармакология и фармакотерапия. М.: МИА, 2010. 872. *Belousov YuB.* Klinicheskaya farmakologiya i farmakoterapiya. M.: MIA, 2010. 872.

*Статья поступила в редакцию 11.05.2023 г.*
*The article was submitted to the journal on 11.05.2023*

# 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. Аксенова[1], А.А. Улыбышева[1, 3], Н.П. Можейко[1], Е.А. Никитина[1], В.И. Орлов[1], Е.А. Стаханова[1], А.О. Шевченко[1, 2]

[1] ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация
[2] ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация
[3] ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

**Для корреспонденции:**
Аксенова Александра Владимировна
Адрес:
Тел.:
E-mail:

**Comparative analysis of diagnostic significance of biomarkers' panels in cardiac recipients in the long term period after transplantation**

O.P. Shevchenko[1, 2], A.V. Aksyonova[1], A.A. Ulybysheva[1, 3], N.P. Mozheiko[1], E.A. Nikitina[1], V.I. Orlov[1], E.A. Stakhanova[1], A.O. Shevchenko[1, 2]

[1] V.I. Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation
[2] I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation
[3] N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

**Corresponding author:**
Aksyonova Alexandra Vladimirovna
Address:
Phone:
E-mail:

**2. Реферат**

К каждой статье должен быть приложен реферат на русском и английском языках. Объем текста реферата для оригинальной статьи – не более 300 слов, для обзора литературы, клинического наблюдения – не более 200 слов. Реферат должен полностью соответствовать содержанию работы. Англоязычная версия реферата статьи должна по смыслу и структуре соответствовать русскоязычной и быть грамотной с точки зрения английского языка. Для перевода реферата не допускается использование электронных программ-переводчиков (например, Google Переводчик) без последующей редакции.

В реферате не следует употреблять аббревиатуры без предварительного раскрытия.

Реферат ***оригинальной статьи*** должен содержать следующие разделы:

***Цель*** *(Objective),*

***Материалы и методы*** *(Materials and methods),*

***Результаты*** *(Results),*

***Заключение*** *(Conclusion).*

В реферате следует представить наиболее существенные результаты проведенных исследований.

Нельзя писать: *«Проведен сравнительный анализ чувствительности и специфичности…»*.

Следует писать: *«Чувствительность составила ...% и ...%, p = , специфичность соответственно ...% и ...%, p = »*.

**3. Ключевые слова**

В конце реферата должны быть приведены ключевые слова (*keywords*) на русском и английском языках. Для выбора ключевых слов на английском языке следует использовать тезаурус Национальной медицинской библиотеки США – Medical Subject Headings – MeSH. (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh).

**4. Указание о конфликте интересов**

Автор обязан уведомить редактора о реальном или потенциальном конфликте интересов, включив информацию о конфликте интересов в соответствующий раздел статьи. Если конфликта интересов нет, автор должен также сообщить об этом. Пример формулировки: «Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов».

Данная информация приводится перед текстом статьи.

**5. Текст статьи**

**Оригинальная статья** должна включать следующие разделы:

- Введение
- Материалы и методы
- Результаты
- Обсуждение
- Заключение
- Список литературы

**Обзорная статья** должна содержать анализ литературы с представлением современных источников (в основном за последние 5 лет).

**Клиническое наблюдение** должно быть хорошо иллюстрировано (отражать суть проблемы) и содержать обсуждение вопроса с использованием данных литературы.

*Библиографические ссылки* в тексте статьи обозначаются порядковым номером в квадратных скобках: [1], [2, 5], [14–18] и ***в списке литературы представляются по порядку упоминания в тексте независимо от языка ссылки.***

Все величины, приведенные в статье, должны быть выражены или дублированы в единицах **СИ**.

**6. Список литературы / References**

Автор несет полную ответственность за точность данных, приведенных в пристатейном списке литературы. В списке литературы ссылки на неопубликованные или находящиеся в печати работы не допускаются.

Список литературы представляется на отдельной странице. Ссылки на источники располагаются в порядке цитирования и приводятся на языке оригинала.

Названия журналов на русском языке в списке литературы не сокращаются. Если русскоязычный журнал имеет также название на английском языке, оно может быть указано в ссылке после транслитерированного названия. Названия иностранных журналов могут сокращаться в соответствии с вариантом сокращения, принятым конкретным журналом.

Если цитируемая статья имеет DOI (digital object identifier, цифровой идентификатор объекта) и/или PMID (PubMed), его/их необходимо указать в конце ссылки.

В ссылках на русскоязычные статьи, имеющие также название на английском языке, вначале приводится русское, а затем английское название. Если статья не имеет английского названия, ссылка приводится вначале на русском языке, а затем в транслитерированном виде, начиная на той же строке. Транслитерацию рекомендуется выполнять на сайте http://www.translit.ru в формате BGN.

В ссылке на неанглоязычные статьи после выходных данных необходимо указать язык публикации и наличие резюме на английском языке, например: [In Russ, English abstract].

Для составления описаний в списке литературы используется стандарт на библиографическую ссылку NLM – National Library of Medicine (http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html). Если количество авторов не превышает 6, в библиографическом описании указываются все авторы. Если количество авторов более 6, следует указать шесть первых авторов и добавить «и др.» (et al.).

***Примеры библиографических описаний***

*1. Статья из русскоязычного журнала, имеющая англоязычное название*

*Готье СВ, Хомяков СМ.* Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2015 году. VIII сообщение регистра Российского трансплантологического общества. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2016; 18 (2): 6–26. *Gautier SV, Khomyakov SM.* Organ donation and transplantation in Russian Federation in 2015. 8th report of National Register. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2016; 18 (2): 6–26. [In Russ, English abstract] DOI:10.15825/1995-1191-2016-2-6-26.

*2. Статья из русскоязычного журнала, не имеющая англоязычного названия*
*Трапезникова МФ, Филипцев ПЯ, Перлин ДВ, Кулачков СМ.* Лечение стриктур мочеточника после трансплантации почки. *Урология и нефрология.* 1994; 3: 42–45. *Trapeznikova MF, Filiptsev PYa, Perlin DV, Kulachkov SM.* Lechenie striktur mochetochnika posle transplantatsii pochki. *Urologiya i nefrologiya.* 1994; 3: 42–45.

*3. Статья из англоязычного журнала*
*Goldstein DJ, Oz MC, Rose EA.* Implantable left ventricular assist devices. *N Engl J Med.* 1998; 339: 1522–1533.

*4. Англоязычная монография*
*Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA.* Medical microbiology. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002.

*5. Русскоязычная монография*
*Готье СВ, Константинов БА, Цирульникова ОМ.* Трансплантация печени. М.: МИА (2008), 246 с. *Gautier SV, Konstantinov BA, Tsirulnikova OM.* Transplantatsiya pecheni. M.: MIA (2008), 246.

*6. Диссертация (автореферат диссертации)*
*Орлова ОВ.* Роль маркеров воспаления, тромбоза, неоангиогенеза и апоптоза в прогнозировании васкулопатии сердечного трансплантата: дис. … докт. мед. наук. М., 2009, 84 с. *Orlova OV.* Rol' markerov vospaleniya, tromboza,neoangiogeneza i apoptoza v prognozirovanii vaskulopatii serdechnogo transplantata. [Dissertation]. M., 2009, 84.

*7. Ресурс в сети Internet*
Cancer-Pain.org [Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01 [updated 2002 May 16; cited 2002 Jul 9]. Available from: http://www.cancer-pain.org/.

## Требования к таблицам и иллюстрациям

**Таблицы** следует помещать в текст статьи, они должны иметь нумерованный заголовок и четко обозначенные графы, удобные и понятные для чтения. Данные таблицы должны соответствовать цифрам в тексте, однако не должны дублировать представленную в нем информацию. Ссылки на таблицы в тексте обязательны.

**Иллюстрации и рисунки** должны быть представлены в электронном виде (формат JPEG или TIF с разрешением не менее 300 точек на дюйм и размером не менее 6 × 9 см), в объеме, близком к 1 Мб. Рисунок должен содержать все авторские обозначения – стрелки, цифры, указатели и пр. Подписи к рисункам должны быть представлены в отдельном файле с расширением *doc. Сначала дается название, а затем объясняются все цифровые и буквенные обозначения.

***Названия таблиц, иллюстраций и рисунков, а также объяснения к ним должны быть представлены на русском и английском языках.***

**Статьи направлять в редакцию журнала по адресу**:
123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1, ФГБУ «НМИЦ ТИО им. академика В.И. Шумакова»,
«Вестник трансплантологии и искусственных органов»
E-mail: **vestniktranspl@gmail.com**

# INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Articles should contain original information that has not been previously published and is not considered for publication in other editions. Fee for publication of manuscripts will not be charged.

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 Lib-

rary of Medicine (http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html). If the number of authors does not exceed 6, the bibliographic description includes all the authors. If the number of authors is more, only the first six authors should be indicated and then add et al.

## Requirements for tables and figures

**Tables** should be placed into the text; they should have numbered heading and clearly labeled graphs, convenient and simple to read. Table's data must comply with the numbers in the text, but should not duplicate the information therein. Table references in the text are required.

**Illustrations and drawings** should be submitted in electronic format (JPEG or TIFF format with a resolution of at least 300 dpi and no smaller than 6 × 9 cm), in a volume of close to 1 MB. Drawings must include all copyright symbols – arrows, numbers, signs, etc. Figure captions should be submitted in a separate file with the extension *.doc. First, the name is given, then all arithmetic and alphabetical symbols (lettering) are explained.

**Articles should be addressed to the Editor at:**
Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs
Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs
1, Shchukinskaya ul., Moscow 123182, Russian Federation
E-mail: **vestniktranspl@gmail.com**

# ФГБУ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ ИМЕНИ АКАДЕМИКА В.И. ШУМАКОВА» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

## ОТДЕЛ ПОДГОТОВКИ НАУЧНЫХ И МЕДИЦИНСКИХ КАДРОВ

Лицензия на осуществление образовательной деятельности № 2643 от 21.09.2017 г.

Россия, 123182, г. Москва, ул. Щукинская, д. 1, тел. 8 (499) 193-87-62

ФГБУ «НМИЦ ТИО имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России является ведущим научно-исследовательским медицинским учреждением, успешно развивающим одно из приоритетных направлений в современной хирургической науке – трансплантологию.

В Центре осуществляются все виды трансплантации органов пациентам от 3 месяцев до старшего возраста, проводятся все виды кардиохирургических вмешательств. Учреждение оснащено новейшим высокотехнологичным оборудованием, на котором работают высококвалифицированные научные кадры и медицинские специалисты – доктора наук, осуществляющие подготовку врачей и научных работников для регионов Российской Федерации.

На базе клинических отделений Центра организовано проведение циклов повышения квалификации продолжительностью 72 и 144 часа по следующим дополнительным профессиональным программам:

- Анестезиологические пособия и интенсивная терапия при трансплантации жизненно важных органов.
- Болезни почек, почечная недостаточность и заместительная почечная терапия.
- Донорство в клинической трансплантологии.
- Клиническая трансплантация печени.
- Клиническая трансплантация печени у детей.
- Клиническая трансплантация почки.
- Клиническая трансплантация сердца.
- Основы трансплантологии и искусственных органов.
- Патологическая анатомия у больных после аллотрансплантации органов и имплантации искусственных органов.
- Трансплантационная иммунология и иммуносупрессия.
- Деятельность операционной медицинской сестры в клинической трансплантологии.

*Гарантийное письмо на обучение специалистов от организаций высылать на электронную почту. E-mail: dim_vel@mail.ru*

*Консультации организованы в отделе подготовки научных и медицинских кадров (Щукинская, 1, новый корпус, 9-й этаж, ученый секретарь – д. 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 5.07.23.

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 27052